

Organização

MARIANA MACHADO FIDELIS DO NASCIMENTO
JULIANA VITORIA MESSIAS BITTENCOURT

FRONTEIRAS DA MICROBIOLOGIA E BIOTECNOLOGIA

DA DESCOBERTA À APLICAÇÃO



LICENÇAS E USOS DESTA OBRA



Diamond Road Open Access

Open Access | Livre na internet | Creative Commons

Open access (OA) é um conjunto de princípios e uma série de práticas por meio das quais os resultados da pesquisa são distribuídos on-line, sem custos ou outras barreiras de acesso. Com o acesso aberto estritamente definido (de acordo com a definição de 2001), ou acesso aberto livre, as barreiras à cópia ou reutilização também são reduzidas ou removidas aplicando uma licença aberta para direitos autorais.



CC BY-NC-ND 4.0

Atribuição | Não Comercial | Sem derivações | 4.0 International

Esta licença permite que os reutilizadores copiem e distribuam o material em qualquer meio ou formato apenas de forma não adaptada, apenas para fins não comerciais e apenas enquanto a atribuição for dada ao criador.

ATENÇÃO

A editora não se responsabiliza pelo conteúdo da obra, com o qual não necessariamente concorda. Os autores conhecem os fatos narrados, pelos quais são responsáveis, assim como se responsabilizam pelas sentenças proferidas.

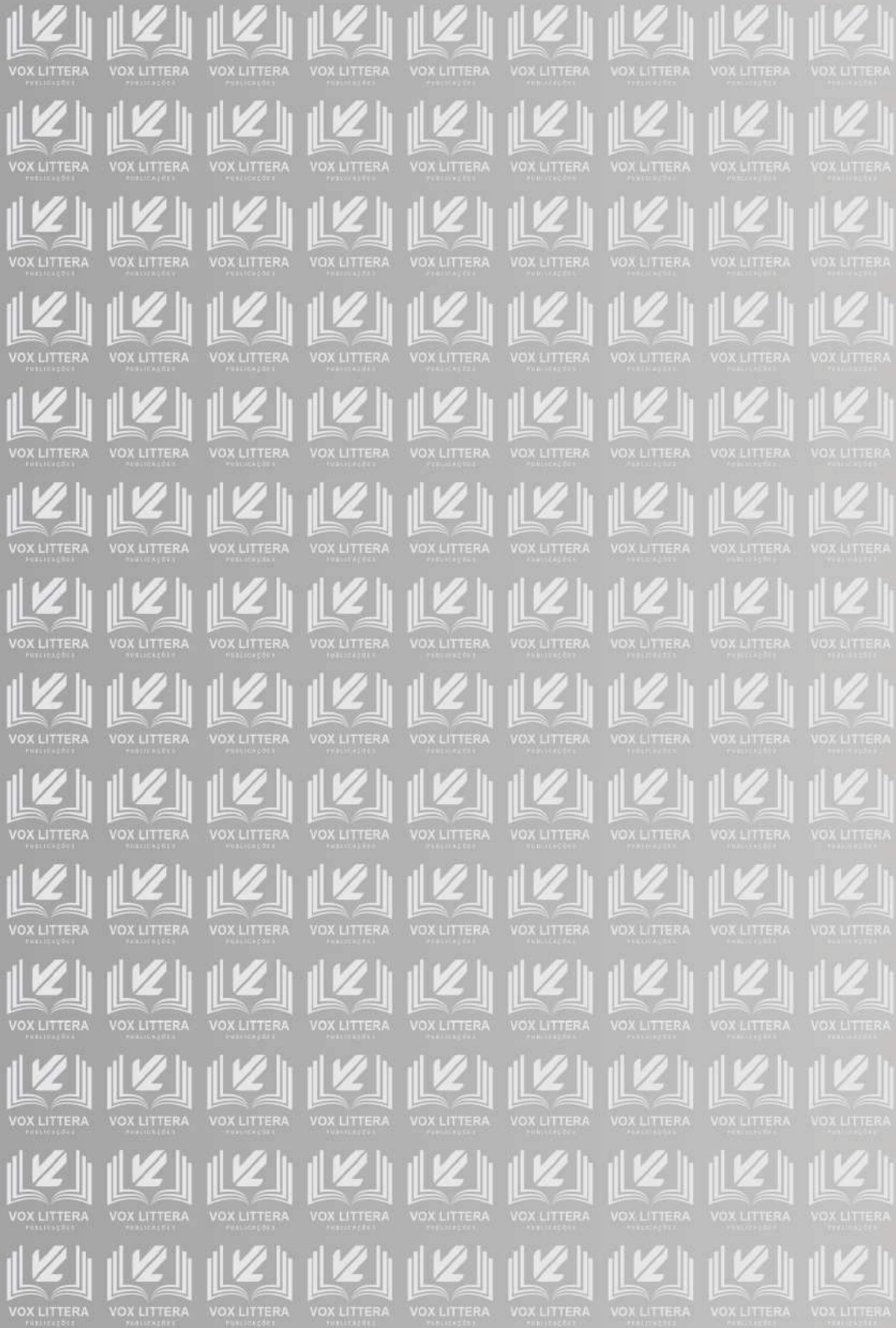
Organização

MARIANA MACHADO FIDELIS DO NASCIMENTO
JULIANA VITÓRIA MESSIAS BITTENCOURT

FRONTEIRAS DA MICROBIOLOGIA E BIOTECNOLOGIA

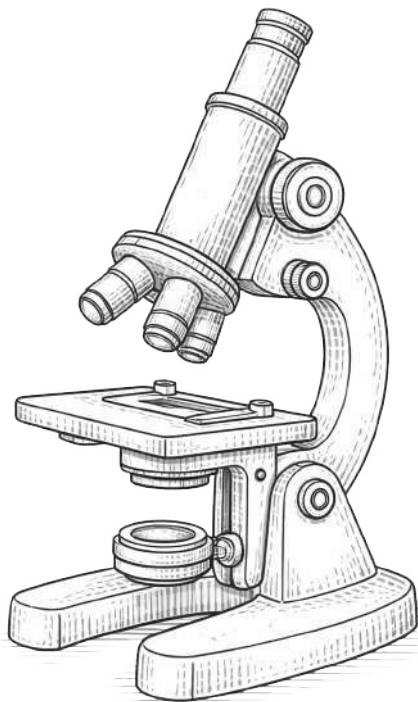
DA DESCOBERTA À APLICAÇÃO





Organização:

Mariana Machado Fidelis do Nascimento
Juliana Vitória Messias Bittencourt



FRONTEIRAS DA MICROBIOLOGIA E BIOTECNOLOGIA

DA DESCOBERTA À APLICAÇÃO



VOX LITTERA
PUBLICAÇÕES

MARINGÁ

2026

Copyright © 2026 - Vox Littera

Todos os direitos desta publicação são reservados à editora e aos autores.

Diretor Editorial

Raul Greco Junior

Revisão Ortográfica

Feita pelos autores

Supervisor Editorial

Vanina Roncaglio

Coord. Administrativa

Neusa Verderami

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Fronteiras da microbiologia : da descoberta à aplicação / organização Mariana Machado Fidelis do Nascimento, Juliana Vitoria Messias Bittencourt ; [ilustração e editoração Raul Greco Junior]. -- Maringá, PR : Editora Vox Littera : 2026.

Vários autores

Bibliografia.

ISBN 978-65-84819-16-0

1. Biologia 2. Biotecnologia 3. Ciências biológicas 4. Fungos - Morfologia 5. Microbiologia I.Nascimento, Mariana Machado Fidelis do. II. Bittencourt, Juliana Vitoria Messias.

26-339972.0

CDU-570

Índices para catálogo sistemático:

1. Biologia : Ciências da vida - 570

Bibliotecária

Suelen Silva Araújo Oliveira - CRB-8/11482

ATENÇÃO

A editora não é responsável pelo conteúdo da obra, com o qual não necessariamente concorda. Os autores conhecem os fatos narrados, pelos quais são responsáveis, assim como se responsabilizam pelos juízos emitidos.

Vox Littera - Publicações

Rua Botafogo, 409 - Sala 404 B - Vila Marumby - CEP.: 87005-190 - Maringá - PR

Tel.: (44) 3367-8483 - e-mail: contato@voxlittera.com.br

www.voxlittera.com.br



AUTORES:

Ana Carla Thomassewski

André Luis dos Santos

Breno Cecere Vaz

Bruna Cristina dos Santos

Daniele Hneda

Dorival Valentim

Gabriel Superti Maia

Gabriel Virgínio Pereira

Helyemari Valentim Althaus

Júlia Bastos dos Santos

Juliana Vitoria Messias Bittencourt

Isabelle Satie Gomes Otani

Luiz Gabriel Medeiros Fermon

Marcio Silva

Mariana Machado Fidelis do Nascimento

Renata Micketen

Ricardo Antonio Ayub

Sâmela Aldrea Leite de Oliveira

Suzana Struiving

Vanessa Vaz Leonel



ÍNDICE

Apresentação	11
Prefácio	12
Agradecimentos à CAPES	14

CAPÍTULO 1

O Papel da Bioinformática na Ciência Moderna

1. Introdução.....	16
2. Fundamentos da Bioinformática	17
3. Aplicação da Bioinformática em Medicina e Saúde Humana	20
4. Microbiologia E Resistência Antimicrobiana: Metagenômica e Vigilância Genômica de Patógenos	21
5. Agricultura e Melhoramento Genético: Marcadores Moleculares e Seleção Assistida.....	24
6. Agricultura e Melhoramento Genético: Genômica de Plantas	26
7. Agricultura e Melhoramento Genético: Animais de Interesse Econômico	28
8. Biotecnologia e Bioprospecção: Descoberta de Genes e Metabólitos de Interesse Industrial e Engenharia de Microrganismos	29
9. Tendências Emergentes em Bioinformática	30
10. Inteligência Artificial e o Aprendizado de Máquina	31
11. Desafios, Limitações e Considerações Finais	33
Referências.....	33

CAPÍTULO 2

Compostos Bioativos em Cogumelos: Potenciais Terapêuticos e Funcionais

1. Introdução.....	42
2. Metodologia.....	43
3. Cogumelos: Diversidade e Classificação.....	43
4. Produção de Cogumelos no Brasil e no Mundo	45
5. Compostos Bioativos de Cogumelos e suas Ações.....	47
5.1 Polissacarídeos	49
5.2 Polifenóis	53
5.3 Terpenóides	54
5.4 Esteróis	54
5.5 Proteínas Bioativas	55
5.6 Atividades Funcionais	56



5.7 Aplicações Industriais e Tendências de Produção	57
6. Conclusão	58
Referências	58

CAPÍTULO 3

Tendências científicas de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) *Cheel* (Myrtaceae)

1. Introdução	63
2. Aspectos Botânicos e Farmacológicos da <i>Melaleuca alternifolia</i> (Maiden & Betche) <i>Cheel</i> (Myrtaceae)	66
3. Metodologia Cientométrica	65
4. Resultados e Discussão	67
5. Conclusão	78
Referências	79

CAPÍTULO 4

Desvendando Microrganismos: Técnicas de Caracterização e Análise Morfológica

1. Introdução	88
2. Fungos: Classificação e Diversidade	89
3. Reprodução Sexuada e Assexuada	89
4. Diversidade e Espécies no Brasil	90
5. Cultivo de Fungos	91
6 Técnicas de Isolamento e Repique	93
6.1 Método de Diluição	93
6.2 Método Pour Plate	94
6.3 Inoculação em Ponto Único	94
6.4 Pureza e Contaminações Visíveis	95
7 Microscopia e Técnicas de Preparação	96
7.1 Preparo de Lâminas	96
7.2 Microcultivo	97
7.3 Coloração de Gram	97
7.4 Colorações	98
8. Tipos de Microscopia	100
9. Morfologia Microscópica de Leveduras	101
9.1 Formas Celulares	101
9.2 Mecanismos de Reprodução	101
9.3 Estruturas Observáveis	101
10. Morfologia Microscópica de Fungos Filamentosos	104
10.1 Estruturas Básicas	104
10.2 Estruturas Reprodutivas	106



10.3 Aplicações Práticas e Limitações da Morfologia	110
11. Considerações Finais.....	111
Referências.....	111

CAPÍTULO 5

Microrganismos Solubilizadores de Fósforo: Pseudomonas Fluorescens como Solubilizadora de Fósforo - Vias Metabólicas e Bioprocesso

1. Introdução.....	117
2. Importância do Fósforo	117
3. Microrganismos Solubilizadores de Fósforo	119
4. Mecanismos Utilizados Para Solubilização de Fosfato	120
5. Mecanismos Utilizados Para Solubilização de Fosfato Inorgânico	121
5.1 Produção de Ácidos Orgânicos	121
5.2 Produção de Ácido Orgânico	123
5.3 Produção de Exopolissacarídeo (Eps)	123
5.4 Produção de Sideróforos	124
6. Mecanismos Utilizados Para Solubilização de Fosfato Orgânico	124
6.1 Fosfatases	125
6.2 Fitases	125
6.3 Fosfonatases/Liases de Carbono-Fósforo (C-P)	125
6.4 Pseudomonas Fluorescens	126
6.5 Solubilização do Fósforo pela Pseudomonas Fluorescens	127
7. Bioprocesso para a Produção de Pseudomonas Fluorescens	129
8. Considerações Finais.....	134
Referências.....	135

CAPÍTULO 6

Fatores de Transcrição Presentes na Frutificação em Basidiomicetos

1. Introdução.....	140
2. Ciclo de Vida dos Basidiomicetos e Etapas da Frutificação	141
2.1 Primórdio: A Fase Inicial da Frutificação	142
2.2 Corpo Frutífero Jovem: O Crescimento e a Diferenciação Tecidual	142
2.3 Corpo Frutífero Maduro: A Fase Reprodutiva	143
2.4 Integração Molecular e Sinais Ambientais	144
3. Regulação Gênica e Fatores de Transcrição	144
4. Fatores de Transcrição Associados à Frutificação em Basidiomicetos	145
4.1 Fatores de Transcrição em Lentinula Edodes	148
4.2 Fatores de Transcrição em Pleurotus	149
5. Abordagens Ômicas e Ferramentas para Estudo da Expressão Gênica	150
5.1 Banco de Dados	151



6 Aplicações e Perspectivas	152
7 Considerações Finais	154
Referências.....	154

CAPÍTULO 7

***Azospirillum* na Agricultura Moderna: Dos Estudos Biológicos ao uso no Campo**

1. Introdução.....	163
2. Biologia do Gênero <i>Azospirillum</i>	164
3. Mecanismos de Promoção do Crescimento Vegetal	166
3.1 Fixação Biológica de Nitrogênio (Fbn)	166
3.2 Síntese de Fitormônios e Tolerância ao Estresse Abiótico	168
3.3 Produção de Sideróforos e Solubilização de Nutrientes	174
4 Produção e Formulação como Bioinsumo	176
5 Aplicações no Campo e Resultados Agronômicos	180
6 Papel na Agricultura Regenerativa e Baixo Carbono: Desafios e Perspectivas	182
7 Considerações Finais	184
Referências.....	185

CAPÍTULO 8

Das Bancadas para a História: Uma Homenagem aos Microbiologistas Brasileiros

1. Introdução.....	205
2. A Primeira Era da Microbiologia Brasileira	205
3. Microbiologistas Da Era Moderna	210
3.1 João Lúcio de Azevedo	211
3.2 Mariangela Hungria da Cunha	211
3.3 Vania Aparecida Vicente	212
3.4 Oswaldo Gonçalves de Lima	213
3.5 Fábio de Oliveira Pedrosa	214
3.6 Zoilo Pires de Camargo	215
4. Considerações Finais	216
Referências.....	217

CAPÍTULO 9

Produção Heteróloga de Enzimas: Afinal, Existe Diferença entre Produção em Eucariotos e Procariontes?

1. Introdução.....	223
2. Bases da Expressão Heteróloga	224
2.1 Clonagem	224



2.2 Vetores	224
2.3 Inserção	225
2.4 Expressão e Purificação	226
2.5 Desafios na Expressão Heteróloga	227
2.6 Sistemas Procariotos de Expressão: <i>Escherichia Coli</i>	227
3. Sistemas Eucariotos de Expressão	229
3.1 <i>Pichia Pastoris</i>	229
3.2 <i>Saccharomyces Cerevisae</i>	229
3.3 <i>Aspergillus Niger</i>	230
3.4 <i>Trichoderma Reesei</i>	231
4. Células de Inseto e Mamíferos	232
4.1 Células de Mamíferos	232
4.2 Células de Inseto	232
5. Principais Enzimas Produzidas por Expressão Heteróloga	234
5.1 Lipase	235
5.2 Protease	236
5.3 Pectinase	236
5.4 Xilanase	236
5.5 Catalase	237
5.6 Lactase	237
6. Desafios e Perspectivas Futuras	238
7. Considerações Finais	239
Referências	240
Autores	245
Parceria e Colaboração	248

APRESENTAÇÃO

Este livro foi elaborado como material de apoio e inspiração para estudantes, professores e profissionais das Ciências Biológicas e Agrárias, com foco em Microbiologia e Biotecnologia. A escrita busca equilibrar rigor técnico com linguagem acessível, favorecendo a aproximação entre conceitos científicos e sua aplicação prática.

Os capítulos percorrem desde fundamentos, como caracterização de microrganismos e bioinformática, até aplicações, como compostos bioativos, óleos essenciais e microrganismos com potencial biotecnológico. Também há espaço para valorizar a história da microbiologia no Brasil, reconhecendo o papel de pesquisadores que marcaram esta área.

A intenção é que esta obra seja uma ferramenta de apoio ao ensino, pesquisa e extensão, ao mesmo tempo em que estimula a curiosidade e o espírito investigativo. Que cada leitor encontre aqui não apenas conhecimento, mas inspiração para novos caminhos na ciência.

A vida acadêmica é feita de desafios, descobertas e trocas, e nosso desejo é que esta obra contribua com a jornada de cada leitor, seja no início da graduação, em projetos de pesquisa, na docência ou no desenvolvimento de soluções inovadoras. Que ela seja não apenas fonte de estudo, mas também um ponto de partida para novas ideias e caminhos na ciência.

Mariana Machado Fidelis do Nascimento
Juliana Vitória Messias Bittencourt

PREFÁCIO

Conhecer a fundo os seres microscópicos que habitam nosso planeta, compreender como se apresentam, sua morfologia, estruturas celulares e mecanismos bioquímicos. Os genes dos quais são formados. Descobrir a melhor maneira de isolar, armazenar e multiplicar cada um. Saber os fatores que promovem, limitam ou impedem sua multiplicação em ambientes controlados. Identificar as moléculas que sintetizam e usar as tecnologias de informação mais modernas para identificar os códigos genéticos que levam a sua expressão. Reproduzir estes códigos em outros organismos em busca de eficiência e precisão com viabilidade técnica, econômica e de maneira sustentável são atividades que transitam no limiar entre a microbiologia e a biotecnologia. É também uma parte do trabalho realizado pela equipe multidisciplinar coordenada pela Prof.Dra Juliana Vitória Messias Bitencourt que nos presenteia a organização deste livro.

Aqui iremos conhecer mais sobre as “Fronteiras da microbiologia e da biotecnologia: da prospecção à aplicação”. Desde a caracterização e análise morfológica de microrganismos até fatores de transcrição e tendências científicas. Os compostos bioativos e também a produção heteróloga de enzimas. As aplicações dos microrganismos na agricultura e o papel da bioinformática na ciência moderna.

Assim como este livro, a história da microbiologia no Brasil foi construída por muitas mãos. Pesquisadores que muito além dos meios de cultivo e dos micro-organismos, fizeram multiplicar a ciência através de suas práticas, de suas publicações e principalmente da formação de profissionais qualificados e da busca constante de fomento e parcerias. Os autores reservam um capítulo à valorização da história e da prática científica, homenageando pessoas visionárias que pavimentaram os caminhos para que a equipe de autores desta realize pesquisa nos dias de hoje.

Abrangência e interdisciplinaridade: a obra aqui presente é o retrato do cotidiano de pesquisa que permeia o ensino, a extensão e a inovação na Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Fruto de um esforço coletivo e contínuo de pessoas diversas que, tendo a microbiologia e a biotecnologia como eixo norteador de seus estudos, contribuem com estes capítulos para o avanço da ciência e tecnologia nos assuntos que mais dominam.

Escrever este prefácio é uma honra. A oportunidade de apresentar

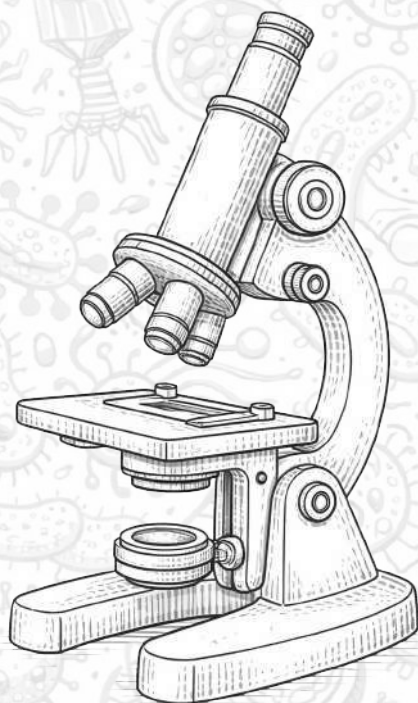
o trabalho de pessoas que admiro e cuja atuação tenho a grata satisfação de acompanhar no dia a dia do meu trabalho. Posso afirmar a você leitor que que o tempo investido na contemplação destas páginas será válido de muitas formas, independente da área específica em que atue.

Sabrina Ávila Rodrigues

Diretora de Relações Empresariais e Comunitárias da UTFPR-PG

AGRADECIMENTOS À CAPES

Os organizadores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por meio do Programa de Extensão da Educação Superior na Pós-Graduação (PROEXT-PG), pelo apoio financeiro concedido à produção e publicação do livro *Fronteiras da Microbiologia e Biotecnologia: da descoberta a aplicação*, que viabilizou a difusão do conhecimento científico e o fortalecimento das ações de extensão universitária.



O Papel da Bioinformática na Ciência Moderna

*Bruna Cristina dos Santos
Gabriel Virginio Pereira*

CAPÍTULO

01

1. INTRODUÇÃO

Desde os experimentos de Mendel, perpassando pela descoberta da estrutura do DNA e o desenvolvimento das tecnologias de sequenciamento, o estudo da biologia molecular e da genética se modificou enormemente ao longo dos anos, de tal forma que a bioinformática – antes apenas uma vertente da biologia – toma um papel central nas descobertas e avanços do século XXI.

Mas, de forma geral, o que é a bioinformática? Essa pergunta pode ser respondida por Verli (2014), que separa a área em duas vertentes: a tradicional ou clássica, englobando problemas relacionados sequências de nucleotídeos e aminoácidos; e a estrutural, que lida com a biologia a partir de um ponto de vista tridimensional, buscando modelar estruturas e dinâmicas moleculares. Nascendo da intersecção entre a biologia e a computação, a bioinformática deu seus primeiros passos nos Estados Unidos por volta da década de 60, em um contexto de surgimento dos primeiros sistemas operacionais, linguagens de programação e expansão dos computadores dentro das empresas e instituições de ensino e pesquisa.

O primeiro algoritmo de bioinformática conhecido, o COMPROTEIN, programado por Margaret Dayhoff e Robert Ledley, tinha como objetivo montar a estrutura primária de proteínas sequenciadas pelo processo de degradação de Edman. Dayhoff, considerada uma pioneira na área, também teve papel crucial na criação do *Atlas of Protein Sequence and Structure* em 1965, um compilado de diversas sequências proteicas que levou a criação do *Protein Information Resource* (PIR) em 1984, considerado o primeiro banco de dados de proteínas. Em 2002, o PIR se uniu ao EBI (*European Bioinformatics Institute*) e ao SIB (*Swiss Institute of Bioinformatics*) para criar o UniProt, repositório unificado de proteínas (PIR, 2018).

Outro ponto importante para essa história é o projeto Genoma Humano, um esforço internacional que buscou sequenciar informações genômicas de 20 indivíduos e construir um genoma de referência. Dessa construção, 70% são provenientes de um indivíduo de ascendência mista e 30% dos demais participantes, de ascendência majoritariamente europeia. Iniciado em outubro de 1990, a previsão era de conclusão em cinco anos, entretanto o projeto somente foi finalizado cerca de 13 anos depois, em abril de 2003 (NATIONAL GENOME PROJECT RESEARCH, 2024). No início do século, ainda eram predominantes as plataformas baseadas em capilaridade e no método de Sanger, tecnologia que tornava o processo mais lento e custoso, chegando a mais de 5 mil dólares por Mb em 2001 (WETTERSTRAND, 2023). Mais de vinte anos depois, o avanço das tecnologias, impulsionadas principalmente pelas plataformas de sequenciamento de nova geração (NGS, Next-Generation Sequencing) nos proporciona maior velocidade e menor custo, que atualmente está na casa dos centavos de dólar por Mb.

Como consequência dessa maior acessibilidade, a quantidade de

dados biológicos cresce exponencialmente ano após ano, e graças aos avanços das ferramentas de automação cada vez mais e mais projetos ômicos e de *high-throughput* ganham espaço no meio científico, potencializando a geração de incontáveis seqüências em um curto pedaço de tempo, deslocando o gargalo que anteriormente se dava no sequenciamento dos dados, para a sua análise e interpretação, dando início a era do *Big Data* Biológico. Essa democratização da tecnologia também possibilitou o desenvolvimento de projetos de sequenciamento em países em desenvolvimento, ampliando os números de organismos caracterizados e provendo mais informações sobre variações e diversidade genética através de diferentes populações.

No Brasil, a genômica deu seus primeiros passos em 1997, com o sequenciamento da bactéria *Xyella fastidiosa*, num esforço conjunto da Rede de Organização para Sequenciamento e Análise de Nucleotídeos (Onsa) em obter informações sobre a clorose variegada dos citros (CVC), uma praga que atingia cerca de 34% dos pomares de laranja do estado de São Paulo. Outros projetos lançados no início do século incluíam o sequenciamento do genoma humano do câncer, da cana de açúcar e de *Xanthomonas citri*, causadora do cancro cítrico (GUIMARÃES, 2023).

Para concluir, informamos que ao longo deste capítulo serão explorados alguns fundamentos e ferramentas da bioinformática clássica e como estas podem ser aplicadas em áreas da ciência como medicina, agricultura, microbiologia, biotecnologia, ecologia, e afins.

Por fim, trataremos enfoque para algumas tendências emergentes da área, como o aprendizado de máquina e as limitações enfrentadas pelos bioinformatas dentro do escopo proposto e recorte temporal atual.

2. FUNDAMENTOS DA BIOINFORMÁTICA

Inicialmente, é importante caracterizarmos o termo bioinformática, que é muitas vezes utilizado de forma intercambiável com a biologia computacional, outra área da ciência que se destaca pela intersecção entre biologia e computação. A bioinformática tem como principal objetivo a análise de dados biológicos, assim como o desenvolvimento e implementação de ferramentas e abordagens para este mesmo fim, enquanto a biologia computacional busca desenvolver métodos, construir modelos e simulações de sistemas e processos biológicos a fim de testar hipóteses e desvendar mecanismos. Para exemplificar, as “ciências ômicas” se enquadram na bioinformática, enquanto a biologia de sistemas, os estudos sobre dobramento de proteínas e modelagens matemáticas são mais comumente associadas à biologia computacional (HUERTA, 2000).

Na segunda metade da década de 1970 diversos pesquisadores já tentavam

desenvolver formas de sequenciar o DNA, mas quem ganhou reconhecimento e se consolidou como padrão ouro pelas próximas décadas foi o método de Sanger, que utiliza didesoxinucleotídeos (ddNTP) marcados com isótopos radioativos, facilitando o reconhecimento dos nucleotídeos. Além disso, é feita a remoção do oxigênio no carbono 3', impedindo a ligação com o próximo nucleotídeo durante a etapa de extensão, gerando fragmentos de diferentes tamanhos que podem ser organizados em ordem a partir de uma eletroforese. Esse método, apesar de eficiente na época, perdeu espaço com o desenvolvimento de técnicas NGS, que se destaca pelo menor custo, maior velocidade, maior comprimento de fragmento e mesmo leitura em tempo real ou de forma portátil, conforme apresentado no quadro 1 (HEATHER; CHAIN, 2016).

Quadro 1 - Principais tecnologias de sequenciamento

Plataforma	Tecnologia	Tamanho de leitura	Limitações
Sanger	Utiliza didesoxinucleotídeos (ddNTPs) marcados que param a síntese de DNA em posições específicas	500-1000 pb	Baixo rendimento e alto custo por sequenciamento
Pirosequenciamento	Baseado na detecção de pirofosfato (PPi), que é liberado quando um nucleotídeo é incorporado	400-1000 pb	Pode cometer erros de deleções e inserção devido a determinação errônea de homopolímeros
Illumina	A cada ciclo, um nucleotídeo fluorescente é adicionado, lido, e então a marca é removida para o próximo ciclo	36-300 pb	Em quantidades excessivas de amostra, pode resultar em sinais sobrepostos. Alto viés
PacBio SMRT	A DNA polimerase adiciona nucleotídeos marcados com fluorescência ao <i>template</i> . A luz emitida é capturada em tempo real na parte inferior da placa de sequenciamento.	10-25 kb	Altos custos em comparação a outras tecnologias mais consolidadas
Nanopore	As moléculas de DNA passam por um poro de membrana e a corrente elétrica que o atravessa é alterada por cada nucleotídeo, permitindo sua identificação	10-30 kb	Altas taxas de erro, menor acurácia de leitura, principalmente em seqüências de baixa complexidade

Fonte: HEATHER; CHAIN (2016); SATAM *et al.* (2023).

No início de 2025, a Roche lançou sua nova aposta, o sequenciamento por expansão (SBX, *Sequencing by Expansion*), que usa o DNA como molde para a criação do Xpandomer, uma molécula alongada derivada da ligação entre X-NTPs, após sua síntese o Xpandomer atravessa um nanoporo de membrana, gerando um sinal elétrico diferente para cada nucleotídeo. Essa expansão torna mais fácil o reconhecimento do sinal, evitando interferências e ruídos, provendo assim maior confiabilidade para o *base calling* e resolvendo uma das principais limitações das tecnologias Nanopore (KOKORIS *et al.*, 2025). Uma vez que o material biológico foi sequenciado, o pesquisador se depara com os dados obtidos, os quais pode analisar e manipular a fim de inferir resultados para seu problema. Na maioria dos casos é nesse ponto que entra o auxílio computacional.

A bioinformática clássica trabalha predominantemente com a análise de sequências, aqui definidas como o conjunto de unidades poliméricas de nucleotídeos (DNA/RNA) ou de aminoácidos (peptídeos/proteínas), sendo representadas por letras cientificamente padronizadas; seu estudo pode se dar a nível de gene, transcrito, proteína ou mesmo de uma combinação destes. Muitos dos projetos de sequenciamento são depositados em bancos de dados públicos, uma iniciativa que contribui para um sistema colaborativo e aberto que impulsiona o avanço da ciência ao redor do mundo.

Os bancos de dados são os repositórios que armazenam informações de origem biológica, muitos pertencem a organizações e instituições privadas, mas os maiores e mais relevantes são públicos, como o já citado UniProt. Eles podem ser exclusivos para um tipo de dados, por exemplo DNA, RNA ou proteínas, ou ser um integrador com diferentes tipos de entrada, como é o caso do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), que além de todas as sequências mantém informações sobre as pesquisas realizadas e publicações atreladas aos dados.

Um das formas mais comuns de análise são os métodos comparativos, em especial os alinhamentos, realizados por algoritmos que organizam as sequências de trabalho para maximizar a semelhança entre as mesmas, em outras palavras, buscam pelo resultado de maior identidade. A grande relevância dos alinhamentos está em sua aplicabilidade, sendo amplamente utilizados para inferir estruturas e funções de proteínas, predizer relações evolutivas entre espécies, criar árvores filogenéticas, entre outros (JUNQUEIRA; BRAUN; VERLI, 2014).

Podem ser feitos de forma par-a-par (*Pairwise Alignment*) quando são usadas somente duas sequências, nesse ponto o pesquisador pode optar por algoritmos de alinhamento global, que busca alinhar as sequências em sua integridade ou de alinhamento local, que identificam regiões de alta similaridade dentro das sequências. Caso possuam três ou mais conjuntos, é realizado um Alinhamento Múltiplo de Sequências (*Multiple Sequence Alignment*, MSA). Para trabalhos de MSA algumas ferramentas amplamente utilizadas são o Clustal W, o MUSCLE (Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation), o MAFFT

(Multiple Alignment using Fast Fourier Transform), que usam recursos mais complexos a fim de agilizar o tempo de processamento. O BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) é outra ferramenta que se destaca pela eficiência em relacionar uma sequência de entrada desconhecida com o enorme banco de dados de sequências do NCBI, facilitando a identificação de espécies e a descoberta de homologias em questão de minutos.

3. APLICAÇÃO DA BIOINFORMÁTICA EM MEDICINA E SAÚDE HUMANA

Desde o sequenciamento do genoma humano a aplicação da bioinformática na área da saúde tem se tornado cada vez mais comum, a revolução desencadeada pelas ômicas quebra um paradigma de medicina generalizada, que intenta atingir uma maioria da população, sem diretrizes claras de como lidar com pacientes não responsivos ou com reações adversas. A integração dessas novas tecnologias facilita a identificação de biomarcadores para diagnósticos precoces, a predição de riscos de doenças e consequente implementação de estratégias preventivas e atenuadoras, além de buscar respostas para casos particulares, dando suporte para uma medicina mais personalizada e de precisão, que leve em consideração as características genéticas de cada paciente, um passo essencial para inclusão da minoria que era previamente ignorada (SILVA; ALVES, 2024).

Na busca por novos alvos terapêuticos, se destacam a farmacogenômica – que estuda as bases moleculares e genéticas das doenças para descobrir novas vias de tratamento, bem como entender de forma mais holística a farmacocinética e farmacodinâmica associada aos mesmos – e a farmacogenética, – focada em identificar polimorfismos em genes específicos e entender como essas mutações podem estar associadas ao metabolismo dos fármacos e a resposta do paciente. Uma família de genes de crucial relevância dentro desse contexto é a CYP, codificadora de citocromos P450, enzimas responsáveis pela oxidação de grande parte dos medicamentos, toxinas e substâncias exógenas presentes no organismo. Alguns polimorfismos nesta enzima podem levar a uma alteração da atividade enzimática, pois pode acelerar ou reduzir o metabolismo e influenciar diretamente na eficiência dos processos terapêuticos (GARCÍA-ACERO; DÍAZ-GOMENO, 2019). Outra vertente de estudo parte do uso da proteômica para estudar modificações pós-transcricionais, pós-traducionais, degradação e complexos formados pelas proteínas, como interações com outras proteínas, com DNA ou com ligantes (BARBOSA *et al.*, 2012).

Na área da oncologia a bioinformática pode ser atrelada a inteligência

artificial e ao aprendizado de máquina para mineração de dados na busca por padrões metabólicos ou genéticos alterados, assim como no estudo e desenvolvimento de fármacos e tratamentos direcionados. Por isso é de grande importante a manutenção e constante atualização de bancos de dados como o Registro Hospitalar de Câncer (RHC), o *The Cancer Genome Atlas* (TCGA), o *Database of Genotypes and Phenotypes* (dbGaP), o *Genomic Data Commons* (GDC) e o *Cancer Cell Line Encyclopedia* (CCLE), que além de servirem como base para muitas pesquisas científicas e diagnósticos médicos, podem ser usados para treinar modelos de *machine learning* (COSTA; BEZERRA, 2023).

Segundo Shuja (2024), modelos de inteligência artificial já são capazes de detectar câncer de mama com a acurácia semelhante à de um radiologista, tais abordagens podem ser relevantes para realizar triagens e diminuir o sucateamento de serviços, evitando o viés humano que passará a se basear em modelos de informação personalizada para tomada de decisão. Embora futurista, mas com o investimento adequado, podemos estar nos aproximando de um futuro em que detecção precoce e tratamento personalizado poderão ser a norma da medicina. Apesar de promissora, tais abordagens ainda são caras e podem evidenciar ainda mais a desigualdade de acesso em escala global com países desenvolvidos sendo capazes de dominá-las e utilizá-las amplamente, enquanto os demais países ficam às margens dos avanços tecnológicos.

4. MICROBIOLOGIA E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA: METAGENÔMICA E VIGILÂNCIA GENÔMICA DE PATÓGENOS

Desde que o sequenciamento Sanger foi introduzido em 1977, houve um progresso notável na tecnologia de sequenciamento de DNA, que evoluiu de leituras mais longas (1ª geração) para leituras mais curtas (2ª geração) e, em seguida, retornou a leituras longas (3ª e 4ª gerações). Apesar dessas inovações, as plataformas de leitura longa e curta continuam a prevalecer no mercado. Tais desenvolvimentos têm estimulado avanços em pesquisas genômicas, medicina, criação de medicamentos e investigações sobre doenças infecciosas. Com essa abordagem facilitou a integração do sequenciamento nas práticas clínicas devido à diminuição de custos. Contudo, a identificação de patógenos continua sendo um desafio, uma vez que muitos microrganismos não podem ser detectados pelos métodos disponíveis, e essa situação é agravada pelo aparecimento de novos agentes. O sequenciamento metagenômico de próxima geração (mNGS), que oferece uma abordagem abrangente e neutra para a detecção de microrganismos, tem mostrado ser eficaz no diagnóstico e no tratamento de infecções, mesmo enfrentando desafios que ainda precisam ser resolvidos (LI *et al.*, 2021).

O uso extensivo de antibióticos na saúde humana, em ambientes

agrícolas e ambientais, levou ao surgimento e à disseminação de bactérias resistentes a antibióticos, tornando muitas infecções cada vez mais difíceis de tratar. Aliado ao desenvolvimento limitado de novos antibióticos, o aumento da resistência antimicrobiana (RAM) causou uma grave crise de saúde em todo o mundo, que exige ação imediata (OLSEN; RIBER, 2025).

A resistência antimicrobiana (RAM) é uma ameaça crítica e crescente à saúde global, representando um risco para muitos aspectos da prática médica moderna. Até 2050, estima-se que aproximadamente 1,9 milhões de pessoas morrerão a cada ano, e perdas econômicas totalizando US\$ 1,7 trilhão com base em anos de vida perdidos ajustados por incapacidade serão atribuíveis à RAM. A genômica de patógenos revolucionou o estudo de patógenos bacterianos e forneceu insights profundos sobre os mecanismos e a disseminação da RAM, com a precisão do sequenciamento do genoma completo, informando melhores estratégias de controle (SHERRY *et al.*, 2022).

Embora os métodos convencionais tenham dado suporte inicial aos esforços de supervisão da resistência antimicrobiana, eles frequentemente têm restrições em termos de rapidez e clareza, resultando em uma visão fragmentada dos padrões de resistência, tanto os que já existem quanto os que estão surgindo. Assim, essas abordagens estão sendo cada vez mais complementadas por novas técnicas, como a metagenômica, que se refere à análise de material genético obtido diretamente de amostras ambientais ou clínicas. A metagenômica possibilita a avaliação, com base em sequências, de comunidades microbianas inteiras sem a obrigatoriedade de isolar e cultivar em um ambiente laboratorial e, por isso, proporciona uma compreensão mais ampla e ágil sobre a dinâmica da resistência antimicrobiana (OLSEN; RIBER, 2025; SUENAGA, 2012; COWAN *et al.*, 2015; HENDRIKSEN *et al.*, 2019).

Abordagens genômicas podem responder a muitas questões relevantes para a compreensão da RAM, incluindo (i) descoberta e detecção dos mecanismos subjacentes de resistência à RAM (mutações e genes); (ii) determinação da ligação entre genética e fenótipos de resistência (previsão de genótipo para fenótipo); (iii) compreensão da evolução da resistência; (iv) determinação da transmissão e disseminação de patógenos ou mecanismos de resistência à RAM com alta resolução espaço-temporal; e (v) a conexão da RAM dentro de diferentes compartimentos usando o conceito One Health. As principais contribuições para esse tipo de análise incluem dados genômicos de alta qualidade, representativos e diversos, dados fenotípicos de RAM e metadados epidemiológicos contextuais relevantes (SHERRY *et al.*, 2022).

Dados metagenômicos são gerados por Illumina (leituras curtas, ~300 pb) e PacBio/ONT (leituras longas, >1000 pb). A metagenômica *shotgun* sequencia o DNA diretamente, enquanto a de *amplicon* amplifica genes como 16S/18S/26S rRNA e ITS. O 16S rRNA é usado para bactérias/arqueias, e 18S/26S rRNA/ITS para fungos/eucariotos. Regiões hipervariáveis (V1–V9)

do 16S permitem classificação taxonômica, mas a *shotgun* evita limitações ao sequenciar todo o DNA, apesar de desafios na montagem de leituras curtas. Leituras longas (PacBio/ONT) têm custo alto e qualidade variável, mas avanços como a química Q20+ da ONT melhoram a confiabilidade.

Após sequenciamento, os dados passam por: (1) controle de qualidade, (2) montagem/*binning*, (3) análise taxonômica/funcional e (4) visualização. *Amplicon* usa DADA2, Deblur e Kraken 2; *shotgun* emprega KEGG/COG, PICRUSt2 e MEGAN. Plataformas como MG-RAST e EBI MetaGenomics oferecem pipelines automatizados. Ferramentas como MetaPhlAn 4, QIIME2 e DeepARG melhoram precisão taxonômica, funcional e detecção de resistência a antibióticos (NAM *et al.*, 2023).

A escolha de bancos de dados de referência impacta diretamente a qualidade das análises. Como a anotação por similaridade de sequências depende da precisão das referências, selecionar bancos com anotações confiáveis é essencial. Um exemplo é o ARDB (Banco de Dados de Genes de Resistência a Antibióticos), criado em 2008, mas desatualizado desde 2009, deixando de incluir genes recentes. Já o CARD (Banco de Dados Abrangente de Resistência a Antibióticos) é mais completo e atualizado, mas não diferencia claramente genes validados experimentalmente de predições. O ARG-ANNOT, por sua vez, usa critérios relaxados, resultando em muitas anotações imprecisas. Alternativas como ResFinder e Resqu focam em genes de resistência adquiridos em MGEs, sendo mais rigorosos, mas o Resqu está parado desde 2013, enquanto o ResFinder segue em atualização (BENGTSSON-PALME; LARSSON; KRISTIANSOON, 2017).

As aplicações mais recentes do uso de metagenômica no estudo da vigilância em genes de resistência tem sido muito ampla. Rahman e colaboradores (2018) investigaram como os genes de resistência a antibióticos no microbioma intestinal de bebês prematuros influenciam a dinâmica microbiana em resposta a fatores clínicos utilizando-se de metagenômica e aprendizado de máquina, a proposta foi buscarem identificar genes-chave associados à sobrevivência bacteriana após tratamento com antibióticos e entender como a alimentação (leite materno *vs.* fórmula) afeta a resistência.

Su e colaboradores (2017) através da metagenômica buscaram compreender a diversidade, abundância e distribuição sazonal/geográfica de genes de resistência a antibióticos (ARGs) em águas residuais urbanas da China, utilizando metagenômica e sequenciamento do gene 16S rRNA. forma identificados 381 genes de resistência a antibióticos (ARGs) em esgotos urbanos chineses, com predominância de genes para aminoglicosídeos, tetraciclina e beta-lactâmicos.

Ge e colaboradores (2025) descreveram os microbiomas e resistomas presentes em ração animal (como ração bovina, alimento seco para cães e ração para aves), utilizando técnicas de sequenciamento do gene 16S rRNA e metagenômica *shotgun*, além de aprimorar os métodos de extração de DNA e de eliminação de

sequências de cloroplastos e mitocôndrias. A metagenômica *shotgun* mostrou uma resolução taxonômica superior a nível de espécies e identificou 10 famílias de genes de resistência antimicrobiana (AMR), que incluíam betalactamases e genes relacionados à resistência a eritromicina e quinolonas.

Shi e colaboradores (2022) buscaram esclarecer o resistoma móvel de antibióticos e os hospedeiros de genes de resistência a antibióticos (ARGs) em três estações de tratamento de águas residuais de pesticidas (ETARs) típicas por meio da metagenômica. Os resultados mostraram que os ARGs associados ao efluxo de antibióticos e à resistência a múltiplos medicamentos geralmente dominaram nas ETARs, e a abundância relativa de ARGs foi geralmente maior na fase aquosa do que na fase de lodo.

A vigilância da resistência a antibióticos é, portanto, de crucial importância, tecnologias inovadoras fáceis de usar e capazes de identificar simultaneamente diversos microrganismos (virais, bacterianos ou fúngicos) com precisão são necessárias para permitir decisões informadas em saúde única. Os métodos de vigilância baseados em metagenômica oferecem a oportunidade de melhorar a detecção de patógenos conhecidos e ainda não emergentes (KO KK; CHNG; NAGARAJAN, 2022).

5. AGRICULTURA E MELHORAMENTO GENÉTICO: MARCADORES MOLECULARES E SELEÇÃO ASSISTIDA

A chegada da revolução verde nos anos 60 provocou uma transformação significativa na capacidade de produção de trigo e arroz, sendo reconhecida por ter prevenido sérias crises alimentares. Desde essa época, existe uma expectativa contínua de que os esforços na melhoria genética das plantas possam sustentar os aumentos de produtividade, curiosamente em um cenário de redução de investimentos. Paralelamente, os novos métodos de cultivo intensivo incentivados pela revolução verde resultaram em uma maior pressão de pragas e doenças, enquanto as áreas agrícolas continuam a se expandir em terrenos menos adequados para o cultivo (HASAN *et al.*, 2021).

Para enfrentar esses desafios, os melhoristas e os geneticistas têm tido muito sucesso na identificação de fontes de nova genética de variedades locais anteriores à revolução verde, com a intenção de trazer várias tolerâncias ao estresse biótico e abiótico para origens semi-anãs de alto rendimento, prevalentes nos campos dos agricultores (BOSE, 2017; BAILEY-SERRES, 2010).

Na esteira dos enormes avanços genômicos, há 15 anos foi proposto o conceito de GAB (*Genomics-Assisted Breeding*) em tradução: melhoramento assistido por genômica, para acelerar o melhoramento de culturas. Curiosamente, a proposição coincidiu com o lançamento de uma montagem de sequência do genoma de alta qualidade do arroz (*Oryza sativa*), representando

a primeira sequência do genoma de qualquer planta cultivada (VARSHNEY; GRANER; SORRELLS, 2005; INTERNATIONAL RICE GENOME SEQUENCING PROJECT, 2005; VARSHNEY *et al.*, 2021).

No campo do desenvolvimento de culturas, a seleção assistida por marcadores (SAM) tornou-se uma ferramenta poderosa com muitas vantagens em relação às técnicas de melhoramento convencionais. Este método utiliza marcadores moleculares para identificar e selecionar as características genéticas desejadas nas plantas, o que acelera o processo de melhoramento e melhora a precisão na criação de melhores tipos de culturas. A introdução da SAM mudou completamente o campo do melhoramento de plantas, tornando possível incorporar de forma mais precisa e eficientes características vantajosas, incluindo tolerância à seca, resistência a doenças e maior conteúdo nutricional (MISRA; SINGH, 2025).

O sucesso de um programa de melhoramento genético depende, fundamentalmente, de algumas etapas como a escolha de genitores e a seleção de genótipos superiores. Desde o surgimento dos marcadores RFLP, na década de 1980, as metodologias para a exploração dos polimorfismos de DNA têm sido alvo de grandes avanços na automação e na geração de dados em larga escala, fornecendo uma amostragem do genoma, cada vez mais ampla, a um custo menor. Assim, com a tendência do aumento crescente no volume de dados, associada à redução nos custos, os marcadores moleculares firmam-se como estratégias sólidas para auxiliar o melhoramento genético, assim como estudos sobre clonagem e função de genes, filogenia diversidade e estrutura genética em espécies cultivadas e silvestres (GUIMARÃES *et al.*, 2009).

A seleção genômica assistida (GAB) tem gerado cultivares de arroz, trigo, milho e leguminosas com resistência a estresses bióticos (como *blast* e *blight* em arroz, *downy mildew* em milho e nematoides em soja) por meio de piramidamento de genes de efeito majoritário (*QTLs*). Para estresses abióticos, destaca-se a introgressão de *QTLs* como *Sub1* (submersão) e *Saltol* (salinidade) em arroz, além de tolerância à seca em grão-de-bico (“Pusa 10216”). Em qualidade, avanços incluem trigo com alto teor proteico (**Gpc-B1**) e arroz aromático (*badh2*), demonstrando a eficiência da GAB em acelerar o melhoramento de cultivos resilientes e nutricionalmente superiores (VARSHNEY *et al.*, 2021).

O melhoramento genômico é um expoente em crescimento e já revolucionou a agricultura e como foi possível aprimorar as culturas existentes para uma melhor distribuição alimentar ao redor do globo, a criação de variedades de plantas com qualidades consideradas superiores, como resistência a doenças, tolerância a condições adversas e aprimoramentos nutricionais. O Quadro 1 apresenta um resumo dos principais avanços alcançados em culturas essenciais, como arroz, trigo, soja, amendoim e grão-de-bico. Cada item destaca os genes ou *QTLs* (locos de características quantitativas) introduzidos, as qualidades aprimoradas e as variedades resultantes.

Quadro 2: Principais Produtos Desenvolvidos por Melhoramento Genômico Assistido (GAB) em Culturas Agrícolas

Principais Genes Desenvolvidos por Melhoramento Genético Conforme Atributos (CAR) em Cultura Agrícola				
Resumo de características genéticas melhoradas em diversas culturas agrícolas.				
Cultura	Tipo de Estresse	Gene/Sequência	Característica Melhorada	Variedade/Cultivar
Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	Biótico (<i>abwçõs</i>)	Xa11, xa13, xa5 (Bacterial Blight)	Resistência a <i>Xanthomonas oryzae</i>	Improved Samba Mahsuri (ISM)
		PI2, P11-e4 (Blast) + Xa36	Resistência a <i>Magnaporthe oryzae</i> e <i>Xanthomonas</i>	ISM (pyramiding)
		PI2-piz-5 (Piz5-Piz-P19 e Blast)	Resistência múltipla a blast	Pusa Basmati 1
Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Abiótico (<i>abogamento</i>)	Sub1	Tolerância a enchentes	Swarna
	Abiótico (<i>salinidade</i>)	Saltol	Tolerância a salinidade	Pusa Basmati 1121, BRR1, Dhan 49
	Biótico (<i>ferrugens</i>)	Rpg2 (ferrugens)	Arnad resistance tipo barley	Manawathi 24 (Myanmar)
	Qualidade	Yr10,17, Lr14	Resistência a ferrugens	Jagger, JIUN310
		Gpc-B1	Alto teor de proteína	Lillian Canadian, Farinator (ELITA)
Milheto (<i>Pennisetum glaucum</i>)	Biótico (<i>aféice hídrica</i>)	-	Resistência a <i>Sclerospora graminicola</i>	HHB 67-improved
Soja (<i>Glycine max</i>)	Biótico (<i>gorgulho</i>)	QTL para mar-2, 2, 3, 14	Resistência a <i>Melanoxanthus glycinis</i>	JTS N-503, JTS 5109
Arrozdoim (<i>Arachis hypogaea</i>)	Biótico (<i>ferrugens</i>)	QTL para resistência	Resistência a <i>Puccinia arachidis</i>	Linhas de melhoramento (ex: ICCV 91114)
Grão de bico (<i>Cicer arietinum</i>)	Qualidade	Mutante FAD2	Alto teor de ácido oleico	Lineage High O/L
		Biótico	QTL Integrado (ascochyta)	Resistência a <i>Fusarium</i> e <i>Ascochyta</i>

Fonte: Adaptado de VARSHNEY *et al.*, 2021.

Os exemplos apresentados na imagem x evidenciam como a combinação de marcadores moleculares e seleção genômica está promovendo a produção agrícola sustentável e resistente. Na próxima seção, exploraremos como a genômica tem sido aplicada tanto em plantas quanto em animais de interesse econômico. Esses exemplos nos mostram de maneira clara como as tecnologias genômicas podem transformar o aprimoramento de plantas. Com base nesse conceito essencial, é crucial investigar como esses progressos vão além das plantas e também mudam a produção de animais de interesse econômico. A seção a seguir analisará, assim, aplicações semelhantes na genômica de plantas e na zootecnia, evidenciando como a genômica serve como um recurso abrangente para a segurança alimentar.

6. AGRICULTURA E MELHORAMENTO GENÉTICO: GENÔMICA DE PLANTAS

A produção agrícola teve início há cerca de 10 mil anos e, desde então, passou por sucessivos avanços tecnológicos e biológicos que moldaram sua evolução. Ao longo dos séculos, avanços como a rotação de culturas, a seleção empírica de sementes e o uso de ferramentas especializadas aumentaram a produtividade. No século XX, esse processo culminou na chamada Revolução

Verde, na década de 1960, quando o investimento em pesquisa resultou no desenvolvimento de variedades de trigo, arroz e milho de alto rendimento, elevando significativamente a segurança alimentar global. Hoje, para atender à crescente demanda por alimentos com menor impacto ambiental, a análise genômica tornou-se essencial no melhoramento genético de culturas agrícolas.

Atualmente, os avanços no sequenciamento permitem estudar genomas inteiros de culturas e parentes selvagens, identificando variações ligadas a fenótipos agrônômicos. Combinada com fenotipagem avançada e estudos funcionais, a genômica está revolucionando o melhoramento vegetal, promovendo uma agricultura mais eficiente e sustentável (STEINWAND; RONALD, 2020).

A criação de novas espécies vegetais com atributos agrônômicos desejáveis ainda é uma tarefa demorada. Os métodos convencionais de melhoramento não atendem à necessidade urgente por cultivares mais eficazes, levando ao surgimento de tecnologias de edição genética como interferência de RNA, meganucleases, ZFNs, TALENs e CRISPR/Cas que se apresentam como soluções precisas para a inserção, remoção ou modificação de segmentos específicos do DNA. Essas abordagens possibilitam o aprimoramento da resistência a herbicidas e insetos, a qualidade nutricional e a tolerância a condições de estresse (AHMADIKHAH *et al.*, 2025).

O sequenciamento genômico em larga escala, agora mais acessível e barato, está acelerando a expansão de dados genômicos e a diversidade de culturas. Projetos colaborativos têm gerado genomas completos de 3.000 variedades de arroz de 89 países, é o exemplo do Consórcio Africano de Culturas Órfãs que buscou sequenciar 101 genomas de cultivos nativos, como milheto-de-dedo (*Eleusine coracana*) e amendoim bambara (*Vigna subterrânea*), para mapear diversidade genética. Para otimizar esses estudos, técnicas de enriquecimento de DNA são frequentemente utilizadas antes do sequenciamento (STEINWAND; RONALD, 2020).

Os progressos nas áreas de genômica e bioinformática estão acelerando a evolução genética. O sequenciamento da terceira geração enfrenta obstáculos como a poliploidia, resultando em genomas referenciais de alta qualidade. A inteligência artificial reconhece áreas de relevância agrônômica, contribuindo para a anotação funcional e a fenotipagem eficiente. Bancos de dados que combinam genótipos e fenótipos possibilitam a mineração de dados e a identificação de novos genes. Esses instrumentos, juntamente com a seleção genômica e a edição do genoma, promovem o avanço de culturas que são resistentes, tolerantes e produtivas (HU; SCHEBEN; EDWARDS, 2018).

7. AGRICULTURA E MELHORAMENTO GENÉTICO: ANIMAIS DE INTERESSE ECONÔMICO

Na produção animal, a biotecnologia pode ser empregada para aumentar a produção de alimentos, a eficiência dos sistemas de produção, a qualidade dos produtos de origem animal e a sustentabilidade do sistema. Alguns exemplos dos produtos comercialmente disponíveis e que foram gerados com o emprego de técnicas biotecnológicas são o hormônio de crescimento bovino, empregado para aumentar a produção de leite; vacinas recombinantes para prevenção de doenças em bovinos, suínos, ovinos e aves; testes genéticos de DNA utilizados na seleção de animais com genótipos superiores em programas de melhoramento (COUTINHO; ROSÁRIO; JORGE, 2010).

O desenvolvimento de diversas técnicas moleculares para extração de DNA genômico e o uso da bioinformática para processamento dos resultados obtidos têm gradualmente auxiliado no estabelecimento da biologia molecular para o melhoramento de características fenotípicas de interesse de diversas espécies. O sequenciamento é o primeiro passo em muitos desses experimentos. A composição genética de animais domesticados está profundamente relacionada ao nível de seu desempenho, por meio de expressões fenotípicas. As qualidades especiais, como adaptabilidade às condições climáticas locais e situações de cultivo, resistência a doenças, quantidade e qualidade dos produtos, são basicamente governadas pelos genes relevantes localizados dentro do genoma da espécie (PAUDEL; MISHRA, 2020).

A genômica tem gerado novas ferramentas para os programas de melhoramento e desta forma contribuído para melhorar a eficiência e qualidade dos produtos de origem animal. No entanto, os avanços têm sido mais lentos do que antecipado, principalmente devido à dificuldade na identificação dos genes responsáveis pelas características fenotípicas de interesse zootécnico. Três estratégias principais têm sido utilizadas para identificar genes de interesse (mapeamento de QTLs, gene candidato e estudos de expressão gênica) (COUTINHO *et al.*, 2007).

A bioinformática desempenha uma função essencial em várias esferas da criação de animais e da biologia molecular. A nutrigenômica e nutrigenética estudam como nutrientes regulam genes e como a variabilidade genética afeta a resposta alimentar, buscando dietas personalizadas para saúde e produtividade. Técnicas como PCR em tempo real, microarranjos de DNA e RNA-seq vinculam dietas a perfis genéticos. A filogenia molecular usa dados genômicos para traçar relações evolutivas, auxiliando no desenvolvimento de vacinas e fármacos. Na criação de vacinas, a bioinformática seleciona antígenos e biomarcadores, como na tuberculose bovina. A imunogenômica analisa interações entre genoma, imunidade e patógenos, identificando genes de resistência e aplicando CRISPR/Cas9. O bem-estar animal usa seleção genômica para reduzir estresse e aumentar resiliência. Na aquicultura, integra

dados genômicos para produção sustentável. Na conservação, monitora diversidade genética e evita endogamia. O NGS permite análises em larga escala, exigindo bioinformática avançada. Assim, a bioinformática impulsiona avanços na produção animal, saúde e conservação, unindo múltiplas áreas (ADEBAYO *et al.*, 2024).

8. BIOTECNOLOGIA E BIOPROSPECÇÃO: DESCOBERTA DE GENES E METABÓLITOS DE INTERESSE INDUSTRIAL E ENGENHARIA DE MICRORGANISMOS

A bioprospecção de microbiana é o estudo e investigação do metabolismo de microrganismos visando a utilização desses processos para uso em pesquisa e desenvolvimento. Microrganismos e seus metabólitos são uma das principais fontes de processos ecológicos e aplicações industriais. A bioprospecção microbiana tem sido fundamental para o avanço em diversos campos, como produtos farmacêuticos, indústrias sustentáveis, segurança alimentar e biorremediação. O microbioma se bem caracterizado por técnicas ômicas nos fornece uma ampla gama de novas enzimas e biocatalisadores com grandes aplicações no mercado (ROUMPEKA *et al.*, 2017; VUONG *et al.*, 2022).

Os estudos em bioprospecção de microrganismos podem ser facilitados a partir do uso de sequenciamento de DNA, com o uso dessas tecnologias, principalmente as de NGS (sequenciamento de nova geração) como a metagenômica é possível novas oportunidades para a descoberta de habitats de bactérias raras que podem se tornar fontes de novos fármacos. A metagenômica, permite acesso direto aos genomas da maioria das bactérias que vivem nesse habitat. A possibilidade ou não de cultivo dessas bactérias não importa, desde que os genes para a biossíntese de metabólitos secundários descobertos nos metagenomas possam ser amplificados ou sintetizados e expressos heterologicamente em um hospedeiro bacteriano apropriado e bem caracterizado (SEKUROVA; SCHNEIDER; ZOTCHEV, 2019).

Na busca por enzimas para aplicação industrial, Zang *et al.* (2016) aplicaram a abordagem metagenômica em uma comunidade microbiana capaz de degradar fibras de algodão. A análise revelou mais de dois mil genes relacionados a hidrolases glicosídicas, dos quais 16 foram confirmados como novas enzimas ativas após clonagem e expressão em *Escherichia coli*. Entre elas estavam β -glicosidasases e β -xilosidasases pouco semelhantes às já conhecidas, destacando o potencial da metagenômica para revelar diversidade funcional oculta.

Zarafeta e colaboradores (2016) identificaram uma nova enzima esterolítica por meio da triagem de uma amostra metagenômica coletada de uma fonte termal em Kamchatka, Rússia. A caracterização bioquímica da nova esterase, denominada EstDZ2, revelou que ela é altamente ativa contra ésteres

de ácidos graxos de cadeia média em temperaturas. A análise filogenética indicou que EstDZ2 é provavelmente uma enzima de acetotermia que pertence a uma nova família de esterases bacterianas. Assim, a EstDZ2 parece ser distinta das enzimas esterolíticas relacionadas conhecidas, tanto em termos de características de sequência quanto em termos de estrutura tridimensional, evidenciando a importância da metagenômica em revelar e reclassificar a diversidade enzimática oriunda dos microbiomas não cultiváveis.

Outro exemplo relevante é o estudo de Marathe *et al.* (2018), que investigou sedimentos fluviais indianos contaminados por resíduos da produção de antibióticos. A análise metagenômica funcional revelou sete novos genes de resistência (seis β -lactamases e um gene de resistência à amicacina), associados a elementos de mobilidade genética, indicando alto potencial de disseminação. Esses resultados reforçam a relevância da bioprospecção microbiana não apenas na descoberta de enzimas e metabólitos, mas também na vigilância de mecanismos de resistência antimicrobiana em ambientes impactados.

A bioprospecção por metagenômica se mostra uma ferramenta poderosa na busca de novos bioprodutos de interesse industriais, novas moléculas, enzimas, candidatos a genes de resistência, e o desenvolvimento de novas técnicas de mineração de dados aliado a alimentação de bancos de dados genômicos com maiores informações expandirá a fronteira do conhecimento nessa área e novos projetos de pesquisa e desenvolvimento surgirão para expansão da ciência.

9. TENDÊNCIAS EMERGENTES EM BIOINFORMÁTICA

Com o aumento da quantidade de dados, um dos principais desafios para as empresas e instituições de pesquisa é o manejo e armazenamento das informações obtidas, e garantir que elas sejam acessíveis mesmo anos após sua finalização. Para isso, muitos recorrem ao armazenamento em nuvem ou em bancos de dados públicos, que com o advento de uma política de ciência aberta, provê acesso democratizado das informações depositadas por cientistas ao redor do mundo.

A ideia de ciência aberta não é nova, mas ganha cada vez mais força na era da informação. Um exemplo é o caso do *International Nucleotide Sequence Database* (INSDC), uma organização mantida por três membros – o *DNA Data Bank of Japan* (DDBJ), Japão; o *European Nucleotide Archive* (ENA), Reino Unido; e o *GenBank*, Estados Unidos – comprometidos em receber, armazenar e compartilhar de forma global os novos depósitos de sequências que obtiverem a cada dia, garantindo que as informações disponibilizadas estejam sempre atualizadas independente de onde o pesquisador estiver. Em 2024 já acumularam um total de cerca de 4,76 bilhões de sequências montadas, com uma duplicação esperada de 10 vezes a cada ano (KARSCH-MIZRACHI, I. *et al.*, 2025; ARITA *et al.*, 2021).

Nesse contexto, surgem iniciativas para padronizar e garantir a qualidade e reprodutibilidade dos dados gerados. Para esse fim, Wilkinson *et al.* (2016) criaram os denominados princípios FAIR, com o intuito de estabelecer um guia que conceda uma melhor grau de confiabilidade associado às pesquisas e publicações atuais, de forma que elas possam ser acessadas e utilizadas com pela comunidade científica, bem como facilitar as interações entre os dados e os computadores, ferramentas extensivamente utilizadas. Entretanto, muitas áreas do conhecimento ainda não têm diretrizes claras, com muitas das exigências sendo estabelecidas pelos próprios bancos de dados e periódicos, que estão em constante processo de curadoria por agentes humanos.

Nos dados FAIR, cada letra representa um conceito do que a informação deve ser:

- Localizável (Findable): para isso podem usar de identificadores únicos (como DOIs) e códigos de acesso;
- Acessível (Accessible): devem ser acessíveis por protocolos de comunicação aberta (como HTTPS);
- Interoperável (Interoperable): devem ser capazes de serem combinados com outros conjuntos de dados, em outras palavras, usar formatos padronizados que permitam o uso em diferentes máquinas e sistemas;
- Reutilizável (Reusable): bem documentados, como informações claras de origem e metodologia, para que os demais pesquisadores possam entender com clareza o processo.

10. INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL E O APRENDIZADO DE MÁQUINA

Outra frente tecnológica que vem reformulando a forma como se estuda a biologia é a inteligência artificial. Popularmente chamada de IA, descreve a área de estudo que busca criar máquinas capazes de realizar tarefas que exigem níveis de abstração humana, como percepção, raciocínio, tomada de decisão e compreensão de linguagens. Como um subgrupo entra também o aprendizado de máquina, que tem por objetivo criar algoritmos capazes de “ler”, categorizar grandes volumes de dados e aprender a reconhecer os padrões compreendidos neles, podendo ser generativos, se o objetivo for a interpretação e construção de modelos, ou preditivos, se o que se deseja é encontrar a “fronteira” de separação entre classes (LIBBRECHT; NOBLE, 2015).

De modo geral e simplificado, os algoritmos podem ser divididos em aprendizado supervisionado, não-supervisionado ou semi-supervisionado. No primeiro caso, a máquina é treinada a partir de dados já rotulados, dando um exemplo de como espera-se que ela se comporte ao lidar com novos dados, enquanto no aprendizado não-supervisionado os algoritmos são alimentados com

dados não rotulados e deseja-se que a máquina encontre o padrão presente nesses dados; algoritmos semi-supervisionados se encontram no meio do caminho, recebendo alguns dados rotulados e outros não (LIBBRECHT; NOBLE, 2015).

Diversas áreas da bioinformática podem usar do aprendizado de máquina para obter suas soluções, a mais relevante delas, em vista do volume de dados produzidos, é a genômica. Os algoritmos podem ajudar a desvendar a função de genes, encontrar sua localização no genoma, identificar elementos regulatórios, ncRNAs e mesmo prever estruturas secundárias de RNA (LARRAÑAGA *et al.*, 2006). No domínio da proteômica, o uso da IA já é recorrente na predição de estruturas e funções, devido principalmente a avanços como o *AlphaFold*, rede neural artificial da *DeepMind* que ganhou notoriedade após resolver o problema do enovelamento de proteínas 2020. Até então, os bioinformatas em sua maioria buscavam respostas físico-químicas e termodinâmicas para as estruturas proteicas, o *AlphaFold*, por outro lado, foi construído com base nas sequências de proteínas em bancos de dados, encontrando padrões complexos, que moldaram a forma como a biologia estrutural tem sido feita, acelerando o processo preditivo, melhorando a descoberta de medicamentos e projetos de design enzimático (CONTESSOTO *et al.*, 2018; JUMPER *et al.*, 2021). Essas técnicas também podem ser usadas em contextos evolutivos, para construção de árvores filogenéticas ou na interpretação de dados complexos, provenientes da transcriptômica ou biologia de sistemas.

As Máquinas de Vetores Suporte (SVMs, *Support Vector Machines*) são técnicas que buscam encontrar a fronteira – tecnicamente chamado de hiperplano – que separa as classes de acordo com suas características em comum, para isso selecionam amostras importantes nas margens de decisão e conferem a elas o status de vetor de suporte, para em seguida calcular e maximizar a distância entre elas. Na bioinformática, são usadas na predição de genes e análise de expressão gênica (SOUTO *et al.*, 2003; BARBOSA *et al.*, 2021).

Assim como a SVMs, as árvores de decisão são algoritmos de aprendizado supervisionado que funcionam como um fluxograma, contendo etapas hierárquicas e recursivas de partição em cada nodo, as perguntas feitas podem ser respondidas com “sim” e “não”, conduzindo a novas perguntas ou classificações a partir das respostas encontradas pelo programa (SOUTO *et al.*, 2003). São usadas na anotação de sequências, reconhecimento de sítios de *splicing*, predição de localização de proteínas, identificação de biomarcadores, entre outros (CHEN; WANG; ZHANG, 2011).

Para concluir essa seção, vale citar as técnicas de agrupamento, também chamadas de clusterização, tem como objetivo agrupar padrões em razão de suas similaridades ou distâncias. Os destaques são a distância euclidiana e o agrupamento hierárquico, que podem variar a depender do tipo de ligação escolhida: simples, média ou máxima. Como resultado, geram dendrogramas que podem ser utilizados para representar a similaridade entre padrões de genes e de expressão gênica, um dos usos mais relevantes é a construção de árvores filogenéticas (SOUTO *et al.*, 2003).

11. DESAFIOS, LIMITAÇÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os grandes obstáculos que os cientistas enfrentam na bioinformática incluem a administração do enorme volume e da complexidade de dados multi-ômicos, como genômica, proteômica e transcriptômica, que necessitam de uma infraestrutura computacional robusta e algoritmos complexos.

A intercessão de dados variados provenientes de diferentes fontes, muitas vezes sem uma padronização clara, torna difícil a interoperabilidade entre bancos de dados e ferramentas disponíveis. Além disso, a previsão de estruturas e funções biológicas, abrangendo elementos como o dobramento de proteínas, interações entre proteínas e rotas metabólicas, continua sendo um processo que demanda grande poder computacional e é limitada pela precisão dos modelos existentes. Outro desafio significativo é a eficaz conversão de dados genômicos em informações clínicas úteis, como na área da descoberta de medicamentos e na medicina personalizada, que requer a correlação entre dados moleculares e fenótipos complexos (MATHUR, 2018).

A metagenômica e o sequenciamento total do genoma enfrentam desafios consideráveis na montagem de sequências em nível de cromossomos, devido a limitações nas tecnologias disponíveis. As leituras curtas tornam a montagem em áreas repetitivas mais complicadas, enquanto as leituras longas comumente possuem altas taxas de erro e não são suficientes para conectar lacunas entre contigs. Métodos combinados que envolvem a criação de mapas cromossômicos físicos, genéticos e de desequilíbrio de ligação são fundamentais para orientar e organizar os contigs, possibilitando montagens completas e viáveis economicamente para várias espécies (COLLINS, 2018).

A bioinformática tornou-se uma área essencial dentro da ciência moderna, representando um grande salto na análise dos diversos dados biológicos em larga escala. Ela possibilita, entre outras coisas, a identificação de novos alvos para medicamentos, a elucidação de doenças complexas, a proteção da diversidade biológica e a criação de tratamentos personalizados.

Embora existam dificuldades técnicas e restrições nas metodologias, sua função como um elo de intersecção em diversas áreas como biologia molecular, estatística e ciência da computação. O progresso deste campo dependerá da capacidade de resolver questões como a uniformização de dados, a melhoria de algoritmos e o acesso aberto a ferramentas, assegurando que os avanços beneficiem os cientistas e a sociedade de forma ampla.

REFERÊNCIAS

ADEBAYO, O. M. *al.* Application of bioinformatics in animal breeding and genetics: A review. In: **2024 International Conference on Science, Engineering and Business for Driving Sustainable Development Goals**

(SEB4SDG), 2024. Anais [...]. IEEE, 2024. p. 1-7. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/10629845>. Acesso em: 1 ago. 2025.

AHMADIKHAH, A. et al. Advancements in genome editing tools for genetic studies and crop improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1370675, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1370675>. Acesso em: 4 ago. 2025.

ARITA, M.; KARSCH-MIZRACHI, I.; COCHRANE, G. The international nucleotide sequence database collaboration. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. 121–124, 8 jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa967>. Acesso em: 23 jul. 2025.

BAILEY-SERRES, J. et al. Submergence tolerant rice: SUB1's journey from landrace to modern cultivar. **Rice**, v. 3, n. 2, p. 138-147, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12284-010-9048-5>. Acesso em: 29 jul. 2025.

BARBOSA, E. B. *et al.* Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, p. 366–375, maio 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-42302012000300019>. Acesso em: 11 de ago. de 2025.

BARBOSA, G. *et al.* **Segurança em Redes 5G: Oportunidades e Desafios em Detecção de Anomalias e Predição de Tráfego Baseadas em Aprendizado de Máquina**. p. 145–189, 4 out. 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/355261609_Seguranca_em_Redes_5G_Oportunidades_e_Desafios_em_Deteccao_de_Anomalias_e_Predicao_de_Trafego_Baseadas_em_Aprendizado_de_Maquina. Acesso em: 11 de ago de 2025.

BENGTSSON-PALME, J.; LARSSON, D. G. J.; KRISTIANSSON, E. Using metagenomics to investigate human and environmental resistomes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 10, p. 2690-2703, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dkx199>. Acesso em: 14 ago. de 2025.

BOSE, J. *et al.* Chloroplast function and ion regulation in plants growing on saline soils: lessons from halophytes. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 12, p. 3129-3143, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/erx142>. Acesso em: 29 jul. de 2025.

CHANG, M. A.; DAYHOFF, M. O.; ECK, R. V.; SOCHARD, M. R. Atlas of protein sequence and structure. **National Biomedical Research Foundation**, 1965. Disponível em: <https://ntrs.nasa.gov/api/citations/19660014530/downloads/19660014530.pdf>. Acesso em: 11 de ago de 2025.

CHEN, X.; WANG, M.; ZHANG, H. The use of classification trees for bioinformatics. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Data Mining and Knowledge Discovery**, v. 1, n. 1, p. 55–63, jan. 2011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3329156/>. Acesso em: 15 de ago de 2025.

COLLINS, Andrew. The challenge of genome sequence assembly. **Open Bioinformatics Journal**, v. 11, n. 1, p. 231-239, 2018. Disponível em: <https://openbioinformaticsjournal.com/VOLUME/11/PAGE/231/>. Acesso em: 21 ago. de 2025.

CONTESSOTO, V. G. *et al.* Introdução ao problema de enovelamento de proteínas: uma abordagem utilizando modelos computacionais simplificados. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 40, n. 4, 18 jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9126-RBEF-2018-0068>. Acesso em: 11 de ago. de 2025.

COSTA, T. T. S. S.; BEZERRA, LVC. Bioinformática na luta contra o câncer: os bancos de dados na pesquisa oncológica. **BIOINFO**. ISSN: 2764-8273. Vol. 3. p.10 (2023). doi: 10.51780/bioinfo- 03-10.

COUTINHO, Luiz Lehmann *et al.* Genômica Animal. In: **Congresso Brasileiro de Zootecnia**. 2007. p. 429-430. Disponível em: <https://guzera.org.br/wp-content/uploads/2022/08/genoma-animal.pdf>. Acesso em: 5 ago. de 2025.

COUTINHO, Luiz Lehmann; ROSÁRIO, Millor Fernandes do; JORGE, Erika Cristina. Biotecnologia animal. **Estudos avançados**, v. 24, p. 123-147, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-40142010000300009>. Acesso em 6 ago. de 2025.

COWAN, Don A. *et al.* Metagenomics of extreme environments. **Current opinion in microbiology**, v. 25, p. 97-102, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.05.005>. Acesso em: 13 ago. de 2025.

DAYHOFF, Margaret Oakley; LEDLEY, Robert S. Comprotein: a computer program to aid primary protein structure determination. In: **Proceedings Of The December 4-6, 1962, Fall Joint Computer Conference**. Anais [...]. 1962. p. 262-274. Disponível em: <https://doi.org/10.1145/1461518.1461546>. Acesso em: 18 jul. 2025.

GARCÍA-ACERO, P.; DÍAZ-GIMENO, P. Farmacologia dos sistemas: estudo das bases moleculares e resposta a fármacos. **Revista Genética Médica y Genômica**. v. 3, n. 3, 2019.

GEORGE, D. G. PIR-International Protein Sequence Database (PSD)

Database Definition Document: The Protein Sequence Component. **National Biomedical Research Foundation, Georgetown University Medical Center**, Washington, DC, 1994. Disponível em: <https://proteininformationresource.org/pirwww/otherinfo/co2.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2025.

GUIMARÃES, Claudia Teixeira *et al.* Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, v. 30, n. 253, p. 24-33, 2009. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/45504024.pdf>. Acesso em: 29 jul. de 2025.

GUIMARÃES, Maria. A era do sequenciamento completo de genomas. **Revista FAPESP**. Ano 24, edição 330, p. 19, ago 2023. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/a-era-do-sequenciamento-completo-de-genomas/>. Acesso em: 31 de jul de 2025.

HASAN, N. *et al.* Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 128, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00231-1>. Acesso em: 29 jul. de 2025.

HEATHER, J. M.; CHAIN, B. The Sequence of sequencers: the History of Sequencing DNA. **Genomics**, v. 107, n. 1, p. 1–8, jan. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2015.11.003>. Acesso em: 11 de ago. de 2025.

HENDRIKSEN, R. S. *et al.* Using genomics to track global antimicrobial resistance. **Frontiers in public health**, v. 7, p. 242, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00242>. Acesso em: 12 ago. de 2025.

HU, H.; SCHEBEN, A; EDWARDS, D. Advances in integrating genomics and bioinformatics in the plant breeding pipeline. **Agriculture**, v. 8, n. 6, p. 75, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture8060075>. Acesso em: 4 ago. de 2025.

HUERTA, M. *et al.* NIH working definition of bioinformatics and computational biology. **US National Institute of Health**, p. 1-1, 2000. Disponível em: <https://www.kennedykrieger.org/sites/default/files/library/documents/research/center-labs-cores/bioinformatics/bioinformatics-def.pdf>. Acesso em: 11 de ago. de 2025.

Human Genome Project Fact Sheet. **National Genome Project Research**, 2024. Disponível em: <https://www.genome.gov/about-genomics/educational-resources/fact-sheets/human-genome-project>. Acesso em: 18 de jul. de 2025.

JUMPER, J. *et al.* Highly Accurate Protein Structure Prediction with AlphaFold. **Nature**, v. 596, n. 7873, p. 583–589, 15 jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>. Acesso em: 11 de ago de 2025.

JUNQUEIRA, D. M.; BRAUN, R. L.; VERLI, H. Alinhamentos. In: **Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Molecular**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular - SBBq, 2014. p. 38–61.

KARSCH-MIZRACHI, I. *et al.* The international nucleotide sequence database collaboration (INSDC): enhancing global participation. **Nucleic Acids Research**, v. 53, D1, p. 62–66, 6 de jan. de 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1058>. Acesso em: 23 de jul. de 2025.

KO, Karrie KK; CHNG, K. R.; NAGARAJAN, N. Metagenomics-enabled microbial surveillance. **Nature Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 486–496, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01089-w>. Acesso em: 12 ago. de 2025.

KOKORIS, M. *et al.* Sequencing by Expansion (SBX) — a novel, high-throughput single-molecule sequencing technology. **bioRxiv** (Cold Spring Harbor Laboratory), 24 fev. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2025.02.19.639056>. Acesso em: 11 de ago. de 2025.

LARRANAGA P, *et al.* Machine learning in bioinformatics. **Brief Bioinform.** v. 7, n. 1, p. 86-112, 21 de maio de 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bib/bbk007>. Acesso em: 11 de ago de 2025.

LI, N. *et al.* High-throughput metagenomics for identification of pathogens in the clinical settings. **Small methods**, v. 5, n. 1, p. 2000792, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/smt.202000792>. Acesso em: 13 ago. de 2025.

LIBBRECHT, M. W.; NOBLE, W. S. Machine learning applications in genetics and genomics. **Nature Reviews Genetics**, v. 16, n. 6, p. 321–332, 7 maio 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg3920>. Acesso em: 11 de ago. de 2025.

MARATHE, N. P. *et al.* Functional metagenomics reveals a novel carbapenem-hydrolyzing mobile beta-lactamase from Indian river sediments contaminated with antibiotic production waste. **Environment international**, v. 112, p. 279-286, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.12.036>. Acesso em: 20 ago. de 2025.

MATHUR, M. Bioinformatics challenges: a review. **Bioinformatics**, v.

3, n. 6, p. 29-33, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/329529285_bioinformatics_challenges. Acesso em: 21 ago. de 2025.

MISRA, A.; SINGH, R. Marker Assisted Selection for Crop Improvement: A Review. **Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology**, v. 26, n. 1-2, p. 103-117, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.56557/pcbmb/2025/v26i1-29130>. 29 jul. de 2025.

NAM, N. N. *et al.* Metagenomics: an effective approach for exploring microbial diversity and functions. **Foods**, v. 12, n. 11, p. 2140, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods12112140>. Acesso em: 13 ago. de 2025.

OLSEN, N. S.; RIBER, L. Metagenomics as a transformative tool for antibiotic resistance surveillance: highlighting the impact of mobile genetic elements with a focus on the complex role of phages. **Antibiotics**, v. 14, n. 3, p. 296, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030296>. Acesso em: 12 jul. de 2025.

PAUDELI, S; MISHRA C. 2020. DNA Sequencing and its application in Animal Improvement. **International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology**. Disponível em: <https://doi.org/10.22214/ijraset.2020.1086>. Acesso em: 5 ago. de 2025.

PIR (Protein Information Resource). History. 2018. Disponível em: <https://proteininformationresource.org/pirwww/about/aboutpir.shtml>. Acesso em 24 de jul. de 2025.

PROJECT, International Rice Genome Sequencing. The map-based sequence of the rice genome. **Nature**, v. 436, n. 7052, p. 793-800, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature03895>. Acesso em: 29 jul. de 2025.

PURUGGANAN, M. D.; JACKSON, S. A. Advancing crop genomics from lab to field. **Nature genetics**, v. 53, n. 5, p. 595-601, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00866-3>. Acesso em 4 ago. de 2025.

RAHMAN, S. F. *et al.* Machine learning leveraging genomes from metagenomes identifies influential antibiotic resistance genes in the infant gut microbiome. **MSystems**, v. 3, n. 1, p. 10.1128/msystems.00123-17, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msystems.00123-17>. Acesso em: 14 ago. de 2025.

ROUMPEKA, D. D. *et al.* A review of bioinformatics tools for bio-prospecting from metagenomic sequence data. **Frontiers in genetics**, v. 8, p. 23, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00023>. Acesso em: 19 ago. de 2025.

SATAM, H. *et al.* Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology*, v. 12, n. 7, p. 997, 1 jul. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology12070997>. Acesso em: 31 ago. 2025.

EKUROVA, O. N.; SCHNEIDER, O.; ZOTCHEV, S. B. Novel bioactive natural products from bacteria via bioprospecting, genome mining and metabolic engineering. *Microbial biotechnology*, v. 12, n. 5, p. 828-844, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13398>. Acesso em: 18 ago. de 2025.

SHERRY, N. L. *et al.* Genomics for antimicrobial resistance—progress and future directions. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 69, n. 5, p. e01082-24, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.01082-24>. Acesso em: 12 ago. de 2025.

SHI, L. *et al.* Metagenomics revealed the mobility and hosts of antibiotic resistance genes in typical pesticide wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, v. 817, p. 153033, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153033>. Acesso em: 14 ago. de 2025.

SHUJA, N. The Future of Personalized Medicine: Advancing Precision Healthcare Through Personalized Medicine. *DEVELOPMENTAL MEDICO-LIFE-SCIENCES*, [S. l.], v. 1, n. 7, p. 1–3, 2024. DOI: 10.69750/dmls.01.07.084. Disponível em: <https://dmlsjournal.com/index.php/January2024/article/view/84>. Acesso em: 31 jul. 2025.

SILVA, R. C. C. da; ALVES, M. C. S. Os avanços e desafios da bioinformática aplicada à saúde: uma revisão. *Diversitas Journal*, v. 9, n. 3, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.48017/dj.v9i3.2910>. Acesso em: 11 de ago. de 2025.

SOUTO, M C P *et al.* Técnicas de aprendizado de máquina para problemas de biologia molecular. 2003, Anais. Campinas: SBC, 2003. Disponível em <https://www.cin.ufpe.br/~mcps/ENIA2003/jaia2003-14-08.pdf>. Acesso em: 11 de ago de 2025.

STEINWAND, M. A.; RONALD, P. C. Crop biotechnology and the future of food. *Nature Food*, v. 1, n. 5, p. 273-283, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0072-3>. Acesso em: 4 ago. de 2025.

SU, J. *et al.* Metagenomics of urban sewage identifies an extensively shared antibiotic resistome in China. *Microbiome*, v. 5, n. 1, p. 84, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0298-y>. Acesso em: 14 ago. de 2025.

SUENAGA, H. Targeted metagenomics: a high-resolution metagenomics

approach for specific gene clusters in complex microbial communities.

Environmental microbiology, v. 14, n. 1, p. 13-22, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02438.x>. Acesso em: 13 ago. de 2025.

VARSHNEY, R. K. *et al.* Designing future crops: genomics-assisted breeding comes of age. **Trends in plant science**, v. 26, n. 6, p. 631-649, 2021.

VARSHNEY, R. K.; GRANER, A.; SORRELLS, M. E. Genomics-assisted breeding for crop improvement. **Trends in plant science**, v. 10, n. 12, p. 621-630, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.10.004>. Acesso em 29 jul. de 2025.

VERLI, H. O que é Bioinformática? In: **Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Molecular**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular - SBBq, 2014. p. 1–12.

VUONG, P. *et al.* Small investments with big returns: environmental genomic bioprospecting of microbial life. **Critical reviews in microbiology**, v. 48, n. 5, p. 641-655, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.2011833>. Acesso 18 ago. de 2025.

WETTERSTRAND K. A. **DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP)**. Disponível em: www.genome.gov/sequencingcostsdata. Acesso em 21 de jul. de 2025.

WILKINSON, M. D. *et al.* The FAIR Guiding Principles for Scientific Data Management and Stewardship. **Scientific Data**, v. 3, n. 1, 15 mar. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sdata.2016.18>. Acesso em: 11 de ago. de 2025.

ZARAFETA, D. *et al.* Metagenomic mining for thermostable esterolytic enzymes uncovers a new family of bacterial esterases. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 38886, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep38886>. Acesso em 20 ago. de 2025.

ZHANG, G. *et al.* Bioprospecting metagenomics of a microbial community on cotton degradation: Mining for new glycoside hydrolases. **Journal of Biotechnology**, v. 234, p. 35-42, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.017>. Acesso em: 19 ago. de 2025.

ZOTCHEV, S. B.; SEKUROVA, O. N.; KATZ, L. Genome-based bioprospecting of microbes for new therapeutics. **Current opinion in biotechnology**, v. 23, n. 6, p. 941-947, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.04.002>. Acesso em: 18 ago. De 2025.



Compostos Bioativos em Cogumelos: Potenciais Terapêuticos e Funcionais

*Isabelle Satie Gomes Otani
Gabriel Superti Maia*

CAPÍTULO

02

1. INTRODUÇÃO

A consciência de uma alimentação e uma vida mais saudável estimula cada vez mais a procura por alimentos com benefícios nutricionais e funcionais ao ser humano. Assim os cogumelos se destacam por serem altamente eficientes em sua capacidade prebiótica, antioxidante e terapêutica, fazendo com que estudos e pesquisas fossem desenvolvidos ao decorrer dos anos, com intuito de caracterizar, quantificar e nomear seus benefícios.

O cultivo e consumo dos cogumelos originou-se no continente asiático, especificamente na China com plantio de algumas espécies populares, como a *Auricularia auricula* (600 AD), *Flammulina velutipes* (800-900 AD), *Lentinula edodes* (1000-1100 AD), *Volvariella volvacea* (1700 AD) e *Tremella fuciformis* (1800 AD). Em meados de 1900, descobriu-se o *Agaricus bisporus* (1650 AD), o qual foi o único cogumelo popular que não foi cultivado desde o início na China (CHANG, 2004).

Após muitas décadas de cultivo no continente asiático, a proliferação de seus benefícios foi mundial, desta forma as técnicas de plantio e cultivo foram aprimoradas e desenvolvidas de acordo com cada região. Assim, pesquisas científicas passaram a ganhar destaque, voltando-se ao estudo da composição química e das propriedades funcionais dos cogumelos, ampliando o conhecimento sobre seu potencial nutricional e terapêutico.

A composição dos cogumelos comestíveis chama atenção por conter baixos níveis de gordura, e altas quantidades de proteínas e aminoácidos essenciais. Além de obter um sabor favorável, são considerados uma boa fonte de fibras, já que seu conteúdo pode variar de 4% a 55% de base seca (VILLARES et al., 2012), apresentando ser um bom alimento para dietas de baixo nível calórico e alto nível nutricional.

A presença de compostos biologicamente ativos dos cogumelos fazem com que o interesse ao produto seja além do sensorial e nutricional, mas também pelos benefícios terapêuticos e medicinais, pois sua composição química é bastante variável, segundo Priscila (2010), em referência a peso seco, os cogumelos possuem grandes quantidades de carboidratos (~60%), fibras (~34%) e proteínas (~23%), em menor quantidade esses fungos também apresentam minerais, vitaminas e lipídeos (~5%), demonstrando seu potencial biotecnológico.

A diversidade química dos cogumelos se aplica também aos antioxidantes, como os flavonóides, carotenóides e compostos fenólicos, tais moléculas agem sequestrando os radicais livres produzidos naturalmente pelo organismo humano, dessa forma o consumo de alimentos ricos dessas moléculas evitam doenças como Câncer e Alzheimer (PRISCILA, 2010).

Tendo em vista o potencial terapêutico e nutricional dos cogumelos, esse capítulo tem por objetivo realizar uma revisão bibliográfica integrativa sobre a

produção de cosméticos e fármacos a partir de extratos produzidos por tais fungos.

2. METODOLOGIA

Este capítulo consiste em uma revisão bibliográfica integrativa de caráter qualitativo, as buscas foram realizadas nos bancos de dados do Google acadêmico, Web of science SCIELO e PubMed, devido o grande acervo de trabalhos presentes nesses bancos de dados, foram pegos artigos em inglês e português entre os anos de 2001 e 2025, utilizando palavras relacionadas ao tema central do artigo, como: Cogumelos, Compostos bioativos, antioxidantes, antitumorais, prebióticos, mercado. Após a seleção dos artigos, todos foram lidos e analisados criticamente de forma a identificar tendências, mecanismos de ação dos compostos e as lacunas e avanços científicos na área proposta.

3. COGUMELOS: DIVERSIDADE E CLASSIFICAÇÃO

O reino Fungi é extremamente diversificado, contando com mais de 1,5 milhões de espécies ocupando todos os ecossistemas do planeta (OLIVEIRA, 2010), porém apenas 70.000 dessas já foram catalogadas possuindo algum tipo de relevância biotecnológica, sendo elas alimentícias e/ou medicinais (ELINILMA, 2023).

De forma geral os fungos são organismos eucariotos, podendo ser haplóides, diplóides ou poliplóides, possui parede celular rígida quitinosa e são heterótrofos, tendo uma grande capacidade de degradação, sendo ótimos agentes decompositores, o que resulta na responsabilidade de produção de biomassa nos ecossistemas no qual estão inseridos, sendo assim eles podem usar qualquer tipo de fonte carbono como alimento. Historicamente associado a plantas, os fungos se diferenciam por utilizar o glicogênio como fonte primária de reserva de carboidratos, enquanto que plantas usam o amido para a mesma função. (OLIVEIRA, 2010).

Os fungos são divididos em 6 filos principais: Chytridiomycota, Mucoromycota, Zoopagomycota, Ascomycota, Basidiomycota e os Glomeromycota o primeiro se refere aos fungos mais primitivos, já os Mucoromycota e Zoopagomycota são originados do antigo filo Zygomycota caracterizados pela presença de esporos sexuais resistentes (OLIVEIRA, 2010). Vale mencionar que os Mucoromycota apresentam rápida taxa de crescimento e hifas cenocíticas (sem septos), enquanto os Zoopagomycota são predominantemente parasitas e compartilham as hifas cenocíticas, já os Ascomycota e Basidiomycota são saprobiontes ou parasitas, possuindo as hifas

sem limites definidos, formando assim os micélios, eles também possuem o basidioma, popularmente conhecido como cogumelo, sendo eles a estrutura reprodutiva dos fungos (ELINILMA, 2023), por fim o Glomeromycota se define como um grupo de associações simbióticas com as plantas, chamadas de micorrizas arbusculares elas estão ligadas diretamente a raízes e talos de plantas, permitindo o funcionamento de ecossistemas terrestres.

Do ponto de vista biotecnológico os Basidiomycota são os mais relevantes, uma vez que têm sido utilizados como fonte de alimento durante séculos, além de possuir diversas propriedades medicinais, devido a presença de compostos bioativos no seu corpo de frutificação (cogumelo). No Quadro 1, são apresentados alguns exemplos de compostos bioativos presentes na composição de diferentes espécies de cogumelos:

Quadro 1 - Compostos bioativos presentes na composição de diferentes espécies de cogumelos

Tipo da molécula	Composto Bioativo	Cogumelo
Proteínas peptídeos	Eritadenina	<i>Lentinula edodes</i>
	PNAP	<i>Pholiota nameko</i>
Terpenos	Ácido ganodérico	<i>Ganoderma Lucidum</i>
	Fomitossídeo-K	<i>Fomitopsis nigra</i>
Esterol	Ergosterol	<i>Flammulina velutipes</i>
		<i>Sarcodon aspratus</i>
Glucano	β-Glucano	<i>Agaricus blazei</i>
		<i>Sparassis latifolia</i>
		<i>Agaricus bisporus</i>
		<i>Pleurotus ostreatus</i>
	α-Glucano	<i>Grifola frondosa</i>
		<i>Pleurotus sajor-caju</i>
	α e β-Glucano	<i>Hypsizygus marmoreus</i>
		<i>Caripia montagnei</i>

Fenólicos	Flavonoides	<i>Pleurotus tuberregium</i>
		<i>Pleurotus florida</i>
		<i>Tremella fuciformis</i>
		<i>Ramaria botrytis</i>
	Ácidos Fenólicos	<i>Cantharellus cibarius</i>
		<i>Lycoperdon perlatum</i>
		<i>Agaricus silvicola</i>
	Polifenóis	<i>Inonotus obliquus</i>
		<i>Agrocybe cylindracea</i>
		<i>Volvariella volvacea</i>
<i>Lentinula edodes</i>		
<i>Astraeus hygrometricus</i>		
Vitaminas	Tocoferol	<i>Boletus edulis</i>
		<i>Laetiporus sulphureus</i>
	Ácido ascórbico	<i>Schizophyllum commune</i>
		<i>Pleurotus sajor-caju</i>
Carotenóides	β-caroteno	<i>Russula delica</i>
		<i>Agaricus arvensis</i>
	Licopeno	<i>Russula delica</i>
		<i>Agaricus arvensis</i>

Fonte: ROCHA *et. al.*, 2015.

A presença desses compostos evidencia o potencial dos fungos para aplicações que, além da perspectiva nutricional, abrangem também efeitos terapêuticos, como atividades antidiabética, antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e imunomoduladora.

4 PRODUÇÃO DE COGUMELOS NO BRASIL E NO MUNDO

No Brasil o plantio de cogumelos não possui grandes representatividades, a produção anual gira em torno de 12000 toneladas (ANPC, 2018), muito abaixo da média global, essa baixa produção se atribui muito devido a baixa inclusão desse alimento na dieta brasileira.

O quadro 2 mostra um comparativo entre as produções anuais do Brasil com os maiores produtores mundiais:

Quadro 2 - Produção anual de cogumelos por país

País	Quantidade (ton)
Brasil	12.000
China	5.008.850
Estados Unidos	390.902
Holanda	304.000
Polônia	198.235
Espanha	148.00
França	115.669
Canadá	78.930
Reino Unido	69.300
Irlanda	67.063

Fonte: ANPC, 2011.

Apesar de não ter grande espaço no mercado mundial, a expectativa do mercado brasileiro é de crescimento nos próximos anos, principalmente para os cogumelos comestíveis. O quadro 3 expõe as principais espécies cultivadas no Brasil bem como a produção estimada por ano.

Quadro 3 - Projeção de crescimento dos principais cultivos no Brasil

Espécies	Produção estimada (ton/ano)
<i>Agaricus bisporus</i> (Champignon de Paris)	8.000
<i>Pleurotus</i> spp	2.000
<i>Lentinula edodes</i> (Shiitake)	1.500
<i>Agaricus blazei</i>	500
Outros	50

Fonte: ANPC, 2018.

Com isso, é possível notar a importância econômica desses fungos e o seu potencial biotecnológico, alinhando questões socioeconômicas modernas com soluções práticas e de fácil acesso.

5. COMPOSTOS BIOATIVOS DE COGUMELOS E SUAS AÇÕES

Os cogumelos comestíveis e medicinais apresentam ao ser humano propriedades funcionais, que de acordo com Jorge e Silva (2011), um alimento pode ser considerado funcional se obtiver efeitos positivos, além do valor básico de nutrientes, que pode aumentar e melhorar o bem estar, a saúde e qualidade de vida do consumidor, além de reduzir o risco de doenças. Assim os compostos bioativos se encaixam nas propriedades funcionais, de acordo com seus benefícios que proporcionam ao ser humano, através das suas atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antibióticas, antitumorais, antienvhecimento.

No quadro 4 é demonstrado cada composto bioativo e sua funcionalidade, de acordo com a espécie de cogumelo:

Quadro 4 - Relação entre as diferentes espécies de cogumelos, seus compostos bioativos e seus benefícios à saúde

Cogumelo	Compostos Bioativos	Benefícios a saúde
<i>Agaricus bisporus</i> (Cogumelo branco)	Pirogalol, derivados do ácido hidroxibenzoico, flavonoides, lectinas	Anti-inflamatório, melhora a secreção de insulina, propriedades antienvhecimento
<i>Auricularia auricular</i> (Cogumelo orelha de pau)	Glucano, polissacarídeos ácidos	Imunomodulador, antitumoral, anti-inflamatório, reduz o colesterol e os triglicerídeos, tem atividade hipoglicêmica, é tônico imunológico e benéfico na doença coronariana.
<i>Flammulina velutipes</i> (Cogumelo agulha dourada)	Peptidoglicano, polissacarídeos, flammulina, FVP (proteína polissacarídica da flammulina), proflamina (glicoproteína), uma prolamina (proteína de açúcar ativa)	Anti-inflamatório, antiviral, antitumoral, antioxidante, atividade, imunomodulador, antienvhecimento, propriedade, ação antiviral
<i>Ganoderma lucidum</i> (Reishi)	Ácidos ganodéricos, ganodermanontriol, ganoderiol, polissacarídeos, germânio, triterpenoides, nucleotídeos e nucleosídeos, β-glucano	Antimetastático, antitumoral, antiviral, anti-HIV, imunomodulador, propriedades antibióticas, proteção hepática, previne a síntese de colesterol

<i>Lentinula edodes</i> (Shitake)	Lentinana, glucana, mano glucana, fucomanogalactana, lentina (proteína), catequinas flavonoides, eritadenina	Atividade imunomoduladora, antitumoral, anti-inflamatória, antifúngica, antioxidante, antibacteriana, antifúngica, antioxidante e hipolipidêmica
<i>Cordyceps sinensis</i> (Fungo de lagarta)	Cordicepina	tratar infecção pulmonar, atividade hipoglicêmica, propriedades de saúde celular, atividade antidepressiva
<i>Pleurotus florida</i> (Ostra branca)	β -glucanos	Antioxidante e antimicrobiano
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Cogumelo ostra)	Proteínas funcionais (ubiquinona-9, peptídeo semelhante à ubiquitina, nebrodi lisina e glicoproteína), proteoglicanos pleuranos (β -1, 3-glucano com galactose e manose), glucanos, proteoglicano, lacase, pleurostima (peptídeo)	Imunomodulador, hiperglicemia, antitumoral, antioxidante, antiviral, antifúngico
<i>Grifola frondosa</i> (Cabeça de carneiro)	Lectinas, polissacarídeos	A redução da glicemia melhora a secreção de insulina e a ovulação
<i>Pleurotus pulmonarius</i> (Cogumelo pulmão de ostra)	Polissacarídeos como β (1,3)-glicopiranosil e polissacarídeos β -glucano ligado a (1,3), (1,6)	Anti inflamatório
<i>Volvariella volvacea</i> (Cogumelo palha de arroz)	Fip (proteína)	Imunomodulador
<i>Hericiium erinaceus</i> (Cogumelo cabeça de macaco)	Hericenonas e erinacinas	Efeitos neurogênicos

Fonte: KUMAR *et al.*, 2021.

Como apresentado no quadro acima, os cogumelos produzem compostos bioativos diferentes como os compostos fenólicos, terpenos, lectinas e glucanos, fazendo com que cada um tenha suas características e propriedades definidas.

Entre os principais compostos bioativos identificados nos cogumelos comestíveis e medicinais estão os polissacarídeos (como os β -glucanos), polifenóis (ácidos fenólicos e flavonoides), terpenoides, esteróis, lectinas, proteínas bioativas, alcalóides. Esses componentes demonstram atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antitumorais, antidiabéticas, antimicrobianas, hepatoprotetoras e imunomoduladoras (KUMAR et al. 2021).

5.1 POLISSACARÍDEOS

Os polissacarídeos, em sua maioria são encontrados nos componentes estruturais da parede celular dos cogumelos, são difíceis de serem extraídos e digeridos, pois exigem componentes e enzimas específicas para extração e digestão, devido sua composição. As moléculas β -glucanas, α -glucanas, heteropolissacarídeos e glicopeptídeos se destacam entre os polissacarídeos pelas suas atividades biológicas. Suas propriedades podem variar em peso molecular, grau de ramificação e entrelaçamento helicoidal atuam como fortes imunomoduladoras, com efeitos antitumorais, antioxidantes, anti-inflamatórios, antimicrobianos e antidiabéticos (SMIDERLE, 2012).

As glucanas (β e α) presentes nos cogumelos, em sua maioria são β -glucanas, apresentam em sua estrutura uma cadeia principal de unidades de glicose ligadas por ligações β -(1 \rightarrow 3), com ramificações laterais do tipo β -(1 \rightarrow 6), o que confere uma conformação de hélice tripla altamente estável. Essa estrutura permite a interação com receptores específicos do sistema imunológico humano (SMIDERLE, 2012). Além disso, essas moléculas variam quanto ao peso molecular, grau de ramificação e solubilidade, fatores que influenciam sua capacidade de exercer efeitos como atividade antitumoral, antiviral, hipocolesterolêmica e antioxidante. As β -glucanas extraídas de diferentes espécies fúngicas, como *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, *Agaricus blazei*, têm sido amplamente estudadas por seu potencial terapêutico em aplicações farmacológicas e nutracêuticas, como mostrado no quadro 5 abaixo em testes in vivo em camundongos enfermos e saudáveis e no quadro 5 em testes in vivo com humanos enfermos e saudáveis.

Quadro 5 - Testes com camundongos: tratamento via oral

Fonte	β -glucana	Tratamento	Bioatividade/ Efeito
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	β -glucana (1->3) (1->6) particulada. (Betamune, Biorigin, SP - Brasil) β -glucana (1->3)	Injeção de carcinoma mamário nos animais, duas semanas antes do tratamento Animais saudáveis	Diminuiu a massa tumoral Aumentou a atividade fagocítica dos monócitos e neutrófilos do sangue. Aumentou a secreção IL-2 por célula do baço
<i>Agaricus blazei</i>	α -glucana (1->6) (1->4)	Animais saudáveis	Aumento dos linfócitos T do baço
<i>Lentinus edodes</i>	Lentinana (β -glucana (1->3) (1->6))	Injeção de células de linfoma no dia 7 Injeção bacteriana	Injeção da lentinana durante os 7 dias anteriores, fez diminuir a massa tumoral e aumentar a resistência ao tumor em 94% Atividade contra infecção por <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Grifola frondosa</i>	Grifolan (β -glucana (1->3) (1->6))	Injeção de 3 MCA (fibrosarcoma no dia 1)	Ingestão de grifolan 15 dias após. Diminuição em 62,5% o nº de animais com tumores; Aumento da produção de H ₂ O ₂ por Mo do plasma; Aumento da atividade citotóxica de células T
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	β -glucana (1->3) (1->6) insolúvel	Reações de contração e inflamação produzida por injeção de ácido acético	Diminuição da migração de leucócitos em 82% (anti-inflamatório); 85% antinocicepção

Fonte: SMIDERLE *et. al.*, 2012.

Quadro 6 - Testes em humanos: tratamento via oral

Fonte	β -glucana	Tratamento	Bioatividade/ Efeito
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	β -glucana (1->3) (1->6)	Rinite alérgica sazonal	Aumento de IL 4 e IL 5 %, eosinófilos, aumento IL 2
<i>Lentinus edodes</i>	Lentinana β -glucana (1->3)(1->6) Lentinana + tegafur (droga anticancerígena)	Câncer gástrico e colorectal Tumores inoperáveis ou tumores gástricos recorrentes Diversos tipos de cânceres	Aumento na sobrevivência dos pacientes Aumento na sobrevivência dos pacientes Aumento na sobrevivência dos pacientes; 19,5% mais de 1 ano; 10,4% mais de 2 anos; 6,5% mais de três anos
<i>Schizophyllum commune</i>	<i>Schizophyllum</i> β -glucana (1->3) (1->6)	Tumores inoperáveis ou tumores gástricos recorrentes Câncer na região da cabeça e pescoço	Aumento na sobrevivência dos pacientes Aumento na sobrevivência dos pacientes
<i>Grifola frondosa</i>	Grifolan (β -glucana (1->3)(1->6))	Câncer avançado	Alteração na contagem de CD4+ e CD8+ Aumento da atividade das células NK
<i>Agaricus brasiliensis (blazei)</i>	Extrato rico em β -glucanas	Câncer cervical, ovariano e endometrial	Aumento na atividade das células NK e diminuição dos efeitos colaterais da quimioterapia

Fonte: SMIDERLE *et. al.*, 2012.

Os heteropolissacarídeos extraídos de cogumelos medicinais e comestíveis, são cada vez mais estudados e pesquisados pela capacidade imunomoduladora que apresentam, diferente dos homopolissacarídeos que são compostos apenas por glicose, os heteropolissacarídeos são formados por diferentes monossacarídeos, como glicose, galactose, manose, xilose, arabinose, ramnose, variando em suas proporções, ligações glicosídicas e configurações espaciais. Essas variações estruturais são diretamente relacionadas às suas propriedades bioativas, incluindo atividade imunomoduladora, antitumoral e antioxidante (RUTHES, 2015).

A composição dos heteropolissacarídeos depende da espécie de cogumelo e das condições de extração, o que pode resultar em frações de diferentes tamanhos, pesos moleculares e graus de ramificação. Por exemplo, algumas frações extraídas de *Ganoderma lucidum*, *Agaricus subrufescens*, *Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes*, *Lentinus lepideus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus citrinopileatus* apresentaram combinações complexas de polissacarídeos, com ação sobre macrófagos e linfócitos, promovendo a produção de citocinas inflamatórias e resposta imune adaptativa, realizados testes in vivo com camundongos enfermos e saudáveis, como demonstrado no quadro 7 abaixo (SMIDERLE, 2012):

Quadro 7 - Testes em camundongos: testes via oral

Fonte	Polissacarídeo	Tratamento	Bioatividade/ Efeito
<i>Agaricus subrufescens</i>	Heteroglicana	Implante subcutâneos de tumores sarcoma-180, carcinoma, Shionogi ou fibrosarcoma	Diminuição do tamanho dos 3 casos e diminuição Mo de peritoneais e células C3+
<i>Agaricus bisporus</i>	Fucogalactana	Reações de contração e inflamação produzida por injeção de ácido acético	Diminuição da resposta nociceptiva em 39% e diminuição em 61% da migração de células para cavidade intraperitoneal
<i>Lentinus edodes</i>	Glucomanana Fucomanogalactana	Injeção de células de sarcoma-180 no dia 1 Reações de contração e inflamação produzida por injeção de ácido acético	Ingestão de glucomanana nos dias subsequentes e aumento de sobrevivência dos animais Diminuição da resposta nociceptiva em 97% e diminuição em 100% da migração de células para cavidade intraperitoneal

<i>Lentinus lepideus</i>	Heteroglicana	Irradiação gama	Indução da proliferação de células progenitoras de granulócitos na medula óssea
<i>Ganoderma lucidum</i>	Heteroglicana	Injeção de células de sarcoma-180 no dia 1	Diferentes doses produziram diferentes efeitos, houve diminuição do tamanho dos tumores em 95-98%
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Manogalactana com unidades de 3-O-metil-Galp	Reações de contração e inflamação produzida por injeção de ácido acético	Diminuição da resposta nociceptiva em 93% a uma dose de 30 mg/kg
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Manoglucana	Injeção de células de sarcoma-180 no dia 1	Diminuição do tamanho dos tumores em 60% e aumento das células T, CD4+, CD8+ e Mo

Fonte: SMIDERLE *et. al.*, 2012.

Já os glicopeptídeos são encontrados nas ligações de alguns polissacarídeos de certos cogumelos medicinais, que apresentam propriedades imunomoduladoras, antitumorais e antioxidantes. Alguns polipeptídeos como por exemplo o peptídeo polissacarídeo (PSP) e o polissacarídeo K (PSK) extraídos do *Trametes versicolor*, apresentam ação de estimulante na produção de células imuno protetoras no sangue, como citocinas, quimiocinas, histaminas, e principalmente apresentam atividades antitumorais, que trazem ênfase ao desenvolvimento de pesquisas e estudos sobre a dupla de polipeptídeos (LYSAKOWSKA *et al.* 2023).

5.2 POLIFENÓIS

Os polifenóis também chamados de compostos fenólicos, fortemente presentes nos cogumelos se destacam, pois atuam com importantes metabólitos secundários presentes nos cogumelos e incluem ácidos fenólicos, flavonóides, ácidos hidroxibenzoícos, ácidos hidroxicinâmicos, taninos, estilbenos, lignanas e polifenóis oxidados. Essas substâncias são caracterizadas por estruturas aromáticas com grupos hidroxila, resultando em alta capacidade antioxidante (MAA *et al.* 2018).

A principal função biológica dos compostos fenólicos dos cogumelos é a atividade antioxidante, atuando como eliminadores de radicais livres, decompositores de peróxidos, inativadores de metais e sequestradores de oxigênio reativo. Esses efeitos antioxidantes estão diretamente relacionados à prevenção de doenças degenerativas como envelhecimento cerebral, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Estudos demonstraram que diferentes espécies de cogumelos

apresentam significativa concentração de compostos fenólicos, variando de 1 a 6 mg por grama de matéria seca, com destaque para espécies como *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Boletus edulis* e *Ganoderma lucidum*. Esses compostos mostraram efeito inibitório expressivo sobre a oxidação lipídica (MAA *et al.* 2018).

5.3 TERPENÓIDES

Terpenóides ou também terpenos são compostos orgânicos formados por unidades de isopreno (hidrocarboneto insaturado), que a partir de suas interações são classificados como monoterpenos, diterpenos, triterpenos e sesquiterpenos, que apresentam importantes propriedades terapêuticas, como atividades antimicrobianas, antivirais, antioxidantes, antiinflamatórias, antitumorais e anti neurodegenerativas (DASGUPTA; ACHARYA, 2019).

As bioatividades dos terpenos presentes nos cogumelos são cada vez mais exploradas em pesquisas e extrações para entender cada vez mais as propriedades terapêuticas presentes no composto bioativo, como por exemplo a pesquisa de cogumelo de culturas fermentadas do fungo *Coprinus sp.*, os autores JOHANSSON; STERNER; LABISCHINSKI; ANKE, 2001, que isolaram um novo composto sesquiterpênico denominado cuprinol, pertencente à classe dos cuparanos. A substância foi purificada por técnicas cromatográficas e após todo processo foram observados os resultados que o coprinol demonstrou atividade antibacteriana moderada *in vitro* contra várias cepas de bactérias Gram-positivas multirresistentes, como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* e *Streptococcus pneumoniae*. No entanto, não apresentou atividade contra bactérias Gram-negativas ou fungos.

O terpeno como composto bioativo apresenta uma bioatividade diversa, classificando o composto como de interesse para tratamentos terapêuticos, experimentais (*in vitro* e *in vivo*) e para pesquisas mais aprofundadas sobre o comportamento do composto orgânico.

5.4 ESTERÓIS

Os esteróis fúngicos, especialmente os presentes em cogumelos comestíveis e medicinais, constituem uma classe de lipídios bioativos de grande importância nutricional e farmacológica. Dentre eles, o principal composto identificado é o ergosterol, considerado o análogo fúngico do colesterol animal. O ergosterol atua como componente estrutural fundamental das membranas celulares dos fungos, contribuindo para sua integridade, fluidez e funcionalidade. Além disso, destaca-se como precursor da vitamina D2 (ergocalciferol) (YAOITA *et al.*, 2014).

Os esteróis dos cogumelos não são apenas elementos estruturais, mas também possuem atividades biológicas marcantes. Alguns estudos mencionados indicam que os esteróis extraídos de cogumelos podem

exercer efeitos citotóxicos seletivos contra células tumorais, além de regular a expressão de enzimas envolvidas no metabolismo lipídico em humanos. Essas propriedades têm impulsionado pesquisas para aplicação de extratos esteróidicos fúngicos em terapias complementares para dislipidemias e prevenção de doenças cardiovasculares (YAOITA *et al.*, 2014).

5.5 PROTEÍNAS BIOATIVAS

A presença de proteínas bioativas nos cogumelos apresenta diversas propriedades e benefícios à saúde na atividade fisiológica com a melhor absorção de nutrientes pelo sistema do trato gastrointestinal, inibindo enzimas e estimulando o sistema imunológico contra possíveis patógenos. Dentro das classes das proteínas bioativas presentes nos cogumelos, estão as lectinas, proteínas inativadoras de ribossomos, proteínas imunomoduladoras fúngicas, lacases, proteínas antimicrobianas, e ribonucleases. Já as principais proteínas ativas causadoras dos efeitos fisiológicos citados são as lectinas, as proteínas inativadoras de ribossomos (RIPs) e as lacases. (RATHORE *et al.* 2017).

As lectinas são classificadas como proteínas ou também glicoproteínas não imunes, ou seja, proteínas que se ligam aos carboidratos em sua superfície, provocando aglutinação. Essas moléculas apresentam atividades antitumorais, antivirais e imunomoduladoras. Estudos demonstram que diversas lectinas isoladas de espécies como *Xylaria hypoxylon*, *Clitocybe nebularis*, *Pholiota adiposa*, *Hericium erinaceum* e *Russula lepida*, que inibem o crescimento de linhagens tumorais (como HepG2 e MCF-7) e a atividade da transcriptase reversa do HIV-1, além de potencialmente modular respostas imunes, como na ativação de esplenócitos e reconhecimento de determinantes de grupos sanguíneos (RATHORE *et al.*, 2017).

Seguindo a mesma pesquisa as proteínas inativadoras de ribossomos, os RIPs são enzimas que inativam ribossomos pela remoção de resíduos de adenosina do rRNA, bloqueando a síntese proteica. Em cogumelos, foram identificados em espécies como *Hypsizygus marmoreus*, *Flammulina velutipes* e *Pleurotus tuberregium*, apresentam efeitos antiproliferativos contra células tumorais, atividade antiviral (inibindo a transcriptase reversa do HIV-1) e ação antifúngica.

De acordo com Rathore *et al.*(2017), as lacases são multicobre oxidases envolvidas na degradação de compostos orgânicos complexos, com funções biológicas ligadas à patogênese e imunogênese. Espécies como *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Tricholoma mongolicum* e *Clitocybemaxima* produzem lacases com atividades antiproliferativas contra células tumorais e inibição da transcriptase reversa do HIV-1. Algumas também mostraram efeito antiviral contra o vírus da hepatite C e capacidade de reduzir a replicação viral em culturas celulares.

5.6 ATIVIDADES FUNCIONAIS

Define-se compostos bioativos as moléculas de origem animal ou vegetal sem funções essenciais como nutrientes, porém que acarretam mudanças positivas para a saúde, como antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígenos e antidiabéticos, tais propriedades são possíveis por meio de mecanismos de ações que induzem uma resposta metabólica, que pode variar muito conforme a molécula utilizada e a propriedade a ser atingida.

A propriedade antioxidante das moléculas se deve a capacidade delas de capturar os radicais livres produzidos naturalmente pelo organismo ou fortalecer uma resposta natural já existente no metabolismo, a ergotioneína é um aminoácido encontrado predominantemente em cogumelos que tem a capacidade de proteger as mitocôndrias do estresse oxidativo (SALAHUDDIN *et al.*, 2025), além de regular a presença de peroxidases e da superóxido dismutases (FU e SHEN, 2022).

Existem compostos que possuem mais de uma mesma propriedade, a β -glucana, por exemplo, é um polissacarídeo presente no corpo de frutificação dos fungos, ela possui além de uma atividade antioxidante, aumentando a atividade da superóxido dismutase e catalases, atividade imunomoduladora, promovendo a produção de citocinas e quimiocinas, além de estimularem a ativação de macrófagos e aumentar a atividade das células NK e T (SALAHUDDIN *et al.*, 2025).

Fora esses componentes, a atividade antimicrobiana dos compostos presentes nos cogumelos possui grande eficiência, uma vez que eles são capazes de se ligar aos carboidratos na membrana celular dos patógenos, ajudando na identificação pelo sistema imune, juntamente com isso eles podem romper a superfície do invasor, o que concede uma dupla camada de ação antimicrobiana.

Existem outras formas de ação antimicrobiana: a Lectinas, por exemplo, age impedindo a formação de biofilmes, uma vez que ela se liga à parede celular do patógeno, impedindo com ele se ligue a célula hospedeira.

Devido a grande quantidade de fibras presentes nos talos dos cogumelos, esse alimento tem alta capacidade prebiótica, a utilização do mesmo como suplemento alimentar proporciona a regulação da microbiota intestinal, promovendo o crescimento de bactérias benéficas para o trato intestinal, como Lactobacilos e Bifidobactéria, juntamente com isso os compostos bioativos dos mesmos impedem a proliferação de micróbios patogênicos no intestino de animais.

Por fim, a atividade antitumoral dos cogumelos está relacionada a compostos imunomoduladores, uma vez que eles atuam na sinalização de células tumorais para o sistema de defesa, permitindo com que o mesmo destrua células potencialmente cancerígenas, vale ressaltar também que alguns compostos atuam internamente na célula, estimulando o sistema de regulação de morte da célula, o que permite uma combate ao câncer através da apoptose celular (GUEDES, 2016).

5.7 APLICAÇÕES INDUSTRIAIS E TENDÊNCIAS DE PRODUÇÃO

Os cogumelos apresentam expressivo potencial de aplicação em diferentes setores, o que tem motivado um crescente interesse científico e tecnológico. A presença de uma variedade de compostos bioativos lhes confere um valor agregado e versatilidade, possibilitando seu aproveitamento em múltiplos segmentos, incluindo a alimentação humana, a formulação de rações animais, a produção de biofertilizantes, processos de biorremediação, tratamentos biológicos, geração de energia, desenvolvimento de cosméticos e obtenção de biomateriais.

A aplicação na área alimentícia é uma área ainda pouco explorada, mas com potencial para desenvolvimento, pois a incorporação de cogumelos e seus subprodutos pode fornecer benefícios sensorial e funcional, contribuindo para melhora da qualidade nutricional dos alimentos. Segundo Antunes et al. (2020), o micélio obtido por fermentação em substrato sólido, resultante da produção de cogumelos, apresenta características funcionais relevantes, permitindo sua utilização como ingrediente ou suplemento alimentar devido ao elevado teor nutricional e à composição rica em compostos bioativos.

Um dos maiores mercados encontrados para aplicação direta dos compostos bioativos dos cogumelos é a indústria cosmética, pois a partir dos extratos de cogumelos apresentam propriedades antioxidantes, clareadoras, hidratantes e anti-envelhecimento. Compostos como polifenóis, ergosterol e polissacarídeos são incorporados em cremes faciais, loções e produtos antiacne. Por exemplo, de acordo com Antunes et al. (2020) o extrato de micélio de *A. blazei* demonstrou capacidade de inibir a atividade da tirosinase em até 49% e reduzir o conteúdo de melanina em células de melanoma B16F10 em até 45%, nas concentrações de 10 mg/mL e 0,75 mg/mL, respectivamente, tornando *A. blazei* um composto com potencial de suprimir a hiperpigmentação.

A aplicação da utilização dos cogumelos e seus subprodutos em ração animal ganha cada vez mais espaço no mercado, pelas suas propriedades nutricionais e funcionais, como apresenta ANTUNES et al. (2020), que o substrato de cogumelo usado (SMS), resíduos de estipes e chapéus podem ser aproveitados como ingredientes ricos em proteína, fibras e minerais para nutrição animal, reduzindo custos de produção e evitando desperdício. Pesquisas mostram que a inclusão de resíduos de cogumelos em dietas de aves, peixes e ruminantes pode melhorar o ganho de peso, imunidade e digestibilidade dos alimentos. Dessa forma, o potencial nutracêutico, funcional e bioativo dos cogumelos representa um recurso estratégico para diversos setores industriais. Entretanto, o mercado atual tem buscado aplicar em setores onde o aproveitamento seja total de forma direta.

6. CONCLUSÃO

Em síntese, os fungos do filo Basidiomycota possuem grande relevância biotecnológica, uma vez que possuem diversas propriedades medicinais, tais como antioxidante, prebiótica, antitumoral e antimicrobiana, é um excelente alimento nutricional, contendo grande quantidade de fibras e proteínas além de vitaminas e minerais.

Apesar de não ter grande destaque na economia brasileira e com poucos incentivos estatais, o mercado de cogumelos no Brasil tem expectativa de crescimento para os próximos anos, devido, principalmente, à maior adesão do mesmo na dieta da população, porém, mesmo com o crescimento previsto, a produção brasileira não apresenta grande representatividade no mercado internacional, sendo necessário, portanto, maiores investimentos e estudos aplicados à produção e consumo de cogumelos no Brasil.

Vale ressaltar que a utilização dos fungos dentro da indústria não é algo amplamente discutido e tem grande potencial a ser explorado, uma vez que produtos cosméticos e de aplicações agroindustriais estão começando a ganhar mais espaço no mercado, por possuírem grande eficiência nas atividades que os impõem.

REFERÊNCIAS

ANPC – Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos. **Cogumelos no Brasil**. São José dos Pinhais-PR: ANPC, 2018. Disponível em: <https://www.anpccogumelos.com.br/cogumelos>. Acesso em: 24 jul. 2025.

ANTUNES, Filipa; MARÇAL Sara; OLUDEMI Taofiq; MORAIS, Alcina M. M. B; FREITAS, Ana Cristina; FERREIRA Isabel C. F. R; PINTADO Manuela. **Valorization of Mushroom By-Products as a Source of Value-Added Compounds and Potential Applications**, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7321189/pdf/molecules-25-02672.pdf>. Acesso em: 29 jul. 2025.

CHANG, Shu-Ting. Witnessing the Development of the Mushroom Industry in China. **The Chinese University of Hong Kong**, 2004. Disponível em: <https://www.saas.sh.cn/Upload/WSMBMP/ContentManage/Article/File/2023/04/06/202304060943459123.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2025.

DASGUPTA, A.; ACHARYA, K. **Mushrooms: an emerging resource for therapeutic terpenoids**, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36111111/>

nih.gov/31588393/. Acesso em: 01 ago. 2025.

DE PAULI, Priscila Abackerli de. **Avaliação da composição química, compostos bioativos e atividade antioxidante em cogumelos comestíveis**. Araraquara, SP: Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2010. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/7ddd16f9-1cee-493e-9169-07db5eb9eef4/content> . Acesso em: 24 jul. 2025.

FU, TT, Shen, L., 2022. Ergotioneína como antioxidante natural contra o estresse oxidativo doenças relacionadas. Frente. **Farmacol.** 13, 850813. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2022.850813/full> 3. Acesso em: 3 ago. 2025.

GUEDES, Ângela Mónica Pinto Carreira. **Cogumelos em fitoterapia: eficácia e segurança**. Monografia (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, jul. 2016. Disponível em: <https://hdl.handle.net/10316/43051>. Acesso em: 10 ago. 2025.

INSTITUTO BUTANTAN. **O que são compostos bioativos, elementos essenciais para a produção de vacinas, medicamentos e tratamentos de saúde**. Tira Dúvida – Notícias, Instituto Butantan, 22 maio 2024. Disponível em: <https://butantan.gov.br/covid/butantan-tira-duvida/tira-duvida-noticias/o-que-sao-compostos-bioativos-elementos-essenciais-para-a-producao-de-vacinas-medicamentos-e-tratamentos-de-saude>. Acesso em: 08 ago. 2025.

JOHANSSON, Martin; STERNER, Olov; LABISCHINSKI, Harald; ANKE, Timm. **Coprinol, a new antibiotic cuparane from a Coprinus species**. Zeitschrift für Naturforschung C, 2001. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/12032548_Coprinol_a_New_Antibiotic_Cuparane_from_a_Coprinus_Species. Acesso em: 01 ago. 2025.

KUMAR, K. et al. Edible Mushrooms: a Comprehensive Review on Bioactive Compounds with Health Benefits and Processing Aspects. **Foods**, v. 10, n. 12, p. 2996, 4 dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10122996>, Acesso em 24 jul. 2025

LYSAKOWSKA, P.; SOBOTA, A.; WIRKIJOWSKA, A. Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in

Functional Food Production, A Review. **Molecules**, 14 jul. 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10384337/>. Acesso em: 29 jul. 2025.

MAA, Gaoxing; YANG, Wenjian; ZHAOA, Liyan; PEI, Fei; FANGA, Donglu; HU, Qiuhui. A critical review on the health promoting effects of mushrooms nutraceuticals. **Food Science and Human Wellness**, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/325863078_A_Critical_Review_on_the_Health_Promoting_Effects_of_Mushrooms_Nutraceuticals. Acesso em: 30 jul. 2025.

MOURA, Geovanna Maria de Medeiros. **Bioprospecção de compostos do fungo *Langermannia bicolor*: potencial modulador de antibióticos, atividade antioxidante e avaliação de toxicidade**. Natal, RN: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2024. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/server/api/core/bitstreams/0ff51aff-0085-432f-aa39-83bae087b21e/content>. Acesso em: 24 jul. 2025.

OLIVEIRA, Rafael Lopes e. **Avaliação do potencial biotecnológico de fungos endofíticos de *Piper hispidum***. Manaus, AM: Universidade do Estado do Amazonas, 2010. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia). Disponível em: <https://pos.uea.edu.br/data/eng/area/titulado/download/18-7.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2025.

RATHORE, H.; PRASAD, S.; SHARMA, S. Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. **PharmaNutrition**, v. 5, n. 2, p. 35–46, jun. 2017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213434417300051?casa_

REIS, Marcela Funaki dos. Cogumelos medicinais: uma revisão sobre compostos bioativos e efeitos biológicos. **SaBios – Revista de Saúde e Biologia**, jul. 2015. Disponível em: <https://periodicos.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/1798>. Acesso em: 24 jul. 2025.

RUTHES, A. C.; SMIDERLE, F. R.; IACOMINI, M. Mushroom heteropolysaccharides: A review on their sources, structure and biological effects. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 358–375, jan. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26572366/>. Acesso em: 15 de ago. 2025.

SALAHUDDIN, M. et al. Harnessing Mushrooms for Poultry Nutrition: Boosting Health, Immunity, and Productivity. **Poultry Science**, v. 104, n. 8,

p. 105223–105223, 28 abr. 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579125004651>. Acesso em: 10 ago. 2025.

SANTOS, Elinilma Souza dos. **A importância do cogumelo Auricularia: uma revisão bibliográfica**. Coari-AM: Universidade Federal do Amazonas, 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia). Orientadora: Klenicy Kazumi de Lima Yamaguchi. Disponível em: <http://riu.ufam.edu.br/handle/prefix/7055>. Acesso em: 24 jul. 2025.

SMIDERLE, Fhernanda Ribeiro. **Polissacarídeos produzidos por basidiomicetos e ascomiceto: caracterização estrutural e atividade imunomoduladora**. Universidade Federal do Paraná, 2012. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/32255>. Acesso em: 24 jul. 2025.

SPATAFORA, Joseph W.; CHANG, Ying; BENNY, Gerald L.; LAZARUS, Katy; SMITH, Matthew E.; BERBEE, Mary L.; BONITO, Gregory; CORRADI, Nicolas; GRIGORIEV, Igor; GRYGANSKYI, Andrii; JAMES, Timothy Y.; O'DONNELL, Kerry; ROBERSON, Robert W.; TAYLOR, Thomas N.; UEHLING, Jessie; VILGALYS, Rytas; WHITE, Merlin M.; STAJICH, Jason E. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 2016. doi:10.3852/16-042. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27738200/>. Acesso em: 10 ago. 2025.

SILVA, Ana Carolina da; JORGE Neuza. **Vista do Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes**. Universidade Estadual Paulista, v. 30, n. 2, p. 1–3, dez. 2011. Artigo de Revisão. Disponível em: <https://journalhealthscience.pgsscogna.com.br/JHealthSci/article/view/1102/1059>. Acesso em: 28 jul. 2025.

VILLARES, A.; MATEO-VIVARACHO, L.; GUILLAMÓN, E. Structural Features and Healthy Properties of Polysaccharides Occurring in Mushrooms. *Agriculture*, v. 2, n. 4, p. 452–471, 18 dez. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture2040452>. Acesso em: 20 jul. 2025.

YAOITA, Y.; KIKUCHI, M.; MACHIDA, K. Terpenoids and Sterols from Some Japanese Mushrooms. *Natural Product Communications*, v. 9, n. 3, p. 1934578X1400900, mar. 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/261289129_Terpenoids_and_Sterols_from_Some_Japanese_Mushrooms/link/656f82b07344a829b5e19c57/download. Acesso em: 03 ago. 2025.



Tendências Científicas de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel (Myrtaceae)

*Renata Micketen
Suzana Struiving*

CAPÍTULO

03

1. INTRODUÇÃO

As plantas sempre tiveram um papel importante ao longo da história, acompanhando o ser humano no seu progresso tecnológico. Elas são amplamente utilizadas em diversas áreas, como farmacêutica, cosmética, veterinária e agrícola. Um exemplo de uso registrado remonta a 3.500 a.C., pelos Sumérios e Egípcios, que utilizavam as folhas de salgueiro branco (*Salix alba*) como analgésico e antipirético (MONTINARI *et al.*, 2018). Essa infusão é considerada a precursora do ácido acetilsalicílico, hoje conhecido popularmente como AAS ou aspirina, um medicamento amplamente utilizado pela população para o tratamento da dor e da inflamação, e hoje já aplicamos também em cosméticos.

As plantas aromáticas vêm sendo utilizadas há milênios por diferentes culturas devido às suas propriedades conservantes, terapêuticas e cosméticas, atribuídas principalmente aos óleos essenciais. No Egito Antigo, já se reconheciam suas ações antibacteriana, antifúngica e aromática, sendo empregados em rituais de embalsamamento, destacando-se o cedro (*Cedrus spp.*) e a mirra (*Commiphora spp.*). A madeira de cedro, valorizada pela resistência e durabilidade conferidas pelo óleo essencial, chegou a ser utilizada na construção do templo de Salomão (UEHARA *et al.*, 2017). Atualmente, os óleos essenciais mantêm relevância econômica e científica, com aplicações em setores que vão do agrícola ao veterinário (ABOU-ZADI *et al.*, 2024; BISHT *et al.*, 2022; PUVACA *et al.*, 2020; MUTA *et al.*, 2020; REUVENI & BARBIER, 2020; ABD EL-SALAM, TAHOUN & HAFANY, 2023; KLAUCK *et al.*, 2014; SURME *et al.*, 2022; CALIXTO *et al.*, 2016).

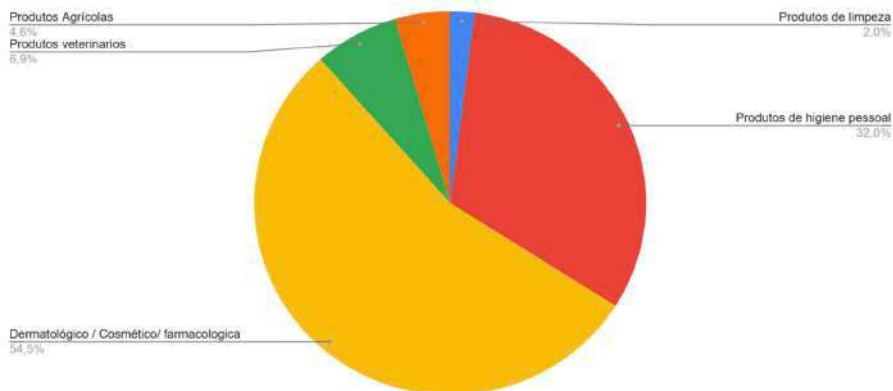
Este capítulo propõe a realização de uma análise cientométrica aprofundada acerca da *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel (Myrtaceae). O crescente interesse científico por seus derivados, em especial pelo óleo essencial, evidencia a necessidade de organizar e mapear o avanço das pesquisas, de modo a identificar as principais tendências, os desafios emergentes e as lacunas existentes na literatura. A compreensão da evolução desse campo é fundamental para orientar futuras investigações e ampliar a aplicação prática dos conhecimentos produzidos sobre a espécie. Assim, o objetivo deste estudo foi conduzir uma análise cientométrica da literatura científica relacionada aos produtos da *M. alternifolia*, incluindo óleo essencial, extratos e hidrolatos, com a finalidade de identificar os principais padrões e tendências de pesquisa desenvolvidos ao longo do tempo e, posteriormente, refinar o levantamento para estudos voltados à atividade antibacteriana.

2. ASPECTOS BOTÂNICOS E FARMACOLÓGICOS DA *MELALEUCA ALTERNIFOLIA* (MAIDEN & BETCHE) CHEEL (MYRTACEAE)

Várias espécies de árvores e arbustos originários da Austrália foram disseminados ao redor do mundo, entre elas mais de 250 espécies de *Melaleuca*, que foram introduzidas em diferentes biomas fora de sua região de origem (TER HUURNE *et al.*, 2023). A *M. alternifolia* é conhecida nativamente como árvore-do-chá australiana, são observadas no leste da Austrália próximos a áreas pantanosas ou adjacentes a cursos d'água (RUSSEL & SOUTHWELL, 2002). E podem atingir até 5 metros de altura, apresentam ritidoma (casca) fino, de baixa densidade e flexível. As folhas são alongadas, finas, pontiagudas e dispostas de forma alternadas. As flores são sésseis, de coloração branca, e florescem no verão (SILVA *et al.*, 2002).

Essa variedade de *Melaleuca* é altamente valorizada devido ao óleo essencial que produz, o qual possui diversas propriedades funcionais, tais como ação antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, bioinseticida e acnegênico (NINOMIYA *et al.*; 2013; VOLPATO *et al.*, 2016; VASILE *et al.*, 2017; LIAO *et al.*, 2017; OSSA-TABARES *et al.*, 2020; CASARIN *et al.*, 2019; BISHTET *et al.*, 2021; SOLIMAN & EL-SAYED, 2023). Tais propriedades estão diretamente associadas à composição química do óleo, que garante sua eficácia. O principal constituinte de um bom óleo de melaleuca é o terpinen-4-ol, presente em altas concentrações, geralmente entre 35% e 48%, γ -Terpineno (14 - 28%), α -Terpineno (6-12%) e baixas concentrações de 1,8-Cineol, desejável inferior a 10% (ISO 4730:2017). Essas características químicas e funcionais impulsionaram o desenvolvimento de uma variedade de produtos comerciais. Esses produtos exploram as propriedades antibacterianas, antifúngicas, cicatrizantes e repelentes naturais do óleo, sendo aplicados nas áreas cosmética, farmacêutica, veterinária, agrícola e de higiene doméstica. O Gráfico 1 ilustra exemplos de formulações comerciais que utilizam o óleo essencial de melaleuca e suas aplicações.

Gráfico 1 - Exemplos de formulações comerciais com óleo essencial de melaleuca, distribuídas em diferentes áreas de aplicação



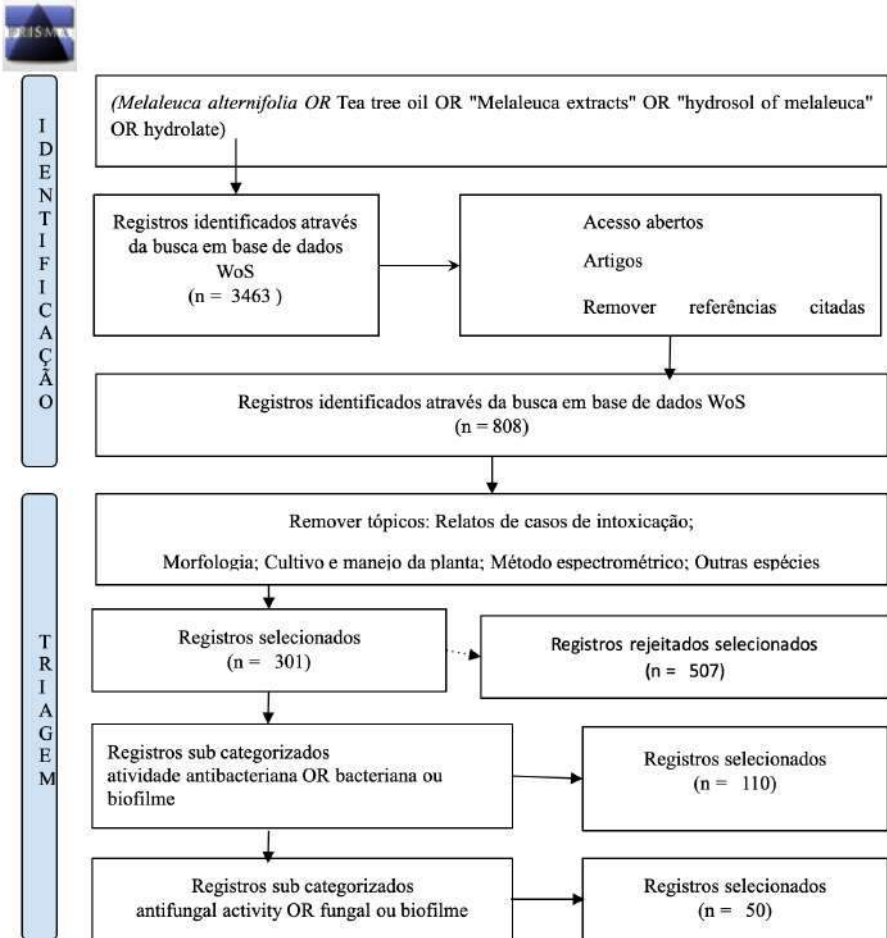
Fonte: Mercado Livre; Amazon; Wipo, 2025.

3. METODOLOGIA CIENCIOMÉTRICA

O fluxograma prisma representado na Figura 1 descreve o procedimento metodológico adotado para a identificação, elegibilidade e inclusão dos estudos utilizados nesta revisão sistemática. A base de dados empregada foi a *Web of Science (WoS)*, escolhida por sua abrangência e rigor na indexação de publicações científicas. Para a busca, foi utilizado o seguinte conjunto de descritores: (*Melaleuca alternifolia* OR *Tea tree oil* OR “*Melaleuca extracts*” OR “*hydrosol of melaleuca*” OR *hydrolate*), aplicados no campo Topic, o qual contempla a análise combinada do título, resumo, palavras-chave fornecidas pelos autores e termos adicionais (*Keywords Plus*), permitindo uma abrangência maior na recuperação de registros relevantes. Foram considerados apenas artigos completos, de acesso aberto, sem restrição ao ano de publicação e optou-se por remover referências citadas enriquecidas a fim de evitar duplicações, sem restrição de ano. Após a identificação inicial, foram excluídos registros relacionados a relatos de intoxicação, estudos morfológicos, cultivo ou manejo da planta, métodos espectrométricos e trabalhos envolvendo outras espécies de *Melaleuca*. Os registros restantes foram então submetidos a uma triagem baseada em critérios de relevância para o escopo da revisão, resultando em um conjunto final de artigos categorizados por sua abordagem em atividade antibacteriana, atividade antifúngica, atividade bacteriana ou biofilme. Foram utilizadas ferramentas como Excel, *CiteSpace* e *Bibliometrix* (R) para a organização, análise e

visualização dos dados bibliométricos. O Excel foi empregado na etapa de filtragem e categorização inicial das publicações. O *CiteSpace* foi utilizado para identificar tendências emergentes. A análise estatística e gráfica mais aprofundada foi realizada com o pacote Bibliometrix/R, por meio da interface Biblioshiny.

Figura 1 - Fluxograma do Processo de Seleção dos Artigos para a Revisão Sistemática sobre *Melaleuca alternifolia*.



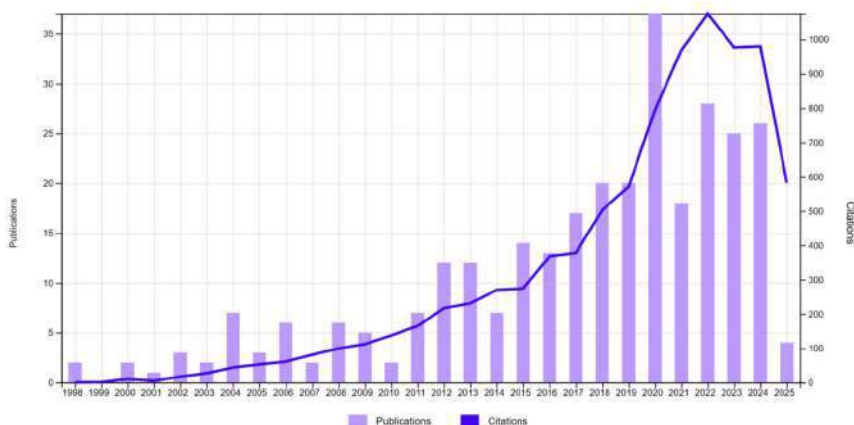
Fonte: Os autores (2025).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em nossas pesquisas, foram identificados 301 artigos relevantes para o tema, sendo que 97% dos artigos se tratava do óleo essencial e 4% eram relativos a outro tipo de amostras. Esses trabalhos foram citados por 7.072 artigos distintos, sendo apenas 193 autocitações. Isso representa uma média de 29,91 citações por publicação, um valor expressivo, especialmente em áreas como ciências biológicas, saúde e biotecnologia. O índice h é 50, indicando que 50 publicações foram citadas pelo menos 50 vezes cada uma, o que demonstra alta relevância e impacto científico. Esses indicadores revelam que o conjunto de publicações analisado é altamente citado e possui reconhecimento significativo na comunidade científica, com baixo índice de autocitação. O elevado h-index reforça a influência consistente dessas publicações ao longo do tempo.

O Gráfico 2 demonstra a tendência temporal no número de publicações científicas (barras roxas) e de citações recebidas (linha azul) entre 1998 e 2025. Observa-se um crescimento gradual até 2018, seguido de um aumento acentuado nas publicações e citações, atingindo o pico em 2020. Nos anos posteriores, observa-se uma redução tanto no número de publicações quanto de citações, o que pode indicar uma fase de estabilização na produção científica ou um atraso na indexação dos dados mais recentes. O pico de publicações identificado em 2020 está possivelmente associado ao período de afastamento causado pela pandemia de COVID-19, que favoreceu o aumento das atividades de pesquisa escrita e publicação.

Gráfico 2 - Evolução Anual das Publicações e Citações sobre Óleos Essenciais (1998–2025)



Fonte:Elaborado a partir de dados da *Web of Science (Clarivate Analytics)*.

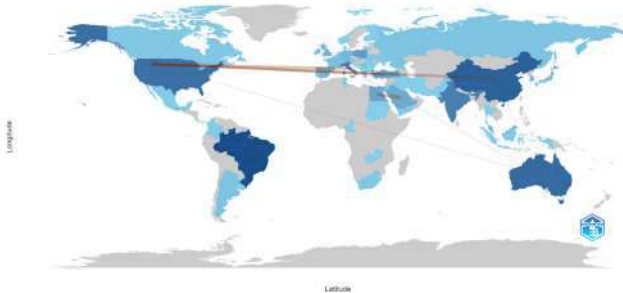
Figura 2 - Distribuição das Publicações por Áreas do Conhecimento Relacionadas à *Melaleuca alternifolia*



Fonte: Figura baseada em dados da *Web of Science (Clarivate Analytics)*.

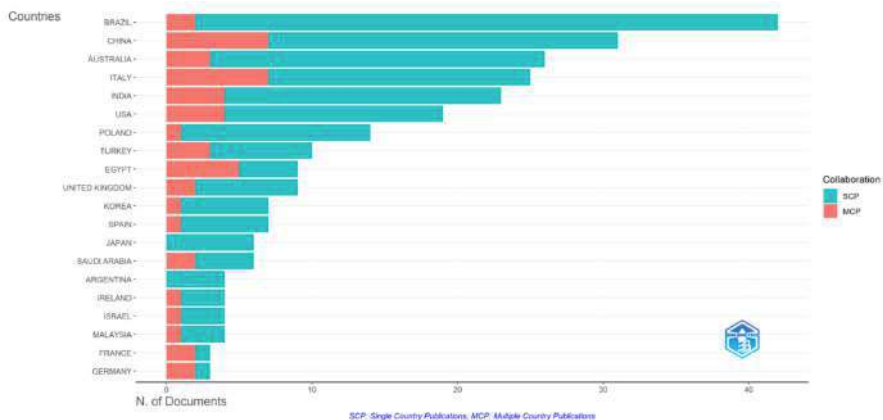
O gráfico em formato *treemap* representado na Figura 2 demonstra que as principais áreas de atuação são *Pharmacology Pharmacy* (n=48), *Microbiology* (n=31) e *Food Science Technology* (n=26), seguidas por *Chemistry Multidisciplinary*, *Infectious Diseases* e *Multidisciplinary Sciences* (n=24). A representação visual indica a diversidade de aplicações do óleo essencial, com destaque para áreas voltadas ao desenvolvimento de fármacos, controle microbiológico e segurança alimentar.

Figura 3 – Distribuição Global da Produção Científica sobre Espécies de *Melaleuca alternifolia* (a) e (b)



(a) MapaMundial da Produção Científica e de colaboração;

(b) Países dos Autores Correspondentes em Publicações Científicas



Legenda: SCP (*Single Country Publications* – azul): Publicações com autores de um único país. MCP (*Multiple Country Publications* – rosa): Publicações com colaboração internacional (autores de diferentes países).

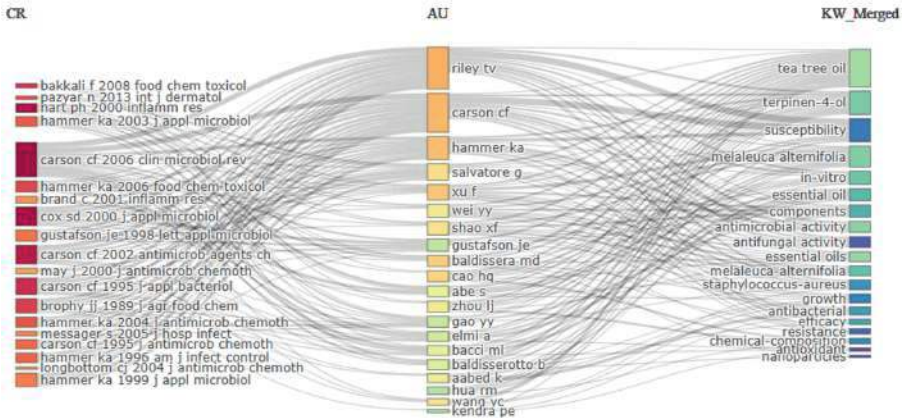
Fonte: Dados extraídos da análise bibliométrica realizada com auxílio do software *Bibliometrix (RStudio)*.

Na Figura 3, observa-se o mapeamento da colaboração científica internacional com base nas publicações relacionadas ao tema em estudo. O Brasil destaca-se como o país com o maior número de publicações, com pouca participação em colaborações internacionais (MCP). China e Austrália também apresentam elevado volume de produção científica, acompanhadas por um significativo número de publicações em coautoria internacional. Países europeus, como Itália e Polônia, além dos Estados Unidos, demonstram contribuição relevante na área. As conexões visíveis no mapa evidenciam uma forte articulação entre EUA, países europeus e China. Apesar da presença de colaborações internacionais, a predominância das publicações com autoria única por país (SCP) sugere que, em diversas nações, a produção científica ainda se concentra majoritariamente em esforços nacionais. Apesar de vivermos na era da globalização, em que as distâncias físicas foram significativamente reduzidas, essa aproximação ainda não se refletiu de forma plena no mundo acadêmico no que diz respeito à pesquisa com óleos essenciais, de tal forma que é necessário promover maior integração entre os centros acadêmicos.

A Figura 4 apresenta um gráfico do tipo *three-field plot*, relacionando as principais referências citadas (CR), os autores (AU) mais influentes e as palavras-chave unificadas (KW Merged) mais utilizadas em estudos sobre a *M. alternifolia*. As conexões entre os campos indicam a correlação entre os autores, os trabalhos que mais referenciam e os temas mais abordados na literatura científica. Observa-se que autores como Hammer KA, Carson CF e Riley TV

são fortemente associados a estudos sobre a atividade antimicrobiana do óleo, tendo como palavras-chave recorrentes: “*tea tree oil*”, “susceptibility”, “terpinen-4-ol”, “*Melaleuca alternifolia*”, “antimicrobial activity”, e “*Staphylococcus aureus*”.

Figura 4 - Mapeamento das principais referências, autores e palavras-chave associadas ao óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*



Legenda: principais referências citadas (CR), os autores (AU) mais influentes e as palavras-chave unificadas (KW Merged).

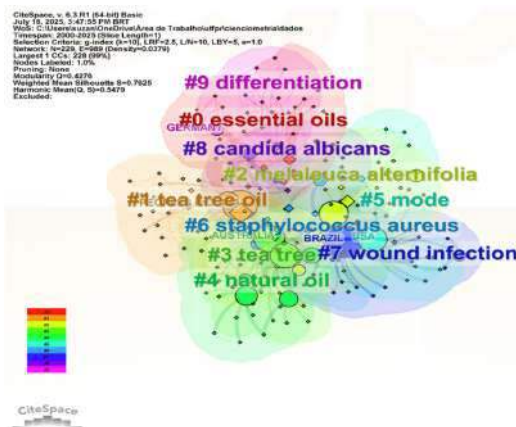
Fonte: Dados extraídos da análise bibliométrica realizada com auxílio do software *Bibliometrix (RStudio)*.

Como o óleo essencial é uma mistura complexa de várias substâncias é improvável a existência de um único mecanismo de ação, ou que apenas um componente seja o responsável exclusivo pela atividade antimicrobiana. Visto que já foram identificadas mais de 300 substâncias diferentes no óleo essencial de melaleuca, entre elas temos o terpinen-4-ol. Carson e Cox discutem os mecanismos de ação do óleo essencial de *Melaleuca*, os quais diferem significativamente daquele observado para o óleo de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), qual atua comprometendo diretamente a integridade da parede celular quanto a membrana celular, causando fragilidade estrutural (AL-MIJALLI *et al.*, 2023). Tanto Carlson e colaboradores (2002), quanto Cox e colaboradores (2001) investigaram o mecanismo de ação do óleo essencial de *Melaleuca* frente a bactérias, os resultados sugerem que o mecanismo primário não envolve dano grosseiro à parede celular, mas sim uma ação mais sutil sobre a membrana citoplasmática, provocando perda gradativa da função celular devido ao extravasamento de íons intracelulares, redução da atividade respiratória e, eventualmente, a morte da célula bacteriana.

E complementar a Figura 4 temos as Figuras 5 e 6, as quais demonstram a análise temática por agrupamento (*cluster*), realizada com base na coocorrência de palavras-

chave, complementa esse panorama ao evidenciar núcleos temáticos consolidados e temas emergentes relacionados a formulações e aplicações farmacêuticas.

Figura 5 - Clusters Temáticos na Produção Científica da *Melaleuca alternifolia* panorama geral dos 301 artigos



Fonte: Figura baseada em dados da *Web of Science (Clarivate Analytics)* e analisada com *CiteSpace*.

Na Figura 5, nota-se que a principal atividade farmacológica atribuída a esta espécie de *Melaleuca* é atividade antibacteriana e atividade antifúngica, representadas pelas cluster temáticos “*Staphylococcus aureus*” e “*Candida albicans*”. Os conjuntos de palavras “*tea tree oil*”, “*Melaleuca alternifolia*” e “terpinen-4-ol” estão diretamente relacionados à espécie vegetal em questão, podendo indicar temas como taxonomia, botânica e composição química do óleo essencial. Por outro lado, os termos “*susceptibility*”, “*antimicrobial activity*” e “*antifungal activity*” estão associados a pesquisas que investigam a resposta diferencial de microrganismos sensíveis e resistentes à ação do óleo, refletindo os dois principais eixos temáticos da literatura: atividade antibacteriana e atividade antifúngica, como demonstrado no Quadro 1.

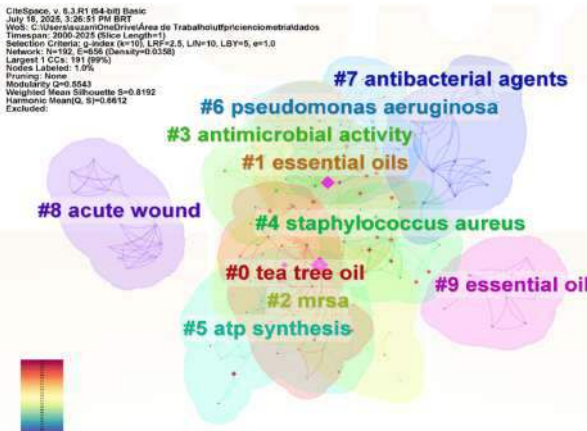
Quadro 1 - Interpretação dos Clusters Temáticos na Produção Científica da *Melaleuca alternifolia* panorama geral dos 301 artigos

Cluster	Tema Central	Interpretação
#0 essential oils	Mais amplo e central	Refere-se aos estudos gerais sobre óleos essenciais, onde <i>Melaleuca alternifolia</i> é frequentemente abordada como caso de estudo
#1 Tea tree oil	Nome alternativo ao tea tree oil	Relacionado à terminologia ou ao foco inicial das pesquisas com o óleo de <i>Melaleuca</i>

#2 <i>Melaleuca alternifolia</i>	Enfoque taxonômico e botânico	Estudos sobre a planta em si, caracterização do óleo, quimiotipos etc.
#3 tea tree	Termo popular para <i>Melaleuca alternifolia</i>	Aplicações práticas do óleo em cosméticos, higiene pessoal e saúde
#4 natural oil	Comparações com outros óleos	Estudos comparativos ou que envolvem sinergia com outros óleos naturais
#5 mode	Mecanismo de ação	Trabalhos focados em elucidar como o óleo atua em micro-organismos
#6 <i>Staphylococcus aureus</i>	Organismo modelo	Grande parte das pesquisas microbiológicas usa essa bactéria para testar o efeito antimicrobiano do óleo
#7 wound infection	Aplicações clínicas	Estudos sobre uso do óleo de Melaleuca em infecções de feridas, dermatites e cicatrização
#8 <i>Candida albicans</i>	Ação antifúngica	Investigações sobre o efeito do óleo contra leveduras patogênicas, especialmente <i>Candida</i>
#9 differentiation	Diferenciação celular ou taxonômica	Pode envolver estudos sobre linhagens bacterianas, mecanismos celulares ou variações químicas do óleo

Fonte: Os autores (2025).

Figura 6 - Clusters Temáticos da Literatura Científica sobre Óleos Essenciais e Atividade Antimicrobiana (2000–2025).



Fonte: Figura baseada em dados da *Web of Science (Clarivate Analytics)* e analisada com *CiteSpace*.

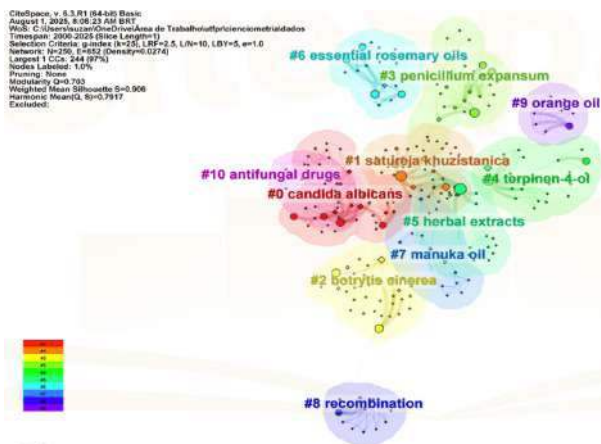
Na Figura 6, a abordagem antibacteriana é complementada pelos termos “*Staphylococcus aureus*”, “*Pseudomonas aeruginosa*”, “MRSA” e “*acute wound*”, os quais representam os principais patógenos de interesse nos estudos sobre a eficácia antimicrobiana do óleo de *Melaleuca*. Esses termos podem estar associados a subgrupos de aplicação ou a focos específicos, conforme apresentado no Quadro 2.

Quadro 2 - Interpretação dos Clusters Temáticos da Literatura Científica sobre Óleos Essenciais e Atividade Antimicrobiana (2000–2025)

Tema Principal	Interpretação
#0 <i>tea tree oil</i>	Óleo de <i>Melaleuca</i> (<i>Melaleuca alternifolia</i>), tópico central.
#1 <i>essential oils</i>	Uso amplo de óleos essenciais com propriedades terapêuticas.
#2 <i>MRSA</i>	Estudo sobre linhagens resistentes (<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina).
#3 <i>antimicrobial activity</i>	Abordagens de atividade antimicrobiana de compostos naturais.
#4 <i>staphylococcus aureus</i>	Um dos principais alvos de estudo das substâncias analisadas.
#5 <i>ATP synthesis</i>	Indica estudos sobre mecanismos celulares afetados por tratamentos.
#6 <i>pseudomonas aeruginosa</i>	Patógeno de interesse — difícil controle, foco de pesquisas alternativas.
#7 <i>antibacterial agents</i>	Agrupa publicações sobre agentes antimicrobianos, naturais ou sintéticos.
#8 <i>acute wound</i>	Cicatrização e infecções em feridas agudas.
#9 <i>essential oil</i>	Repetição do termo “ <i>essential oil</i> ” em outro contexto, possivelmente com foco mais específico.

Fonte: Os Autores (2025)

Figura 7 - Evolução dos Principais Termos em Pesquisas sobre *Melaleuca alternifolia* com Foco em Atividade Antimicrobiana (2004–2024).



Fonte: Figura baseada em dados da *Web of Science* (Clarivate Analytics) e analisada com *CiteSpace*.

Quadro 3 - Interpretação da Evolução dos Principais Termos em Pesquisas sobre *Melaleuca alternifolia* com Foco em Atividade Antifúngica (2004–2024).

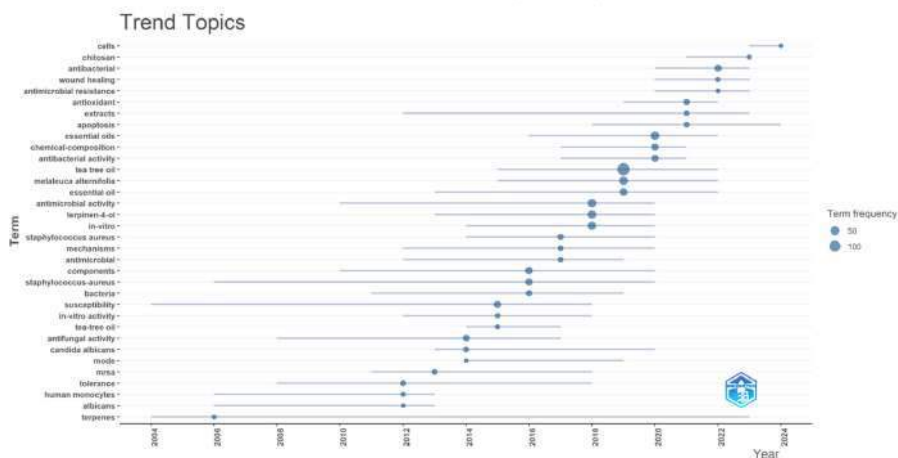
Cluster	Título	Interpretação
#0	<i>Candida albicans</i>	Forte foco clínico: uso do tea tree oil contra fungos patogênicos humanos
#1	<i>Satureja khuzistanica</i>	Tema secundário, Planta semelhante à <i>Melaleuca</i> em uso terapêutico antifúngico; representa estudos comparativos
#2	<i>Botrytis cinerea</i>	Fungo agrícola relevante; indica aplicação do óleo em fitopatologia
#3	<i>Penicillium expansum</i>	Outro patógeno agrícola;
#4	Terpinen-4-ol	Principal composto ativo do óleo de <i>Melaleuca</i> ; cluster-chave para seu mecanismo de ação atribuído dessa substância
#5	Herbal extracts	Uso de extratos vegetais em geral; <i>Melaleuca</i> está nesse grupo pelas suas aplicações terapêuticas
#6	Essential rosemary oils	tema secundário, Cluster de óleos essenciais; base de comparação com o tea tree oil
#7	Manuka oil	tema secundário, outro óleo essencial com ação antifúngica, frequentemente comparado ao tea tree oil
#8	Recombination	Provavelmente relacionado a estudos genéticos com fungos tratados com óleos ou fármacos

#9	Orange oil	tema secundário, Óleo cítrico comparado ao tea tree oil em termos de eficácia antifúngica
#10	Antifungal drugs	Comparação direta com medicamentos convencionais

Fonte: Os Autores (2025).

A Figura 7 e o Quadro 3, demonstram as co-citações indexadas na *WoS* (2000–2025), elaborado no software *CiteSpace*, evidenciando os principais tópicos associados ao uso do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e interpretações. Os clusters indicam áreas temáticas recorrentes na literatura, destacando-se os grupos relacionados à ação antifúngica contra *Candida albicans* (#0), ao composto ativo *terpinen-4-ol* (#4), e ao uso comparativo com outros óleos essenciais e extratos vegetais (#1, #5, #6). A presença de temas como *Botrytis cinerea* (#2) e *Penicillium expansum* (#3) sugere aplicações também na fitopatologia. O mapa reflete a relevância multidisciplinar da espécie no contexto da pesquisa em antimicrobianos naturais.

Figura 8 - Evolução Temporal dos Principais Termos Associados ao Uso de Óleos Essenciais com Atividade Antimicrobiana (2004–2024)



Fonte: Dados extraídos da análise bibliométrica realizada com auxílio do software *Bibliometrix* (*RStudio*).

A Figura 8 apresenta os principais termos utilizados em publicações científicas relacionadas ao óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (*tea tree oil*), evidenciando a frequência e o período de uso ao longo dos anos. O tamanho das bolhas representa a frequência relativa dos termos em cada ano, enquanto as linhas indicam a duração do uso de cada termo nas publicações.

A análise revela uma transição temática da caracterização básica e testes *in vitro* para abordagens mais aplicadas, como formulações biomédicas, ação sobre células humanas e combate à resistência antimicrobiana.

Diversos estudos confirmam a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca*, sendo as espécies *S. aureus* e *P. aeruginosa* as mais frequentemente investigadas. Dentre elas, *S. aureus* é o patógeno mais amplamente estudado. Trata-se de uma bactéria Gram-positiva comumente utilizada como modelo experimental para avaliar a eficácia de compostos antimicrobianos, devido à sua relevância clínica e à sua capacidade de desenvolver resistência a diversos agentes terapêuticos, vários autores confirmam o potencial do óleo de melaleuca (JIROVETZ *et al.*, 2005; HERMAN *et al.*, 2013; SAKKAS *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2018; NOUMI *et al.*, 2018; TAVARES *et al.*, 2020; FERREIRA *et al.*, 2022).

Estudos recentes têm se concentrado na melhoria das formulações por meio de técnicas de encapsulamento, visando otimizar a entrega dos óleos essenciais no local de ação. Essa estratégia busca aumentar a eficácia antimicrobiana, além de minimizar limitações como a volatilidade, a insolubilidade em meio aquoso, instabilidade químicas, irritação cutânea e a susceptibilidade à oxidação (BO *et al.*, 2023; MUTA *et al.*, 2020; CHEN e ZHONG, 2022; MOTSOENE *et al.*, 2025). Entre as aplicações recentes, o OE tem sido aplicado em curativos, os quais estão associados “*acute wound*” e “*wound infection*” são indicados como tópicos recentes associado a palavra “*chitosan*”. Essas formulações exploram o potencial antimicrobiano e cicatrizante dos óleos essenciais, combinados com polímeros naturais como a quitosana, promovendo liberação controlada e maior bioadesão (BAO, WU e MA, 2020).

Além disso, foi identificado tema pouco explorado, estudos mais recentes têm investigado o potencial sinérgico entre óleos essenciais e antibióticos convencionais, com o objetivo de identificar alternativas que contribuam para a redução do uso de antibióticos. Um exemplo é o estudo conduzido por Iseppi e colaboradores (2023), que demonstrou a eficácia dessa combinação, resultando em uma redução de até 80% na sensibilidade de três linhagens bacterianas. Esses achados destacam o potencial dos óleos essenciais como agentes coadjuvantes no tratamento terapêutico, contribuindo para a diminuição do uso de antibióticos. O interesse pelo sinergismo é recente, quando se trata de atividade antibacteriana, outros autores também investigaram o efeito do sinergismo entre óleos essenciais e outros agentes antimicrobianos (AYARI *et al.*, 2020; LEGHARI *et al.*, 2021; ALTUN e YAPICI, 2022; MOHAMMED *et al.*, 2024). Compreender esse efeito é fundamental para identificar combinações potencialmente eficazes, ampliando as opções terapêuticas e contribuindo para o desenvolvimento de estratégias alternativas ao uso de antimicrobianos convencionais, eficácia terapêutica, diminuir os efeitos colaterais e verificar combinações benéficas

de óleo. Embora ainda escassos, alguns estudos científicos demonstraram o sinergismo entre óleos essenciais e antibióticos, especialmente contra bactérias resistentes, como *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos (CR-Kp) e *Salmonella enterica*. Os antibióticos avaliados nesses estudos incluem colistina, eritromicina, amicacina, oxacilina, cefazolina, vancomicina, rifampicina e meropenem. Esses resultados indicam o potencial da associação entre óleos essenciais e antibióticos na amplificação da eficácia antimicrobiana e na possível redução dos efeitos adversos relacionados ao uso isolado de antibióticos (OLIVA *et al.*, 2018; ISEPPI *et al.*, 2023; ELSEWEDY *et al.*, 2024).

Estudos recentes demonstram que o óleo essencial de *M. alternifolia* possui a capacidade de induzir apoptose em diversos tipos de células neoplásicas, com destaque para linhagens de melanoma e carcinoma de células escamosas. Essa atividade pró-apoptótica está relacionada à modulação de vias de sinalização celular envolvidas na regulação da sobrevivência e proliferação celular. A citotoxicidade observada ocorre de maneira dose-dependente, sendo atribuída à indução de apoptose promovida pelos constituintes do óleo (RAMADAN *et al.*, 2019; DI MARTILE *et al.*, 2021; CLARK, 2021; IBISEVIC *et al.*, 2025). Esses achados sugerem que o óleo de melaleuca pode representar uma abordagem complementar promissora no tratamento de determinados tipos de câncer.

A segunda atividade farmacológica associada a esta espécie é a ação fungicida. Conforme mostra a Figura 8, essa aplicação é mais diversificada do que a atividade principal, como mencionado anteriormente, sendo representada pelo cluster temático que inclui os termos “*Candida albicans*”, “*Botrytis cinerea*” e “*Penicillium expansum*”. Isso evidencia a versatilidade do óleo de melaleuca, cuja atuação se estende desde a área da saúde até o setor agrícola.

De acordo com Katsipoulak e colaboradores (2024), *Candida albicans* é um fungo atualmente incluído na lista de patógenos fúngicos prioritários da Organização Mundial da Saúde (OMS), devido à crescente resistência aos medicamentos e à dificuldade na gestão do tratamento. *C. albicans* está frequentemente associada à candidíase vulvovaginal e à candidíase oral pseudomembranosa (conhecida como sapinho), sendo essas as formas clínicas mais comuns (MONDELLO *et al.*, 2006; NINOMIYA *et al.*, 2012; RAMAGE *et al.*, 2012; VANDAKARA *et al.*, 2017; ERVIANTI *et al.*, 2023). Além disso, pode causar estomatite protética, candidíase hiperplásica, queilite angular e candidíase eritematosa. Foi demonstrado que a combinação do óleo de nim (*Azadirachta indica*) com o óleo essencial de melaleuca apresentou efeito positivo na inibição fúngica. Resultados semelhantes foram observados para os compostos ativos terpinen-4-ol e 1,8-cineol, os quais também comprovaram atividade antifúngica (MONDELLO *et al.*, 2006; SINGHANIA *et al.*, 2020). Esses resultados reforçam que a substância mais

importante para a espécie de *Melaleuca altefolia* é a concentração desse terpeno, o principal responsável pelas características farmacológicas observadas para essa espécie, seja para comprovar sua ação antibacteriana quanto antifúngica.

Segundo Dean e colaboradores (2011) o *Botrytis cinerea* é o agente causal da podridão cinzenta (*gray mold*), considerada uma das doenças mais prevalentes e destrutivas em cultivos de frutas, hortaliças e flores. Esse patógeno afeta diversas culturas de importância econômica, como uva, morango, tomate, alface, feijão, girassol e rosa, provocando perdas expressivas tanto no campo quanto na pós-colheita, sobretudo em condições de elevada umidade. Está classificado entre os 10 fungos patogênicos de maior impacto econômico na agricultura, *B. cinerea* pode ocasionar perdas de até 50% da produção em condições ambientais favoráveis e na ausência de manejo adequado, com variações dependendo do clima e das práticas agrícolas adotadas.

Os estudos com óleo essencial de melaleuca demonstram potencial antifúngico contra *B. cinerea*, atribuído principalmente aos efeitos de seus compostos ativos sobre a integridade mitocondrial do patógeno. Estes compostos provocam danos às mitocôndrias, levando à interrupção do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que resulta em disfunção mitocondrial irreversível (LI *et al.*, 2017; XU, 2017). Efeitos demonstraram que os ativos com o terpinen-4-ol, principal constituinte do óleo, e com o 1,8-cineol atuam, respectivamente, sobre a bicamada lipídica das membranas celulares e sobre a função das organelas intracelulares de *B. cinerea*. Quando utilizados em combinação, apresentam uma ação antifúngica sinérgica, comparável à do óleo essencial completo (TTO), sendo o terpinen-4-ol responsável por desestabilizar as membranas celulares, enquanto o 1,8-cineol compromete o funcionamento das organelas (YU *et al.*, 2015). Outro patógeno de relevância incluído é *Penicillium expansum*, também considerado um fungo de grande interesse na área agrícola. Estudos recentes têm demonstrado a eficácia de alternativas sustentáveis, como o óleo essencial de melaleuca, no controle dessa linhagem fúngica. Os compostos presentes no óleo causam danos à membrana plasmática do fungo, resultando no vazamento de DNA, proteínas, glicose e lipídios. Dessa forma, o óleo essencial de melaleuca tem sido proposto como uma alternativa natural eficaz para a melhoria da qualidade e conservação de frutas, prevenindo a proliferação de *P. expansum* e *B. cinerea* em produtos pós-colheita (WEI *et al.*, 2018; ROCHA NETO *et al.*, 2019).

5. CONCLUSÃO

A cienciometria constitui uma ferramenta metodológica robusta para a avaliação de *clusters* temáticos, permitindo a identificação dos temas de maior relevância em um determinado campo de pesquisa. Essa abordagem

possibilita mensurar o impacto e a relevância dos artigos científicos, além de mapear lacunas existentes na literatura. Nesse contexto, no caso da espécie *Melaleuca artemisiaefolia*, a principal forma de utilização está relacionada ao óleo essencial, sendo que mais de 90% das publicações científicas sobre o tema abordam esse composto. A aplicação clássica do óleo essencial concentra-se, principalmente, em suas atividades antibacteriana e antifúngica, aplicadas na área de saúde e agricultura. Com o avanço das investigações, há uma tendência crescente em explorar o potencial desse óleo e suas aplicações em diversas áreas, como as ciências biológicas, farmacológicas, odontológicas, agrícolas, veterinárias e cosméticas. Entretanto, um dos principais desafios tecnológicos atuais no uso do óleo essencial de melaleuca está no desenvolvimento de formulações estáveis, homogêneas e bioativas para sua aplicação. Esse desafio é amplamente atribuído ao seu elevado coeficiente de partição, característica que reflete sua alta lipofilia e baixa miscibilidade em sistemas aquosos. Tal propriedade dificulta a obtenção de formulações estáveis, homogêneas e com adequada biodisponibilidade. Diante disso, diversas abordagens tecnológicas têm sido exploradas, incluindo o uso de emulsificantes, nanoemulsões, lipossomas, sistemas de encapsulamento com polímeros naturais (como amido ou alginato) e carreadores com liberação controlada, visando otimizar a estabilidade, eficácia e segurança do óleo em aplicações nas áreas agrícola, cosmética e de alimentos.

REFERÊNCIAS

ABD EL-SALAM, A. M.; TAHOUN, A.; HANAFY, N. A. N. Evaluation of liposomal hydrocolloidal NPs loaded by tea tree oil as antifungal agent in vitro and in vivo investigations: preclinical studies. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 3, art. 100136, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2023.100136>. Acesso em: 05 ago. 2025.

ABOU-ZAID, E. A. A. et al. Improvement of post-harvest quality of Balady lime fruit with Aloe vera gel and tea tree oil against green mold disease caused by *Penicillium digitatum*. **Journal of Plant Pathology**, v. 106, p. 1715–1729, 07 ago. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42161-024-01705-0>. Acesso em: 05 ago. 2025.

AL-MIJALLI, S. H. et al. Exploring the antibacterial mechanisms of chemically characterized essential oils from leaves and buds of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Industrial Crops and Products, Amsterdam**,

v. 205, art. 117561, dez. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117561>. Acesso em: 03 ago. 2025.

ALTUN, M.; YAPICI, B. M. Determination of chemical compositions and antibacterial effects of selected essential oils against human pathogenic strains. **Anais da Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro**, v. 94, n. 1, e20210074, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0001-376520222021007>. Acesso em: 03 ago. 2025.

AYARI, S. et al. Potential synergistic antimicrobial efficiency of binary combinations of essential oils against *Bacillus cereus* and *Paenibacillus amylolyticus* – Part A. **Microbial Pathogenesis**, Oxford, v. 141, art. 104008, abr. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401019321667>. Acesso em: 05 ago. 2025.

BAO, X.; WU, J.; MA, G. Sprayed Pickering emulsion with high antibacterial activity for wound healing. **Progress in Natural Science: Materials International**, Beijing, v. 30, n. 5, p. 669–676, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2020.08.001>. Acesso em: 05 ago. 2025.

BISHT, A. et al. Azelaic acid and *Melaleuca alternifolia* essential oil co-loaded vesicular carrier for combinational therapy of acne. **Therapeutic Delivery**, London, v. 13, n. 1, p. 13–29, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.4155/tde-2021-0059>. Acesso em: 01 ago. 2025.

BO, R. et al. Tea tree oil nanoliposomes: optimization, characterization, and antibacterial activity against *Escherichia coli* in vitro and in vivo. **Poultry Science, Champaign**, v. 102, n. 1, p. 102238, jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102238>. Acesso em: 01 ago. 2025.

CALIXTO, G. M. F. et al. Design and characterization of a novel p1025 peptide-loaded liquid crystalline system for the treatment of dental caries. **Molecules, Basel**, v. 21, n. 2, p. 158, fev. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules21020158>. Acesso em: 05 ago. 2025.

CASARIN, M. et al. Anti-biofilm and anti-inflammatory effect of a herbal nanoparticle mouthwash: a randomized crossover trial. **Brazilian Oral Research**, Bauru, v. 33, e062, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2019.vol33.0062>. Acesso em: 03 ago. 2025.

CHEN, H.; ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of

self-emulsified nanoemulsions containing three synergistic essential oils. **International Journal of Food Microbiology, Amsterdam**, v. 365, art. 109557, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109557>. Acesso em: 01 ago. 2025.

CLARK, A. M. et al. Tea tree oil extract causes mitochondrial superoxide production and apoptosis as an anticancer agent, promoting tumor infiltrating neutrophils cytotoxic for breast cancer to induce tumor regression. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v. 140, art. 111790, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111790>. Acesso em: 06 ago. 2025.

DA ROCHA NETO, A. C. et al. Antifungal activity of palmarosa (*Cymbopogon martinii*), tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and star anise (*Illicium verum*) essential oils against *Penicillium expansum* and their mechanisms of action. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie – Food Science and Technology**, Cambridge, v. 105, p. 385–392, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.060>. Acesso em: 10 ago. 2025.

DI MARTILE, M. et al. Antitumor effect of *Melaleuca alternifolia* essential oil and its main component terpinen-4-ol in combination with target therapy in melanoma models. **Cell Death Discovery**, London, v. 7, n. 1, p. 127, 31 maio 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41420-021-00510-3>. Acesso em: 03 ago. 2025.

ERVIANI, E. et al. Comparison of tea tree oil 5%, tea tree oil 10%, and nystatin inhibition zones against vaginal *Candida* isolates in pregnancy. **Journal of Infection in Developing Countries, Florence**, v. 17, n. 3, p. 353–358, 2023. Disponível em: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/16761>. Acesso em: 06 ago. 2025.

FERREIRA, G. da S. et al. Antimicrobial cotton wipes functionalized with *Melaleuca alternifolia* Pickering emulsions stabilized with cellulose nanofibrils. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, Cambridge, v. 3, art. 100208, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100208>. Acesso em: 05 ago. 2025.

HERMAN, A. et al. Essential oils and herbal extracts as antimicrobial agents in cosmetic emulsion. **Indian Journal of Microbiology**, New Delhi, v. 53, n. 2, p. 232–237, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0329-0>. Acesso em: 08 ago. 2025.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 4730:2017 – Oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (Tea tree oil) — Specification. Geneva: ISO, 2017. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/65189.html>. Acesso em: 05 ago. 2025.

JIROVETZ, L. et al. Antimicrobial testings and gas chromatographic analysis of pure oxygenated monoterpenes 1,8-cineole, α -terpineol, terpinen-4-ol and camphor as well as target compounds in essential oils of pine (*Pinus pinaster*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), tea tree (*Melaleuca alternifolia*). **Scientia Pharmaceutica**, Vienna, v. 73, n. 1, p. 27–39, mar. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.3797/scipharm.aut-05-03>. Acesso em: 05 ago. 2025.

KLAUCK, V. et al. Insecticidal and repellent effects of tea tree and andiroba oils on flies associated with livestock. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 28, supl. 1, p. 33–39, ago. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/mve.12078>. Acesso em: 05 ago. 2025.

LEGHARI, S. K. et al. Antimicrobial potential of tea tree, clove, basil and thyme essential oils against bacterial isolates of bovine wounds. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 31, n. 5, p. 1270–1276, 2021.

LI, Y. et al. Tea tree oil exhibits antifungal activity against *Botrytis cinerea* by affecting mitochondria. **Food Chemistry, Amsterdam**, v. 234, p. 62–67, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.172>. Acesso em: 03 ago. 2025.

LIAO, M. et al. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on *Helicoverpa armigera*. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 141, n. 9, p. 721–728, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jen.12397>. Acesso em: 03 ago. 2025.

MONDELLO, F. et al. In vivo activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic *Candida* species. **BMC Infectious Diseases**, London, v. 6, n. 1, p. 158, nov. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-158>. Acesso em: 10 ago. 2025.

MONTINARI, M. R.; MINELLI, S.; DE CATERINA, R. The first 3500 years of aspirin history from its roots – a concise summary. **Vascular Pharmacology**, Amsterdam, v. 113, p. 1–8, 2019. Disponível em: <https://>

doi.org/10.1016/j.vph.2018.10.008. Acesso em: 06 ago. 2025.

MOTSOENE, F.; ABRAHAMSE, H.; DHILIP KUMAR, S. S. Lauric acid and tea tree oil-loaded solid lipid nanoparticles: physicochemical characterisation and antibacterial activity against pathogenic bacteria. **Materials Today Communications**, London, v. 42, art. 111331, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2024.111331>. Acesso em: 04 ago. 2025.

NOUMI, E. et al. Chromobacterium violaceum and Pseudomonas aeruginosa PAO1: models for evaluating anti-quorum sensing activity of Melaleuca alternifolia essential oil and its main component terpinen-4-ol. **Molecules**, Basel, v. 23, n. 10, p. 2672, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23102672>. Acesso em: 03 ago. 2025.

NINOMIYA, K. et al. Suppression of inflammatory reactions by terpinen-4-ol, a main constituent of tea tree oil, in a murine model of oral candidiasis and its suppressive activity to cytokine production of macrophages in vitro. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 36, n. 5, p. 838–844, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1248/bpb.b13-00046>. Acesso em: 08 ago. 2025.

OLIVA, A. et al. High potency of Melaleuca alternifolia essential oil against multidrug resistant Gram-negative bacteria and methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Molecules**, Basel, v. 23, n. 10, p. 2584, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23102584>. Acesso em: 05 ago. 2025.

OSSA-TABARES, J. C.; LLANOS, C. J.; GARCÍA, A. M. Evaluación de las características fisicoquímicas y de la actividad antimicrobiana del aceite del árbol de té contra Cutibacterium acnes (Propionibacterium acnes) ATCC 6919. **Biomedica: Revista del Instituto Nacional de Salud**, Bogotá, v. 40, n. 4, p. 693–701, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.7705/biomedica.5122>. Acesso em: 08 ago. 2025.

PUVAČA, N. et al. Use of tea tree essential oil (Melaleuca alternifolia) in laying hen's nutrition on performance and egg fatty acid profile as a promising sustainable organic agricultural tool. **Sustainability**, Basel, v. 12, n. 8, p. 3420, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su12083420>. Acesso em: 03 ago. 2025.

RAMADAN, M. A. et al. Expression of P53, BAX, and BCL-2 in human malignant melanoma and squamous cell carcinoma cells after tea tree oil treatment in vitro. **Cytotechnology**, Dordrecht, v. 71, n. 1, p. 461–473, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10616-018-0297-z>. Acesso em: 08 ago. 2025.

REUVENI, M.; SANCHES, E.; BARBIER, M. Curative and suppressive activities of essential tea tree oil against fungal plant pathogens. **Agronomy**, Basel, v. 10, n. 4, p. 609, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy10040609>. Acesso em: 03 ago. 2025.

RUSSELL, M.; SOUTHWELL, I. Monoterpenoid accumulation in *Melaleuca alternifolia* seedlings. **Phytochemistry**, Oxford, v. 59, n. 7, p. 709–716, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00038-9). Acesso em: 03 ago. 2025.

SAKKAS, H. et al. In vitro antimicrobial activity of five essential oils on multidrug resistant Gram-negative clinical isolates. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, Pune, v. 5, n. 3, p. 212–218, 2016. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4927124>. Acesso em: 08 ago. 2025.

SILVA, S. R. S. et al. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Acta Scientiarum*. **Agronomy**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1363–1368, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v24i0.2382>. Acesso em: 03 ago. 2025.

SINGHANIA, A. et al. Individual and synergistic effects of tea tree oil and neem extract on *Candida albicans* adhesion to denture soft liner. **Cureus**, San Francisco, v. 14, n. 8, e27869, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.7759/cureus.27869>. Acesso em: 08 ago. 2025.

SOLIMAN, D. M.; EL-SAYED, I. M. Study postharvest characteristics, chemical composition and antimicrobial activity of *Dianthus caryophyllus* L., cut flowers using some essential oils. **Ornamental Horticulture**, Piracicaba, v. 29, n. 1, p. 37–47, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v29i1.2540>. Acesso em: 08 ago. 2025.

SÜRME, Y.; ÇÜRÜK, G. N.; LEKESIZCAN, A.; ÖZDAMAR, S. The effect of tea tree oil on wound healing in diabetic rats. **Wound Practice & Research**, Melbourne, v. 30, n. 2, p. 91–98, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.33235/wpr.30.2.91-98>. Acesso em: 08 ago. 2025.

TAVARES, T. D. et al. Activity of specialized biomolecules against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Antibiotics*, **Basel**, v. 9, n. 6, p. 314, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060314>. Acesso em: 03 ago. 2025.

TER HUURNE, M. B. et al. Melaleuca (Myrtaceae): biogeography of an important genus of trees and shrubs in a changing world. **South African Journal of Botany**, v. 162, p. 230–244, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.08.052>. Acesso em: 08 ago. 2025.

UEHARA, A. et al. Odor-active constituents of Cedrus atlantica wood essential oil. **Phytochemistry, Oxford**, v. 144, p. 208–215, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.09.017>. Acesso em: 03 ago. 2025.

VAN VUUREN, S. F.; SULIMAN, S.; VILJOEN, A. M. The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 48, n. 4, p. 440–446, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02548.x>. Acesso em: 03 ago. 2025.

VANKADARA, S. K. et al. Effect of Melaleuca alternifolia mixed with tissue conditioners in varying doses on colonization and inhibition of Candida albicans: an in vitro study. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 8, n. 3, p. 446–450, jul./set. 2017. Disponível em: https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_542_17. Acesso em: 08 ago. 2025.

VASILE, C. et al. Comparative analysis of the composition and active property evaluation of certain essential oils to assess their potential applications in active food packaging. **Materials, Basel**, v. 10, n. 1, p. 45, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ma10010045>. Acesso em: 03 ago. 2025.

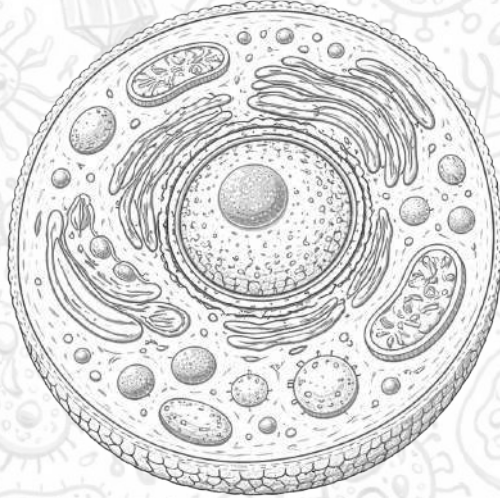
VOLPATO, A. I. et al. Melaleuca alternifolia essential oil against the lesser mealworm (Alphitobius diaperinus) and its possible effect on the soil fauna. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 41–46, jan./mar. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1516-635X1801041-046>. Acesso em: 08 ago. 2025.

WEI, Y. et al. The combined effects of tea tree oil and hot air treatment on the quality and sensory characteristics and decay of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 136, p. 139–144, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.012>. Acesso em: 03 ago. 2025.

XU, J. et al. Metabolomic analysis and mode of action of metabolites of tea tree oil involved in the suppression of Botrytis cinerea. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1017, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01017>. Acesso em: 08 ago. 2025.

YU, D. et al. Antifungal modes of action of tea tree oil and its two characteristic components against *Botrytis cinerea*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 119, n. 5, p. 1253–1262, nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jam.12939>. Acesso em: 08 ago. 2025.

ZHANG, X. et al. In vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Melaleuca alternifolia* essential oil. **BioMed Research International**, Seattle, v. 2018, art. 2396109, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/2396109>. Acesso em: 08 ago. 2025.



Desvendando Microrganismos: Técnicas de Caracterização e Análise Morfológica

*Sâmela Aldrea Leite de Oliveira
Júlia Bastos dos Santos
Mariana Machado Fidelis do Nascimento
Juliana Vitória Messias Bittencourt*

CAPÍTULO

04

1. INTRODUÇÃO

A natureza abriga uma grande diversidade biológica, desde organismos visíveis a olho nu até microrganismos que só podem ser observados com auxílio de técnicas microscópicas. Enquanto a distinção entre animais de diferentes espécies, como um coelho e uma raposa, é relativamente simples para o observador, o universo microbiano apresenta um desafio muito maior. Fungos e leveduras, por sua vez, possuem elevada plasticidade morfológica e diversidade ecológica, o que torna sua identificação mais complexa. Apesar de existirem há milhões de anos, os sistemas de classificação e identificação de fungos continuam em constante evolução, especialmente com a integração de dados moleculares e filogenéticos (RODGERS, 2011). Ainda assim, a identificação morfológica ocupa papel central como ponto de partida para a caracterização de fungos e leveduras. Essa abordagem permite agrupar isolados com base em características visíveis, fornecendo informações iniciais que orientam análises subsequentes nas áreas clínica, ambiental e industrial (MCCLENNY, 2005). Além de ser acessível e rápida, a análise morfológica possibilita avaliar o estado fisiológico das culturas, algo que nem sempre é perceptível por métodos moleculares (HIBBETT *et al.*, 2016).

As diferenças entre fungos filamentosos e leveduras ilustram a importância dessa abordagem. Os fungos filamentosos desenvolvem hifas alongadas e ramificadas que formam o micélio, estrutura multicelular capaz de colonizar substratos sólidos e explorar o espaço de forma eficiente, desempenhando papel essencial na decomposição da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes (DE VRIES *et al.*, 2017). Por outro lado, as leveduras são microrganismos unicelulares, geralmente arredondados ou ovais, que se reproduzem predominantemente por brotamento ou fissão, adaptando-se a ambientes aquáticos e nichos ricos em nutrientes (KURTZMAN; FELL, 1998).

Essa distinção morfológica está diretamente associada a estratégias adaptativas diferentes: enquanto fungos filamentosos, como *Aspergillus* e *Penicillium*, são fundamentais na produção de antibióticos, ácidos orgânicos e enzimas, as leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae*, são amplamente utilizadas em processos fermentativos (RADOSA *et al.*, 2019; MEYER *et al.*, 2020). Esses atributos não só impactam a ecologia dos organismos, mas também sua aplicação biotecnológica, tais como fermentações, produção de enzimas ou metabólitos. Este capítulo tem como objetivos apresentar os fundamentos principais para observação de microrganismos em meios sólidos, descrever as principais características morfológicas que distinguem fungos filamentosos e leveduras, preparar o leitor para compreender as técnicas de análise macroscópica de colônias e microscópica de estruturas celulares, reconhecendo tanto o potencial quanto às limitações dos métodos.

2. FUNGOS: CLASSIFICAÇÃO E DIVERSIDADE

Fungos são organismos eucarióticos heterotróficos que se distinguem por absorver nutrientes do ambiente, apresentarem paredes celulares com quitina, reserva de glicogênio e ciclos que podem incluir fases haploides, dicarióticas e diploides (MAIA; DE CARVALHO JR., 2010). A classificação moderna, baseada em filogenia molecular aliada à morfologia, reconhece sete filos principais como verdadeiros fungos (*stricto sensu*): *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytridiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Glomeromycota*, *Neocallimastigomycota* e *Zygomycota* (nesta última inclusão por conveniência prática), além de grupos tradicionalmente agrupados como “*latosensu*”, como *Myxomycota* (HIBBETT *et al.*, 2007; KIRK *et al.*, 2008).

3. REPRODUÇÃO SEXUADA E ASSEXUADA

A reprodução assexuada ocorre por mitose e formação de estruturas como conídios ou esporângios, permitindo rápida dispersão e colonização. Já a reprodução sexuada envolve plasmogamia, cariogamia e meiose, gerando esporos geneticamente diversos. Em grupos como *Ascomycota* e *Basidiomycota*, há uma fase dicariótica em que dois núcleos haploides coexistem na mesma célula, antes da cariogamia (MAIA; DE CARVALHO JR., 2010).

Leveduras e fungos filamentosos podem se reproduzir por disseminação de hifas, divisão celular (brotamento nas leveduras) e produção de esporos, que podem ser assexuados ou sexuados (MADIGAN *et al.*, 2016). Os esporos assexuados reprodutivos são formados nas hifas aéreas por mitose e divisão celular, resultando em estruturas chamadas conidióforos ou blastoconídios, discutidas neste capítulo. Os produtos deste tipo de esporo terão características idênticas às do organismo gerador, sem variação genética (TORTORA, FUNKE, CASE, 2017).

Os esporos sexuados são parte das características que diferenciam os filos. É provável que todos os fungos sejam capazes de produzir esporos sexuados, apesar de não ser uma forma recorrente (MADIGAN *et al.*, 2016). Nesta situação, o esporo vai ser resultado da união genética de dois organismos parentais, ou seja, a fusão de duas células haploides provenientes de organismos diferentes, que passará pelas etapas de plasmogamia > cariogamia > meiose (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Cada grupo possui um esporo sexuado característico: ascósporos, presente nas leveduras, são produzidos dentro de estruturas chamadas asco, que se assemelham a sacos fechados; basidiósporos, comum aos basidiomicetos, são feitos em estruturas chamadas basídios; e os zigósporos, dos *Zigomicetos*, formam-se por fusão de hifas com troca genética (MADIGAN *et al.*, 2016).

Esporos fúngicos diferem dos esporos bacterianos pela diferente

função (gerar um novo organismo) e menor resistência a condições ambientais adversas, comparativamente. Os esporos têm maior facilidade de distribuição, permitindo a germinação de fungos em maiores áreas.

4. DIVERSIDADE E ESPÉCIES NO BRASIL

Estima-se que existam entre 2,2 a 4 milhões de espécies de fungos no mundo, das quais aproximadamente 120.000 já foram formalmente descritas (HAWKSWORTH; LÜCKING, 2017; KIRK *et al.*, 2008). Isso significa que conhecemos apenas cerca de 3% a 8% da diversidade fúngica global. No Brasil, o projeto *Flora e Funga do Brasil*, vinculado ao programa ReFlora, registra atualmente 6.331 espécies de fungos, com maior ocorrência na Mata Atlântica (1.664 spp.), seguida pela Caatinga (734 spp.) e Amazônia (519 spp.), enquanto o Cerrado (291 spp.), o Pantanal (28 spp.) e o Pampa (1 sp.) apresentam números mais modestos. Regionalmente, a maior diversidade é registrada no Nordeste (1.749 spp.), seguido pelas regiões Sudeste (1.411 spp.), Sul (1.320 spp.), Norte (743 spp.) e Centro-Oeste (296 spp.) (MAIA; CARVALHO JR, 2010).

Embora esses números representem um panorama relevante, é importante salientar que o total de espécies disponibilizado nas listas e catálogos existentes, incluindo o presente trabalho, não reflete a totalidade da diversidade fúngica nacional. Diversas publicações, como listas estaduais, regionais (MAIA *et al.*, 2015; CRUZ; GUSMÃO, 2009) e de abrangência nacional, como a de Mendes *et al.* (1998), posteriormente atualizada pela Embrapa (<http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/michtml/fgbanco01.asp>) não puderam ser incorporadas integralmente nesta compilação. Assim, a presente lista deve ser considerada preliminar, embora constitua uma oportunidade importante para sistematizar dados antes dispersos e reunir informações sobre a ocorrência de fungos no Brasil. O Quadro 1 apresenta os 20 gêneros mais diversos de fungos registrados no país, indicando o número total de espécies e aquelas consideradas endêmicas.

Quadro 1 - Dados das principais espécies de fungos encontradas em território brasileiro

GÊNERO FUNGOS	TOTAL DE ESPÉCIES	ESPÉCIES ENDÊMICAS
<i>Puccinia</i>	252	64
<i>Uromyces</i>	102	32
<i>Xylaria</i>	91	8

<i>Uredo</i>	73	41
<i>Aecidium</i>	67	43
<i>Physarium</i>	50	2
<i>Phellinus</i>	48	5
<i>Glomus</i>	43	0
<i>Ravenelia</i>	43	28
<i>Pythium</i>	41	0
<i>Penicillium</i>	37	0
<i>Hypoxylon</i>	35	2
<i>Prospodium</i>	30	13
<i>Gravis</i>	30	0
<i>Phakopsora</i>	29	8
<i>Achlya</i>	27	0
<i>Hymenochaete</i>	26	2
<i>Phytophthora</i>	24	0
<i>Mucor</i>	23	0
<i>Rhizophydium</i>	23	0

Fonte: Elaborada por Oliveira, S. A. L., com base nas informações de MAIA; CARVALHO JR (2010).

5. CULTIVO DE FUNGOS

O cultivo de fungos em meio sólido é uma etapa fundamental para sua caracterização morfológica, pois permite a observação de parâmetros macroscópicos essenciais, como textura, cor e velocidade de crescimento. Para isso, o meio de cultura deve fornecer nutrientes adequados e condições físico-químicas compatíveis com as exigências fisiológicas do organismo.

Diversos meios são utilizados na micologia, cada um com composições específicas que favorecem grupos particulares:

- Ágar Czapek-Dox: amplamente utilizado para o cultivo de fungos filamentosos como *Aspergillus* e *Penicillium*, contém sacarose como fonte de carbono e nitrato de sódio como fonte de nitrogênio, favorecendo o crescimento e esporulação dessas espécies (SAMSON *et al.*, 2010);
- MEA – Ágar Extrato de Malte: rico em carboidratos

provenientes do extrato de malte, favorece o crescimento de uma ampla gama de fungos, especialmente *Aspergillus*, *Penicillium* e fungos associados a alimentos (SAMSON *et al.*, 2014);

- OA – Ágar de Aveia: rico em nutrientes provenientes da aveia, utilizado para crescimento e esporulação de fungos filamentosos de diversas espécies, incluindo *Penicillium* e *Fusarium* (SAMSON *et al.*, 2010).
- PDA – Ágar Dextrose Batata: contém extrato de batata e dextrose, sendo um dos meios mais amplamente usados para cultivo geral e avaliação de características morfológicas (KLICH, 2002).
- RBA – Ágar Rose Bengal: inibe crescimento bacteriano e facilita contagem de fungos em amostras ambientais, com corante que limita o crescimento de colônias muito grandes (KLICH, 2002).
- SDA – Ágar Sabouraud Dextrose: desenvolvido para isolamento de fungos patogênicos, apresenta alta concentração de glicose e pH ácido, inibindo parcialmente o crescimento bacteriano (FORBES *et al.*, 2018).
- YM – Ágar de Malte de Levedura: especialmente indicado para leveduras, contém extrato de levedura e malte, proporcionando crescimento rápido e colônias bem definidas (KURTZMAN *et al.*, 2011).

As condições de incubação influenciam diretamente a morfologia da colônia. A maioria dos fungos de interesse ambiental cresce melhor entre 25–30 °C, enquanto espécies patogênicas humanas muitas vezes se adaptam a 35–37 °C (DE HOOG *et al.*, 2015). O tempo de incubação pode variar de 3 a 7 dias para espécies de crescimento rápido (*Mucor*, *Rhizopus*) até 14–21 dias para espécies de crescimento lento (*Trichophyton*, *Histoplasma*). A luz também pode atuar como fator morfogenético, influenciando a esporulação e pigmentação em certos gêneros, como *Fusarium* e *Alternaria* (PITT; HOCKING, 2009).

Outro parâmetro crítico é o pH do meio. Fungos, de modo geral, apresentam melhor crescimento em condições levemente ácidas (pH 4,5–6,0), o que, além de favorecer seu metabolismo, auxilia no controle de bactérias contaminantes (MADIGAN *et al.*, 2018). Caso o meio seja preparado incorretamente e apresente pH inadequado, pode-se corrigi-lo por acidificação controlada, utilizando soluções estéreis de ácido láctico ou ácido tartárico até atingir o pH desejado (ATLAS, 2010). A acidificação é especialmente importante quando se utilizam matérias-primas que alteram a composição final do meio ou quando se busca evitar o crescimento bacteriano competitivo.

O sucesso do cultivo depende também de práticas assépticas rigorosas durante a preparação, inoculação e incubação, pois a presença de contaminantes pode comprometer a interpretação morfológica.

6. TÉCNICAS DE ISOLAMENTO E REPIQUE

O primeiro passo para o isolamento é passar a amostra para um meio de cultura que permita o crescimento satisfatório de leveduras e fungos, mas que iniba o crescimento de demais organismos. Para tal, o emprego de antibióticos pode se mostrar uma alternativa, além da correta seleção do meio de cultura. É válido lembrar que os parâmetros de crescimento de fungos e leveduras são o suficientemente distintos dos parâmetros de bactérias, permitindo que possam ser utilizados como uma vantagem na hora do isolamento. Os valores de pH, a temperatura e também o tempo de crescimento de cada espécie podem agir como inibidores, ou pelo menos como indicadores do que cada colônia representa. Isso pode auxiliar o pesquisador na sua tarefa de identificação macro.

6.1 MÉTODO DE DILUIÇÃO

A técnica mais comum, que apresenta bons resultados, é a de diluição em placas (CROUS *et al.*, 2019; GAMS, 1992; JOHNSON; CURL, 1972). Ela prevê a obtenção de colônias suficientemente separadas, que poderão ser repicadas para um meio de cultura novo, mais seletivo. Neste método, dilui-se o solo em água destilada na proporção 1:10.000 (diluição 1:10 (m/v) repetida 10 vezes). Obtém-se então uma alíquota de 1 mL para ser pipetada na placa de Petri com o meio de cultura escolhido. Utilizar uma alça de Drigalski pode resultar em um espalhamento mais uniforme. Uma vez feito este plaqueamento, incuba-se a placa a 25-30 °C. O pesquisador pode ajustar a diluição conforme julgar necessário, entretanto, pois a depender da amostra pode haver mais ou menos microrganismos capazes de se desenvolver.

O resultado esperado desta técnica é uma placa com o crescimento de colônias bem definidas e separadas. Por volta de 5 a 30 colônias devem ser o suficiente (BILLS *et al.*, 2004). A partir disso é possível repicar cada colônia para novos meios de cultura, com o auxílio de uma alça de inoculação, empregando movimentos de estrias de esgotamento. Espera-se que este procedimento seja repetido somente algumas vezes para obter-se uma colônia pura (YARROW, 1998).

A decisão de quais colônias isolar não deve ser arbitrária. É sugerido que o pesquisador trace um planejamento de isolamento, a depender da abundância de resultados obtidos. Bills *et al.* (2004) sugere duas opções: para um rendimento relativamente baixo de microrganismos. O autor sugere determinar previamente um número de isolados a serem obtidos de cada plaqueamento, e seguir este número a risca caso deseje-se comparar diferentes origens de amostras. Caso espera-se ter um alto número de crescimento, sugere-se então isolar todas as colônias que obter de um número limitado, e

pré-determinado, de placas. O pesquisador pode acabar por ter de trabalhar com um alto número de placas/isolados, mas com organização e prática deve ser possível processar todas as amostras sem problemas.

6.2 MÉTODO POUR PLATE

O método pour plate é amplamente utilizado na microbiologia para quantificação de microrganismos viáveis, incluindo bactérias e fungos, e envolve a mistura de uma suspensão microbiana com ágar fundido, seguida do derramamento em placas de Petri. Zhang *et al.* (2023) destacam que a técnica tradicional pode comprometer a viabilidade de microrganismos sensíveis ao calor, pois o ágar fundido atinge temperaturas de 45–50 °C antes da solidificação. Para contornar essa limitação, o pesquisador propõe a esterilização separada dos componentes do meio, permitindo a adição de nutrientes sensíveis ao calor após a esterilização e o resfriamento do ágar. Essa modificação resulta em maior recuperação de unidades formadoras de colônia (UFC) e melhor crescimento de fungos e leveduras.

Na prática, o pesquisador deve preparar uma suspensão da amostra contendo esporos ou fragmentos miceliais, diluindo-a adequadamente em solução estéril. Uma alíquota é misturada com o ágar previamente resfriado, e a mistura é vertida em placas estéreis. Durante a incubação, geralmente a 25–28 °C para fungos filamentosos, colônias distintas crescem tanto na superfície quanto no interior do ágar. O resultado esperado é a obtenção de colônias bem definidas e separadas, que podem ser repicadas para meios seletivos de manutenção. Essa abordagem permite não apenas quantificar microrganismos viáveis de forma mais precisa, mas também melhorar o isolamento de espécies mais sensíveis, como leveduras e certos fungos ambientais, tornando o pour plate uma ferramenta ainda mais confiável para estudos ecológicos, industriais ou clínicos.

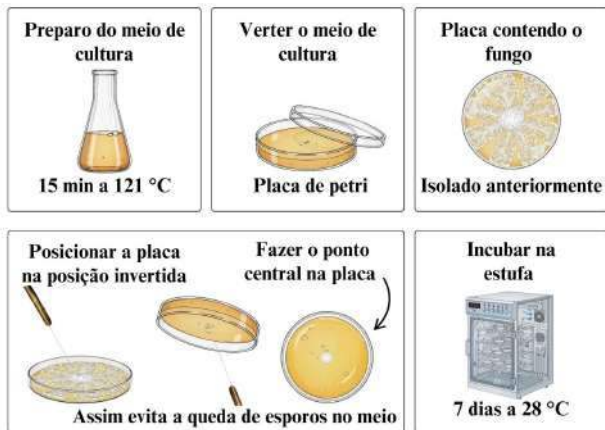
6.3 INOCULAÇÃO EM PONTO ÚNICO

A inoculação em ponto único é uma técnica amplamente utilizada para o estudo do crescimento de microrganismos, especialmente fungos filamentosos. Nesse método, uma alíquota do inóculo é depositada no centro da placa contendo meio de cultura sólido, permitindo a observação radial do crescimento a partir de um ponto único. Essa abordagem proporciona condições padronizadas para avaliar parâmetros como velocidade de crescimento, formação de halo de expansão micelial e morfologia da colônia (PITT; HOCKING, 2009; ALMANÇA *et al.*, 2021).

As vantagens do método incluem a simplicidade, a redução do risco

de contaminação cruzada e a facilidade de mensuração do crescimento em diferentes tempos. Entretanto, a técnica exige cuidado durante a inoculação, principalmente no caso de fungos esporulentos, cuja liberação de esporos pode interferir no crescimento homogêneo ou contaminar a superfície do meio. Estudos demonstram que pequenas variações na quantidade de inóculo ou na posição central podem influenciar significativamente os resultados, ressaltando a importância de procedimentos padronizados (GROHS *et al.*, 2019).

Figura 1 - Representação esquemática da metodologia de inoculação em ponto central



Fonte: Elaborada por Oliveira, S. A. L., com auxílio do ChatGPT (2025).

Inicialmente, o meio de cultura é preparado e esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121 °C. Em seguida, o meio é vertido na placa de Petri e deixado em repouso até a completa solidificação. Após isso, seleciona-se uma placa contendo o fungo isolado desejado, repicado anteriormente. A placa com o meio solidificado é então invertida, e, com o auxílio de uma alça de gancho previamente esterilizada, retira-se um fragmento fúngico da placa matriz e deposita-se no ponto central da nova placa. Por fim, as placas são incubadas em estufa, invertidas, entre 28–30 °C por aproximadamente 7 dias.

6.4 PUREZA E CONTAMINAÇÕES VISÍVEIS

A fim de identificar um microrganismo, o pesquisador deve ter certeza de estar trabalhando com uma colônia pura. Os métodos de isolamento devem servir para a obtenção de uma, mas para concluir que se atingiu o nível adequado de pureza deve-se ser capaz de identificar contaminações, seja a olho nu, seja por técnicas laboratoriais de identificação.

Numa primeira identificação macroscópica já deve ser possível identificar

boa parte das diferenças entre colônias. Analisar a forma e tamanho do crescimento da colônia, cor (tanto de sua superfície quanto do reverso da placa), textura, topografia, brilho e possíveis reações do meio ao redor da colônia podem oferecer bons *insights* quanto à identidade do microrganismo. Estas mesmas características serão utilizadas na identificação do microrganismo, porém também são bons apontadores da presença de diferentes cepas crescendo concomitantemente.

Com prática, o pesquisador deve ser hábil em identificar contaminações que não sejam nem mesmo óbvias. Às vezes a variação de uma colônia para outra é uma leve coloração diferente, ou uma textura que se diferencia da do microrganismo alvo, ou um tamanho de colônia distinta. É importante lembrar que as condições de crescimento dentro do meio e da placa de Petri vão ser as mesmas para todos os organismos ali presentes, então diferenças em seus aspectos vão ser exclusivamente causadas por serem de táxons diferentes.

7. MICROSCOPIA E TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO

Parte fundamental em qualquer laboratório de microbiologia é a observação dos organismos sob o microscópio. A microscopia vai permitir a observação de suas estruturas, e consequentemente a identificação e caracterização do microrganismo estudado. O preparo de uma lâmina para leveduras é mais simples, podendo ser o mesmo preparo empregado para bactérias (coloração de Gram). Para os fungos filamentosos o procedimento é mais complexo, considerando que tomar uma alçada de uma colônia irá descaracterizar as estruturas formadas pelas células. A lâmina a fresco para fungos filamentosos não é uma técnica completamente dispensável, uma vez que no dia a dia do laboratório pode fornecer informações importantes de forma rápida. Porém para uma análise mais completa, é necessário o emprego do microcultivo.

7.1 PREPARO DE LÂMINAS

Para a montagem de lâminas, Crous *et al.* (2019) descreve algumas opções de preparação para fungos. Uma das possibilidades, provavelmente a mais comum, é a de coletar uma parte do crescimento do microrganismo com uma alça de inoculação (ou do ágar no qual está crescendo), e depositar numa gota de água destilada posicionada numa lâmina devidamente limpa. Cobre-se esta gota com uma lamínula e posiciona-se a lâmina no microscópio para observação.

Outra possibilidade é utilizar uma fita adesiva. Corta-se um pequeno pedaço de fita adesiva, pressiona-a contra o crescimento do micélio. A parte adesiva é grudada em uma gota de ácido lático em uma lâmina. Outra gota é colocada sobre a parte não adesiva, e uma lamínula é posicionada. Esta técnica também permite

a observação microscópica da contaminação de qualquer superfície em que se grudar a fita adesiva, se assim for desejado. Também é uma opção que permite algumas observações de fungos filamentosos, como micélio aéreo ou quando é necessário estudar a esporulação sem muitos distúrbios à estrutura.

7.2 MICROCULTIVO

Uma técnica para observação de fungos filamentosos que preserva suas estruturas é o microcultivo. Como Crous *et al.* (2019) descreve, um pequeno quadrado de ágar é posicionado no centro de uma lâmina devidamente esterilizada. Então, com uma alça de inoculação, os quatro lados deste bloco de ágar são inoculados com o fungo alvo. Cobre-se este bloco de ágar com uma lamínula. Dentro da placa, porém sem encostar no esquema lâmina-ágar, coloca-se um pedaço de algodão embebido em água destilada, para manter a umidade. Fecha-se a placa de Petri, que é então cuidadosamente colocada para incubar.

Nota-se que o bloco de ágar deve ser menor do que a lamínula, porém não deve ser pequeno demais que os nutrientes se esgotem antes do crescimento adequado do fungo. Espera-se que o organismo cresça de maneira satisfatória, aderindo tanto à lamínula quanto à lâmina. Por isso é possível utilizar qualquer uma das duas para observação microscópica, bastando pingar uma gota do corante escolhido, como se fosse preparar uma lâmina a fresco.

7.3 COLORAÇÃO DE GRAM

A mesma coloração de Gram utilizada para bactérias pode ser utilizada para leveduras. Segundo Moreira, Carvalho e Frota, (2015), o procedimento para a coloração de Gram é como se segue:

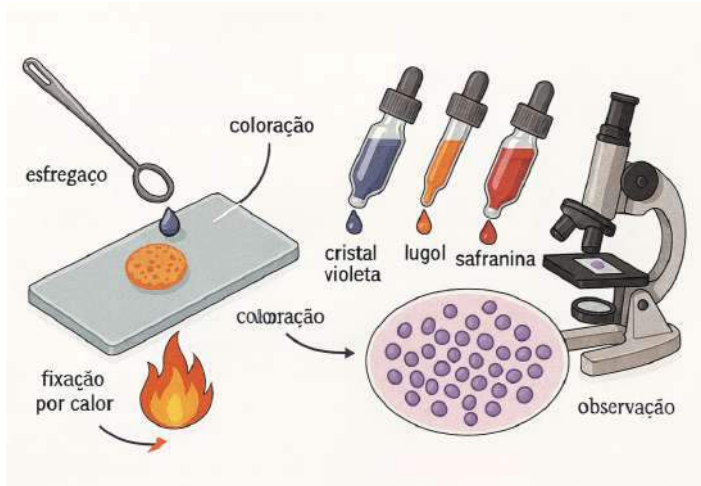
Prepara-se uma lâmina devidamente limpa. Posiciona-se uma gota de água destilada no centro da lâmina. Com uma alça de inoculação, coleta-se uma pequena quantidade do crescimento da colônia, e deposita-se na gota de água destilada. É ideal não carregar muito a alça.

Fixa-se o esfregaço por calor, rapidamente passando a lâmina na chama. Tomar o devido precaução para não “queimar” o esfregaço, que pode deteriorar as células. O objetivo é evaporar a água, deixando somente a biomassa de leveduras fixada na lâmina.

Procede-se então para a coloração: cobrir o esfregaço por 1 minuto com solução cristal violeta. Descartar, e lavar o esfregaço com água destilada. Cobrir então por 1 minuto com solução lugol. Descartar, e lavar novamente com água destilada. Cobrir o esfregaço por no máximo 15 segundos com acetona, ou álcool-cetona. Lavar com água destilada. Por fim, cobrir com a safranina por 30 segundos, descartando e lavando com água destilada.

Esperar a lâmina secar para fazer as observações no microscópio.

Figura 2 - Representação esquemática da coloração de Gram para leveduras



Fonte: Elaborado por Nascimento, M. M. F., com auxílio do ChatGPT (2025).

7.4 COLORAÇÕES

Para fungos filamentosos, é comum utilizar lactofenol azul de algodão. Para a preparação deste corante, segue-se o protocolo (CROUS *et al.*, 2019) (Universidade de Adelaide, [20–]):

Lactofenol azul de algodão

Ingredientes:

- 1 mL de azul de anilina aquoso 1%; 15 mL de fenol aquoso 15%; 4 mL de ácido acético.

Preparo:

- Lembre-se de utilizar luvas e jaleco.
- Em um béquer, adicione o fenol aquoso no ácido acético. Homogenize com um bastão de vidro ou com um agitador magnético. Adicione o azul de anilina. Misture novamente.
- Armazenar em um frasco escuro, à temperatura ambiente.

Para coloração de Gram, útil para a observação de leveduras,

utiliza-se cristal violeta, lugol e safranina, ou fucsina. Segue-se o protocolo (MOREIRA; CARVALHO; FROTA, 2015):

Cristal violeta

Ingredientes:

- Solução A: 2 g de violeta de metila; 100 mL de álcool etílico; 100 mL de álcool metílico.
- Solução B: 4 g de oxalato de amônio; 400 mL de água destilada.

Preparo:

- Lembre-se de utilizar luvas e jaleco.
- Em um béquer, misture os ingredientes da solução A. Homogenize, com um bastão de vidro ou com um agitador magnético.
- Em outro béquer, faça o mesmo para a solução B.
- Uma vez que cada solução está devidamente misturada e dissolvida, misture as duas. Deixe em repouso, à temperatura ambiente e longe da luz, por 24 horas.
- Após este período, filtre a solução, então armazene-a em um frasco escuro, à temperatura ambiente.

Lugol

Ingredientes:

- 3 g de iodo metálico; 4,5 g de iodeto de potássio; 450 mL de água destilada.

Preparo:

- Lembre-se de utilizar luvas e jaleco.
- Misture tudo em um béquer. Homogenize, utilizando bastão de vidro ou com agitador magnético. Armazene em frasco escuro, à temperatura ambiente.

Safranina

Ingredientes:

- 2,5 g de safranina; 500 mL de água destilada.

Preparo:

- Lembre-se de utilizar luvas e jaleco.
- Misture tudo em um béquer. Homogenize, seja com bastão de vidro ou agitador magnético. Armazene em frasco escuro, à temperatura ambiente.

8. TIPOS DE MICROSCOPIA

Um microscópio óptico tem capacidade de visualização de objetos de 200 nanômetros até 10 nanômetros (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Isso é o suficiente para observar as menores células de bactérias e leveduras possíveis. Um microscópio óptico emprega luz visível para iluminar o objeto de observação, dentre os quais tem os microscópios de campo claro, de contraste de fase, de contraste de interferência diferencial, de campo escuro e de fluorescência (MADIGAN *et al.*, 2016). Trataremos dos mais utilizados, que são os microscópios de campo claro e de contraste de fase.

O funcionamento do microscópio de campo claro se baseia numa fonte de luz focalizada sobre a lâmina através de uma lente chamada condensador. A imagem que o utilizador vê é formada por esse feixe de luz chegando em outras lentes, a objetiva e a ocular (MADIGAN *et al.*, 2016). Neste tipo de microscópio, a imagem depende do contraste entre o espécime e a luz, que não costuma ser forte. Por isso as lâminas costumam requerer coloração, para intensificar este contraste e tornar o objeto observado mais delineado. O problema deste método é que as células são inevitavelmente mortas no processo. Há alguns casos, entretanto, que dispensam a coloração, como nos casos de que o microrganismo é pigmentado naturalmente, por exemplo. Neste tipo de microscopia, o aumento possível de imagem não consegue ultrapassar 2.000x. Costumeiramente esse tipo de aparelho possui lentes oculares de aumento de 10x a 20x, enquanto possui também lentes oculares de 10x a 100x. Com uma lente objetiva de 100x, o uso de óleo de imersão se faz necessário, para a correção da refração da luz causada pelos vidros da lâmina e das lentes.

Na microscopia de contraste de fase, o espécime não necessita ser corado, logo, pode ser observado *in vivo*. Neste caso, as estruturas internas de uma célula também ficam mais nítidas. Para tal, o microscópio opera de maneira ligeiramente diferente do de campo claro. Uma célula possui um índice de refração diferente do índice de refração do meio em que está. Assim, a luz que tentar atravessar a célula terá uma diferença na fase em relação à luz que tenta atravessar o meio circundante (MADIGAN *et al.*, 2016) (TORTORA, FUNKE, CASE, 2017), e esta diferença que o microscópio aumenta e projeta para o visualizador. A imagem resultante é uma variação de um campo claro à tons de cinza e preto.

9. MORFOLOGIA MICROSCÓPICA DE LEVEDURAS

As leveduras são um tipo de fungo unicelular, compreendidos dentro dos grupos *Ascomycota* e *Basidiomycota* (CROUS *et al.*, 2019). Apesar do grupo “leveduras” apresentarem comportamento de desenvolvimento semelhante, compreende um grupo heterogêneo de táxons (CROUS *et al.*, 2019). Dentre os mais conhecidos tem-se a *Saccharomyces*, a *Candida* e a *Rhodotorula*.

9.1 FORMAS CELULARES

As possíveis formas celulares para leveduras são variadas. Podem ser elípticas, esféricas ou até mesmo cilíndricas (CAPPUCCINO; WELSH, 2018), apesar de que Yarrow (1998) descreve ainda mais formas possíveis. Em alguns casos a forma vai ser específica do táxon, porém em outras pode ser um resultado da reprodução.

9.2 MECANISMOS DE REPRODUÇÃO

A maneira quase padrão de reprodução das leveduras é por brotamento, com poucas exceções (CROUS *et al.*, 2019). As maneiras de reprodução vegetativas, além do brotamento, compreendem o método da fissão e as pseudo hifas. Há também a reprodução sexuada, na qual a levedura vai formar ascósporos.

No caso do brotamento, a célula mãe cresce para formar um broto em seu corpo, uma protuberância que cresce e eventualmente se desprende do corpo da célula mãe, formando a célula filha. É possível que vários brotos se formem em sequência, numa espécie de corrente de diferentes gerações. Não há uma posição específica no corpo da célula da qual a célula filha pode brotar (CROUS *et al.*, 2019; YARROW, 1998).

O método de fissão ocorre quando as células se dividem de maneira semelhante à qual as bactérias se dividem. É característico do gene *Schizosaccharomyces* (CROUS *et al.*, 2019; CAPPUCCINO; WELSH, 2018).

Quanto às pseudo hifas, algumas espécies de leveduras formam estruturas que se assemelham às hifas dos fungos filamentosos, com a diferença de que elas não formam uma estrutura multicelular. Isso ocorre quando uma série de células alongadas permanecem ligadas. Quando a “hifa” é quebrada, as células se separam. Isso pode ocorrer, por exemplo, com a *Candida albicans*. As questões nutricionais do meio podem influenciar nesta ocorrência (YARROW, 1998).

9.3 ESTRUTURAS OBSERVÁVEIS

O que diferencia as leveduras dos fungos filamentosos é sua característica unicelular. Apesar de, em alguns casos, formar pseudo hifas, as leveduras não vão

apresentar estruturas mais complexas como hifas aéreas ou esporângios de suporte.

Uma característica facilmente observável será o brotamento. Células com uma protuberância, ou que parecem grudadas uma na outra indicam brotamento. Em alguns casos pode haver várias células em brotamento em sequência (blastoconídios).

As pseudo hifas, como podem ser vistas no caso da *Candida albicans*, por exemplo, podem parecer quase como um micélio. Essas estruturas podem apresentar diversas células arredondadas, tipo leveduras, chamadas conídias, brotando em suas extremidades e laterais. As conídias podem apresentar brotamento por si só também. Uma literatura sugerida para auxiliar na identificação é Barnett e Hunter (1998).

Quadro 2 - Comparação entre os principais gêneros de leveduras

Gênero/Espécie	Textura	Cor da colônia	Brilho	Topografia	Observação:
<i>Candida albicans</i>	Lisa, cremosa	Creme	Acetinado	Convexa	Principal levedura patogênica humana; causa candidíase.
<i>Candida glabrata</i>	Lisa, cremosa	Bege-claro	Pouco brilho	Convexa	Patógeno oportunista; resistência frequente a fluconazol.
<i>Candida tropicalis</i>	Lisa, cremosa	Branco	Brilhante	Convexa	Associada a infecções graves em imunossuprimidos.
<i>Candida krusei</i>	Seca, rugosa	Bege e marrom	Pouco brilho	Plana	Patógeno emergente; naturalmente resistente a fluconazol.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cremosa, pastosa	Bege	Suave	Convexa	Usada em fermentações alcoólicas e panificação; modelo biotecnológico.
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Cremosa, úmida	Bege-claro	Brilhante	Convexa	Usada como probiótico contra diarreias.
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Lisa, úmida	Rosa e laranja	Brilhante	Convexa	Pigmentada; patógeno oportunista em imunossuprimidos.

<i>Cryptococcus neoformans</i>	Mucoide, viscosa	Branco a creme	Brilhante	Convexa	Causa neurocriptococose em pacientes HIV+.
<i>Cryptococcus gattii</i>	Mucoide, viscosa	Creme e bege	Brilhante	Convexa	Patógeno primário em imunocompetentes (infecção pulmonar/neurológica).
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	Lisa, cremosa	Branco	Suave	Convexa	Associada a infecções em corrente sanguínea.
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Lisa, seca	Branco	Pouco brilho	Plana	Usada em pesquisas de ciclo celular; reproduz por fissão binária.
<i>Pichia kudriavzevii</i>	Lisa, cremosa	Branco	Suave	Convexa	Usada em fermentações alimentares (cacau, café).
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Lisa, seca	Branco	Pouco brilho	Plana	Tolerante a sal; usada em curagem de queijos e embutidos.
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Lisa, cremosa	Amarela-clara	Brilhante	Convexa	Produz lipases e ácidos graxos de interesse industrial.
<i>Malassezia furfur</i>	Cremosa, úmida	Branca a creme	Brilhante	Convexa	Parte da microbiota da pele; associada a dermatite seborreica.

Fonte: Elaborado por Oliveira, S. A. L., com base nas informações de microrganismos da Rede Specieslink (2025).

Quadro 3 – Principais estruturas microscópicas de leveduras

Gênero/Espécie	Formato celular
<i>Candida albicans</i>	Oval a alongada
<i>Candida glabrata</i>	Esférica
<i>Candida tropicalis</i>	Oval

<i>Candida krusei</i>	Alongada
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Oval a esférica
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Oval
<i>Rhodotorula spp.</i>	Esférica
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Esférica
<i>Cryptococcus gattii</i>	Esférica
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Cilíndrica
<i>Pichia spp.</i>	Oval
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Oval
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Oval
<i>Malassezia furfur</i>	Oval
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Oval

Fonte: Elaborado por Oliveira, S. A. L., com base nas informações de leveduras depositadas na CMIB-PG (2025).

10. MORFOLOGIA MICROSCÓPICA DE FUNGOS FILAMENTOSOS

Diferentemente das leveduras, os fungos filamentosos, também chamado de bolores, são estruturas multicelulares. É possível identificá-los rapidamente pela sua aparência física macro e microscópica, enquanto as leveduras podem demandar um pouco mais de técnicas para diferenciá-las de bactérias. Sua principal característica será, então, a formação de hifas, apesar de haver outras estruturas observáveis também importantes. Os fungos filamentosos estão presentes nos grupos *Chytridiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Zoopagomycota*, *Mucoromycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota* (segundo classificação apresentada por Crous *et al.* (2019), onde é esclarecido que a denominação comum “Zygomycota” é, na verdade, uma junção dos filis *Zoopagomycota* e *Mucoromycota*).

10.1 ESTRUTURAS BÁSICAS

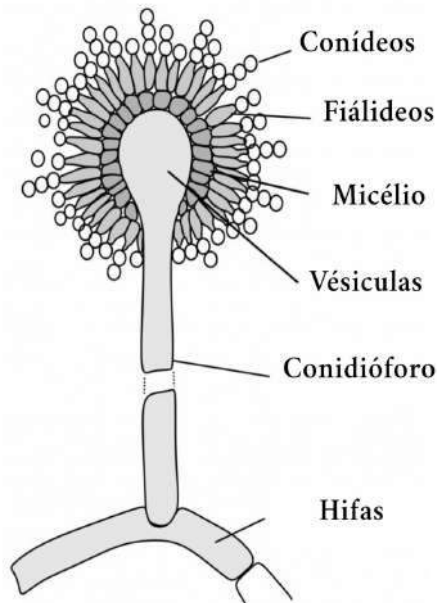
Como já mencionado, o principal ponto a respeito da morfologia dos fungos filamentosos são as hifas. São longos filamentos (por isso sua denominação como “filamentosos”) de células conectadas uma à ponta da outra (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). A estrutura da hifa se deve pela parede celular assumir uma forma tubular, que ao envolver a membrana citoplasmática de diversas células, as alinha e forma a hifa (MADIGAN *et al.*, 2016). Em sua

grande maioria, esta parede celular irá envolver a célula ao todo, tornando visível a divisão de uma célula para outra, recebendo então o nome de hifa septada.

Porém, há casos que fogem à regra. Algumas espécies pertencentes aos grupos *Zoopagomycota* e *Mucoromycota* apresentam hifas não septadas, ou, então, hifas cenocíticas. Nesta situação, a parede celular que forma a hifa não forma as paredes transversais que separam cada célula. Ao observar a estrutura, será possível ver um filamento longo e contínuo (MADIGAN *et al.*, 2016; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; CROUS *et al.*, 2019).

Estas estruturas se desenvolvem concomitantemente e em tal tamanho que seu conglomerado, à olho nu, se parece com tufos. Esta estrutura macroscópica é chamada de micélio (MADIGAN *et al.*, 2016; CAPPUCCINO, WELSH, 2017). O micélio é formado por hifas vegetativas, que se desenvolvem ao longo do substrato com o objetivo de captar nutrientes, e sob as condições propícias, pode ter uma outra porção de hifas relacionadas à reprodução, que se desenvolvem acima da superfície, chamadas hifas aéreas (MADIGAN *et al.*, 2016; CAPPUCCINO; WELSH, 2017; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Figura 3 - Morfologia básica de fungos filamentosos



Fonte: Elaborada por Oliveira, S. A. L., (2025).

10.2 ESTRUTURAS REPRODUTIVAS

As hifas aéreas possuem em suas extremidades estruturas especializadas chamadas de conidióforos. Sua função é produzir esporos, os conídios, que compõem a reprodução assexuada dos fungos filamentosos. Sua presença confere ao micélio uma aparência pulverulenta (MADIGAN *et al.*, 2016). Esta estrutura está presente, por exemplo, nos *Penicillium* e nos *Aspergillus* (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Microscopicamente sua aparência é de cadeias de pequenas bolinhas atreladas às pontas das hifas (CAPPUCCINO; WELSH, 2017).

Outra estrutura, semelhante em função, porém com aparência diferente, é a do esporângio. Produzido por *Rhizopus* e *Mucor*, por exemplo, o esporângio se assemelha a uma bolsa, presente na extremidade de uma hifa aérea. Em seu interior há centenas de esporos chamados esporangiósporos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Microscopicamente parece com uma bolha, encapsulando diversas bolinhas em seu interior (CAPPUCCINO; WELSH, 2017).

Quadro 4 - Comparação entre os principais gêneros de fungos

Gênero/ Espécie	Textura	Cor da colônia (face superior)	Pigmentação do reverso	Crescimento (25–30 °C)	Observações:
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aveludada, pulverulenta	Verde- acinzentado	Incolor	Rápido	Patógeno humano mais relevante do gênero; principal agente de aspergilose invasiva.
<i>Aspergillus niger</i>	Aveludada a pulverulenta	Marrom	Amarelado	Rápido	Amplamente usado na indústria para produção de ácido cítrico e enzimas; algumas linhagens produzem fumonisinas; patógeno oportunista (otomicoses).
<i>Aspergillus flavus</i>	Algodão, granular	Amarelo- esverdeado	Amarelo	Moderado	Produtor de aflatoxinas (altamente carcinogênicas); patógeno humano e animal; contamina grãos e oleaginosas.

<i>Penicillium chrysogenum</i>	Aveludada, pulverulenta	Verde-azulado	Amarelado	Rápido	Fonte histórica de penicilina; produção industrial de antibióticos.
<i>Penicillium expansum</i>	Algodão a flocosa	Verde-azulado	Amarelado	Moderado	Principal agente de podridão em maçãs; produz patulina, micotoxina relevante em sucos.
<i>Fusarium oxysporum</i>	Algodão, flocosa	Rosa, lilás	Avermelhado	Moderado	Fitopatógeno agressivo em várias culturas; produção de micotoxinas (tricotecenos, fumonisinas).
<i>Fusarium verticillioides</i>	Algodão, aveludada	Branca a lilás	Roxo-claro	Moderado	Produtor clássico de fumonisinas (B1, B2); associado à leucoencefalomalácia equina e câncer de esôfago em humanos.
<i>Trichoderma harzianum</i>	Algodão, compacta	Verde intenso	Incolor	Rápido	Amplamente usado na agricultura como biocontrolador; secreta enzimas hidrolíticas (celulases, quitinases).
<i>Trichoderma viride</i>	Algodão, compacta	Verde esmeralda	Incolor	Rápido	Amplamente utilizado na agricultura como agente de biocontrole, pois produz enzimas hidrolíticas (celulases, quitinases, glucanases).
<i>Mucor spp.</i>	Algodão, cotonosa	Branca a cinza	Incolor	Muito rápido	Usado em fermentações tradicionais (queijos, bebidas); pode causar mucormicose em humanos imunossuprimidos.
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Algodão, cotonosa	Cinza-escuro	Incolor	Muito rápido	Mofa do pão (patógeno).

<i>Alternaria alternata</i>	Aveludada, flocosa	Castanho-escuro	Escuro	Moderado	Produz micotoxinas (alternariol, tenuazonic acid); fitopatígeno em hortaliças e frutas; associado a alergias respiratórias.
<i>Cladosporium spp.</i>	Aveludada, pulverulenta	Verde-oliva a marrom	Escuro	Lento a moderado	Fungos de esporos livres no ar, produtor de pigmentos melanínicos que conferem resistência, também produzem cladosporina (com ação antifúngica contra outros fungos).
<i>Curvularia spp.</i>	Algodão, flocosa	Marrom-escuro	Escuro	Moderado	Fitopatógenos importantes em gramíneas (arroz, milho, trigo).
<i>Scedosporium spp.</i>	Algodão, aveludada	Cinza a preto	Escuro	Moderado	Patógeno oportunista (micoses subcutâneas e sistêmicas); resistente a antifúngicos.

Fonte: Elaborada por Oliveira, S. A. L., com base nas informações da Rede Specieslink (2025).

Quadro 5 - Principais estruturas microscópicas de fungos filamentosos

Gênero/Espécie	Estruturas microscópicas
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Conidióforos curtos, cabeças radiadas
<i>Aspergillus Niger</i>	Conidióforos negros
<i>Aspergillus flavus</i>	Vesículas grandes, conídios amarelos
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Conidióforos em “pincel”
<i>Penicillium expansum</i>	Conidióforos ramificados
<i>Fusarium oxysporum</i>	Macro e microconídios
<i>Fusarium verticillioides</i>	Macroconídios delgados
<i>Trichoderma harzianum</i>	Conidióforos curtos
<i>Trichoderma viride</i>	Conidióforos compactos
<i>Mucor spp.</i>	Esporângios globosos
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Esporângios grandes

<i>Alternaria alternata</i>	Conídios multicelulares
<i>Cladosporium spp.</i>	Conídios em cadeias
<i>Curvularia spp.</i>	Conídios curvos
<i>Scedosporium spp.</i>	Conídios únicos

Fonte: Elaborada por Oliveira, S. A. L., com base nas informações da rede Specieslink (2025).

Através das imagens capturadas em laboratório, foi possível observar a morfologia macroscópica das colônias fúngicas, conforme ilustrado na Figura 4.

Figura 4 - Fungos inoculados em ponto único



Fonte: Elaborada por Oliveira, S. A. L., (2025).

A figura apresenta placas de BDA inoculadas pela metodologia do ponto central, nas quais se nota o crescimento dos isolados fúngicos: o isolado 1 verso - A apresenta centro rosado e bordas brancas, o reverso - B apresenta coloração rosada com alteração na tonalidade do meio; o isolado 2 verso - C apresenta região central verde-azulada e extremidades brancas, o reverso - D apresenta coloração predominantemente branca; o isolado 3 verso - E apresenta centro alaranjado e bordas rosa-claro; e o reverso - F apresenta centro laranja e extremidades brancas. A e B - CMIB 154; C e D - CMIB-167 e E e F - CMIB-282.

10.3 APLICAÇÕES PRÁTICAS E LIMITAÇÕES DA MORFOLOGIA

A caracterização morfológica de fungos e leveduras constitui uma etapa tradicional e fundamental na Micologia. Na prática clínica, a avaliação de características fenotípicas, como coloração, textura e velocidade de crescimento em meios específicos, ainda vem sendo muito utilizada como triagem inicial para patógenos oportunistas como *Candida* spp., *Cryptococcus* spp. e fungos filamentosos de relevância médica (GUPTA *et al.*, 2020). Na indústria, especialmente nas áreas de alimentos e biotecnológica, a identificação morfológica é empregada no controle de qualidade, monitorando a presença de fungos deteriorantes como as espécies do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* ou leveduras contaminantes em processos fermentativos (PITT; HOCKING, 2009). Já em pesquisas ambientais, o estudo morfológico continua sendo relevante para reconhecer grupos funcionais associados a processos de decomposição, ciclagem de nutrientes e interações simbióticas, como micorrizas (BALDRIAN, 2019).

Entretanto, esse método apresenta certas limitações. Muitas espécies de fungos apresentam morfologia convergente, tornando difícil a distinção apenas por caracteres macroscópicos e microscópicos – por exemplo, entre espécies próximas de *Aspergillus* ou *Candida* (HOUBRAKEN; FRISVAD; SAMSON, 2014; TAVANTI *et al.*, 2005). Além disso, fatores ambientais como composição do meio, temperatura de incubação e tempo de cultivo podem modificar as características fenotípicas, dificultando a padronização e aumentando a subjetividade da análise (SAMSON *et al.*, 2014).

Nesse contexto, os métodos moleculares representam ferramentas complementar a identificação morfológica. O sequenciamento da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) é amplamente aceito como marcador universal para fungos (WHITE *et al.*, 1990, SCHOCH *et al.*, 2012), permitindo diferenciar espécies com morfologias similares. Técnicas como PCR, PCR-RFLP e sequenciamento multilocus (ex.: β -tubulina, calmodulina, EF-1 α) têm sido aplicadas para resolver grupos taxonômicos complexos e identificar espécies emergentes em contextos clínicos e ambientais (LÜCKING *et al.*, 2020).

Dessa forma, a abordagem mais adequada é utilizar a morfologia como etapa inicial de triagem, seguida de confirmação molecular quando necessária, seja para diagnósticos médicos, biossegurança ou bioprospecção. Recentemente, estudos como o de Olumuyiwa *et al.*, (2025) ilustraram como a identificação de fungos patogênicos em frutas (maças) combina caracterização morfológica com confirmação molecular via ITS, reforçando a necessidade de uma abordagem integrada.

Além das aplicações clínicas, industriais e ambientais, a análise morfológica de fungos e leveduras permanece de forma estratégica em contextos de menor infraestrutura laboratorial, onde métodos moleculares ainda não são acessíveis. Nessas situações, a caracterização fenotípica fornece

informações iniciais para monitoramento epidemiológico, identificação de surtos e até seleção preliminar de isolados para bioprospecção (KURTZMAN *et al.*, 2011). Além disso, a morfologia possui relevância didática, favorecendo a formação de estudantes e pesquisadores na compreensão da diversidade fúngica, sendo o primeiro contato com a micologia aplicada. Dessa forma, apesar das limitações, a análise morfológica mantém seu valor não apenas como técnica auxiliar, mas também como ferramenta de treinamento científico.

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A morfologia continua a desempenhar um papel importante na micologia, representando a primeira etapa de caracterização de fungos e leveduras. Embora limitada pela plasticidade fenotípica e pela similaridade entre espécies, mantém-se como ferramenta para a triagem rápida e de baixo custo.

Reforça-se a importância do uso de chaves de identificação, descrições taxonômicas atualizadas e recursos visuais digitais que auxiliem na padronização da análise. Quando integrada a técnicas moleculares, a morfologia não perde relevância, mas se fortalece como parte de uma estratégia polifásica de identificação, assegurando precisão na identificação e no entendimento da diversidade fúngica.

REFERÊNCIAS

ATLAS, R. M. **Handbook of Microbiological Media**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. Disponível em: <https://encurtador.com.br/RXra>. Acesso em: 10 jan. 2026.

BALDRIAN, P. Microbial activity and the dynamics of ecosystem processes in forest soils. **Current Opinion in Microbiology**, v. 49, p. 128–135, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527416301564>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. 4. ed. Minnesota: APS Press, 1998.

BILLS, G. F. et al. Saprobic soil fungi. In: MUELLER, G. M.; BILLS, G. F.; FOSTER, M. S. (org.). **Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods**. Amsterdam: Elsevier, 2004. p. 271-302.

CAPPUCCINO, J. G.; WELSH, C. **Microbiology: A Laboratory Manual**. 11. ed. Essex: Pearson Education, 2017.

CROUS, P. W. et al. **Fungal Biodiversity**. Utrecht: Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, 2019.

CRUZ, A. C. R. da; GUSMÃO, L. F. P. Fungos conidiais na Caatinga: espécies associadas ao folheto. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 4, p. 999-1012, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abb/a/HdXJXCrrwbRGkD8cdTPL5vK/?lang=pt>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

DE HOOG, G. S. et al. Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 4, p. 1056–1062, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25297326/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

DE VRIES, R. P. et al. Comparative genomics reveals high biological diversity and specific adaptations in the industrially and medically important fungal genus *Aspergillus*. **Genome Biology**, v. 18, n. 28, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28196534/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

FORBES, B. A.; SAHM, D. F.; WEISSFELD, A. S. **Bailey; Scott's Diagnostic Microbiology**. 14. ed. St. Louis: Elsevier, 2018.

GAMS, W. The analysis of communities of saprophytic microfungi with special reference to soil fungi. In: WINTERHOFF, W. *Fungi in Vegetation Science*. Dordrecht: **Springer Science+Business Media**, 1992. p. 183-223.

GUPTA, C.; PRAKASH, D.; GUPTA, S. Morphological and cultural characterization of pathogenic fungi. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 9, n. 5, p. 1532–1542, 2020.

HAWKSWORTH, D. L. et al. Ainsworth; Bisby's Dictionary of the Fungi. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 38, n. 4, p. 272, 1996. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/ML6GYHc5rrYNWJTGPmCqv9S/?lang=pt>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

HAWKSWORTH, D. L.; LÜCKING, R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 4, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28752818/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

HIBBETT, D. S. et al. Sequence-based classification and identification of fungi. **IMA Fungus**, v. 11, n. 14, p. 1–16, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27760854/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Taxonomy of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces*. **Studies in Mycology**, v. 78, p. 141–173, 2014. Disponível em: https://www.studiesinmycology.org/sim/Sim95/Classification-of-Aspergillus--Penicillium--Talaromyces-and-rel_2020_Studies.pdf. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

JOHNSON, L. F.; CURL, E. A. **Methods for Research on the Ecology of Soilborne Plant Pathogens**. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1972.

KIRK, P. M. et al. **Dictionary of the Fungi**. 11. ed. Wallingford: CABI Publishing, 2008.

KLICH, M. A. Identification of Common *Aspergillus* Species. Utrecht: **Centraalbureau voor Schimmelcultures**, 2002. Disponível em: <https://wi.knaw.nl/images/publications/AspergillusSpecies.pdf>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W. (Ed.). **The Yeasts: a Taxonomic Study**. 4. ed. Amsterdam: Elsevier Science, 1998.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. **The yeasts: a taxonomic study**. 5. ed. Elsevier, 2011. Disponível em: <https://encurtador.com.br/yyQA>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

LACTOPHENOL Cotton Blue (LPCB). **The University of Adelaide**. 2021. Disponível em: <https://www.adelaide.edu.au/mycology/laboratorymethods/lactophenol-cotton-blue-lpcb>. Acesso em: 7 ago. de 2025.

LÜCKING, R. et al. Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding? **IMA Fungus**, v. 11, n. 1, p. 14, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s43008-020-00033-z>. Acesso em: 10 de ago. de 2025.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Disponível em: <https://encurtador.com.br/FCbI>. Acesso em: 10 de ago. de 2025.

MAIA, L. C. et al. Diversity of Brazilian fungi. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1033–1045, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rod/a/n98JMXKKGvhdCJr3YmCw3mm/?lang=en>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

MAIA, L. C.; CARVALHO JUNIOR, A. A. Introdução: os fungos do Brasil.

In: FORZZA, R. C. (org.) et al. Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio; **Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v. 1, p. 43-48, 2010. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/z3529/pdf/forzza-9788560035083-05.pdf>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

McCLENNY, N. Laboratory detection and identification of *Aspergillus* species by microscopic observation and culture: the traditional approach. **Medical Mycology**, v. 43, Suplemento 1, p. S125–S128, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16110804/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

MEYER, V. et al. Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 7, n. 5, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32280481/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

MOREIRA, J. L. B.; CARVALHO, C. B. M. de; FROTA, C. **C. Visualização bacteriana e colorações**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2015. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/16672/1/2015_liv_jlbmoreira.pdf. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

OLUMUYIWA, F. S. et al. Morphological and molecular identification of fungi isolated from spoilt apples in Ota metropolis. **BMC Microbiology**, v. 25, n. 28, 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40481409/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 3. ed. Dordrecht: Springer, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Atef_Hassan4/post/Can_you_identify_this_fungal_growth_Fungi_F/attachment/59d6220279197b80779805e0/AS%3A299455162142722%401448407082568/download/Fungi_and_Food_Spoilage_3rd_Edition_0387922067.pdf. Acesso em: 10 de jan. de 2026.
PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 3. ed. Springer, 2009.

RADOSA, S. et al. The different morphologies of yeast and filamentous fungi trigger distinct killing and feeding mechanisms in a fungivorous amoeba. **Environmental Microbiology**, v. 21, n. 5, p. 1809–1820, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30868709/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

ROGERS, K. **Fungi, Algae and Protists: Biochemistry, Cells, and Life**. New York: Rosen Education Service, 2011.

SAMSON, R. A. et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus

Aspergillus. **Studies in Mycology**, v. 78, p. 141–173, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25492982/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

SCHOCH, C. L. et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 109, n. 16, p. 6241–6246, 2012. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1117018109>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

TAVANTI, A. et al. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 284–292, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15634984/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

TERRONES-FERNANDEZ, I. et al. Improvement of the pour plate method by separate sterilization of agar and other medium components and reduction of the agar concentration. **Microbiologyspectrum**, v. 11, n. 1, p. e0316122, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36625633/>. Acesso em: 10 de jan. de 2026.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 17. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. YARROW, D. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. In: KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W. **The Yeasts**. Amsterdam: Elsevier, 1998. p. 77-100.



Microrganismos Solubilizadores de Fósforo: Pseudomonas Fluorescens como Solubilizadora de Fósforo - Vias Metabólicas e Bioprocesso

*Daniele Hneda
Breno Cecere Vaz*

*Mariana Machado Fidelis do Nascimento
Juliana Vitória Messias Bittencourt*

CAPÍTULO

05

1. INTRODUÇÃO

O fósforo é um nutriente essencial para as plantas, mas a sua forma orgânica e inorgânica no solo, apesar de abundantes, não são facilmente absorvidos pelas raízes das plantas. Na natureza eles podem ser encontrados em sua forma inorgânica, formando minerais ou em sua forma orgânica encontrada na matéria orgânica.

O uso de químicos é uma opção para atender a demanda por fósforo nos cultivares, porém leva à deterioração do ecossistema, bem como a um desequilíbrio na microbiota do solo. Consequentemente, há uma demanda por uma estratégia alternativa, econômica e ecologicamente correta para a biosolubilização do fósforo. Dentre as alternativas que possibilitam a melhoria na eficiência da entrega de fósforo, destaca-se a ação dos microrganismos solubilizadores que são capazes de solubilizar o fósforo do solo e entregá-lo à planta.

Os microrganismos realizam a solubilização do fósforo de diversas formas, tais como a produção de ácidos orgânicos e inorgânicos, redução de pH, bem como a produção de enzimas fitases e fosfatases. Eles atuam como verdadeiros agentes de liberação, transformando o fósforo que está em formas presas no solo, seja em minerais ou na matéria orgânica, em íons de fosfato, a única forma que as raízes das plantas conseguem absorver e utilizar para seu crescimento.

Dentre as bactérias, destaca-se a *Pseudomonas fluorescens*, uma bactéria solubilizadora de fósforo que age quebrando as ligações do fósforo insolúvel no solo, tornando-o disponível para as plantas. O processo ocorre principalmente pela produção de ácidos orgânicos, como o ácido glucônico, e/ou pela diminuição do pH do solo pelos microrganismos, que acabam auxiliando na solubilização do fosfato.

Logo, esse capítulo tem como objetivo mostrar os principais microrganismos solubilizadores do fósforo e os mecanismos mais utilizados por eles na solubilização do fósforo, com um destaque para as vias metabólicas e bioprocessos de produção da bactéria *Pseudomonas fluorescens*, uma das principais solubilizadoras de fósforo.

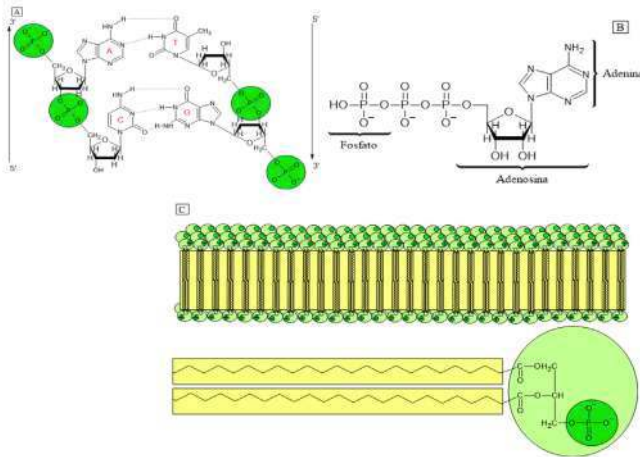
2. IMPORTÂNCIA DO FÓSFORO

Um dos fatores que afetam o crescimento vegetal é a disponibilidade de nutrientes, principalmente, no caso dos solos brasileiros, a de fósforo (P). A essencialidade do fósforo para as plantas é amplamente reconhecida, uma vez que desempenha um papel fundamental em processos metabólicos e no crescimento vegetal (SANTOS *et al.*, 2008).

O fósforo é um dos elementos essenciais para o desenvolvimento das plantas, uma vez que desempenha diversas funções fisiológicas e bioquímicas nos vegetais. Ele é requerido no processo de transferência e estocagem de energia na molécula de Trifosfato de Adenosina (ATP) que é a principal fonte de energia

para a realização de processos essenciais da planta. Também é essencial na síntese e estruturação de DNA e RNA e como um dos principais componentes da membrana citoplasmática (fosfolipídios), atuando na sua função e estabilidade, bem como afetando os sistemas de transporte de membrana (SASABUCHI *et al.*, 2023).

Figura 1 - Fosfato presente na estrutura do DNA (A) e do ATP (B) e na composição da membrana plasmática (C).



Fonte: Os autores (2025).

No solo o fósforo está presente tanto na forma orgânica como na forma inorgânica. A forma orgânica está associada à matéria orgânica do solo em decomposição, como restos de plantas e animais. A forma inorgânica, por sua vez, está presente em minerais do solo e é geralmente menos disponível do que a forma orgânica (SANTOS, 2008; RHEINHEIMER, 2001).

Diversos microrganismos do solo, incluindo bactérias e fungos, possuem capacidade para solubilizar fosfatos por meio de diferentes mecanismos, especialmente pela produção de ácidos. Eles são denominados de Microrganismos Solubilizadores de Fósforo (MSPs), pois são organismos que transformam o fósforo insolúvel do solo em uma forma disponível para as plantas (RAWAT *et al.*, 2020).

Os MSPs solubilizam o fosfato por meio de vários mecanismos, como a exsudação de ácidos orgânicos, a excreção de enzimas e a degradação do substrato. Na exsudação de ácidos orgânicos, os microrganismos liberam ácidos orgânicos e prótons que dissolvem o material fosfático. Na excreção de enzimas extracelulares, os microrganismos liberam enzimas que hidrolisam o fósforo orgânico. Na degradação do substrato via mineralização, os microrganismos liberam o fósforo para o solo de forma imediata. E na diminuição do pH do solo, os microrganismos diminuem o pH do solo, o que auxilia na solubilização do fosfato (SHARMA, 2013)

No entanto, apesar de existirem várias formas de solubilização de fósforo, os ácidos orgânicos são as principais vias para a solubilização desse elemento. De todos os ácidos orgânicos, o ácido glucônico é o agente mais frequente de solubilização de fosfato mineral; ele quebra os cátions ligados ao fosfato, tornando o fosfato disponível para as plantas. Esse ácido é o principal ácido liberado pela *Pseudomonas fluorescens*, o que faz com que ela seja um dos principais microrganismos solubilizadores desse elemento (ALORI, 2017).

Logo, a inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfatos, como a *P. fluorescens*, em áreas de diversos cultivos têm sido sugeridos como forma de substituir ou diminuir o uso de fertilizantes fosfáticos solúveis, mediante um melhor aproveitamento dos fosfatos naturais existentes ou adicionados ao solo para o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável. Essa inoculação é realizada por meio de inoculantes microbianos, que são bioprodutos com microrganismos vivos que, quando aplicados ao solo, sementes ou folhas, são capazes de aumentar o crescimento e o desenvolvimento de plantas (FLORENCIO *et al.*, 2022).

3. MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO

Como vimos, os microrganismos solubilizadores de fósforo (MSPs) são os organismos que têm o potencial de converter o fósforo insolúvel presente no solo em uma forma disponível para as plantas, ou seja, são captadores de fósforo. Os organismos envolvidos nas transformações de P no solo incluem bactérias, fungos, protozoários e alguns nematóides (WANG, 2023; ALORI, 2017).

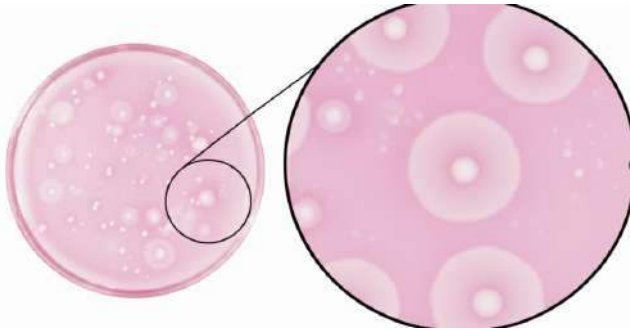
Dentre os MSPs estão as bactérias, das quais destacam-se linhagens pertencentes aos gêneros *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Exiguobacterium*, *Natrinema*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Serratia* já relatadas como solubilizadores de P eficientes e potenciais (KOUR *et al.* 2021; WANG, 2023; ALORI, 2017).

Os fungos também se destacam como solubilizadores, sendo os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Trichoderma*, *Hymenella*, e *Neosartorya* sendo os mais conhecidos por sua capacidade de solubilização de fosfato (ALORI, 2017; RAWAR *et al.*, 2020; WANG, 2023).

Para verificar se um microrganismo possui capacidade de solubilização de fósforo, são realizados testes microbiológicos, os quais mostram a formação de um halo de solubilização. Para observar esse fenômeno, cultiva-se os microrganismos em um meio de cultura sólido em placa de petri que contém uma fonte de fósforo insolúvel, geralmente na forma de fosfato de cálcio. Como o fosfato de cálcio não é solúvel, o meio de cultura tem um aspecto opaco. À medida que o microrganismo cresce e se multiplica, ele libera os ácidos e enzimas que solubilizam o fósforo. Esse processo cria uma área transparente ao redor da

colônia, que é o halo de solubilização. Quanto maior for esse halo, maior é o potencial do microrganismo para solubilizar o fósforo (VASQUES, 2024).

Figura 2 - Microrganismos solubilizadores de fósforo (halo de solubilização do fósforo)

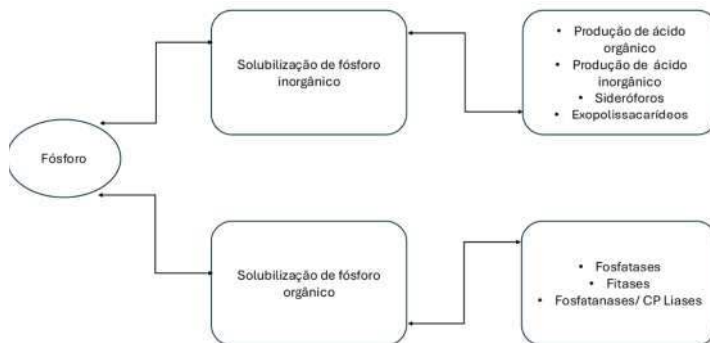


Fonte: Os autores (2025).

4. MECANISMOS UTILIZADOS PARA SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO

A solubilização de fosfato orgânico e inorgânico por microrganismos é um processo vital para a nutrição das plantas em sistemas agrícolas. Porém, o fósforo no solo está, em sua maior parte, “preso” em formas não solúveis, como minerais de fosfato de cálcio, ferro e alumínio. Logo, os microrganismos, como certas bactérias e fungos, atuam diretamente nessas formas, convertendo-as em fosfato solúvel que as plantas possam absorvê-lo. Assim, os fosfatos inorgânicos e orgânicos presentes no solo podem ser solubilizados das seguintes maneiras:

Figura 3 - Apresentação esquemática de solubilização de fosfato por Microrganismos Solubilizadores de Fosfato



Fonte: Os Autores (2025).

5. MECANISMOS UTILIZADOS PARA SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO INORGÂNICO

Segundo Alori et al. (2017), a solubilização de fosfato orgânico e inorgânico por microrganismos é um processo vital para a nutrição das plantas em sistemas agrícolas. Porém, o fósforo no solo está, em sua maior parte, “preso” em formas não solúveis, como minerais de fosfato de cálcio, ferro e alumínio. Logo, os microrganismos, como certas bactérias e fungos, atuam diretamente nessas formas, convertendo-as em fosfato solúvel que as plantas possam absorvê-lo. Assim, os fosfatos inorgânicos e orgânicos presentes no solo podem ser solubilizados das seguintes maneiras:

5.1 PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

Este é o mecanismo mais importante de solubilização de fósforo. Os microrganismos produzem ácidos como o cítrico, glucônico e oxálico que, ao serem liberados no solo, diminuem o pH e quelatizam cátions como Fe^{3+} , Al^{3+} e Ca^{2+} . Essa ação quebra a ligação do fósforo com os minerais, liberando-o em uma forma solúvel. Outrossim, a via de oxidação direta constitui um dos mecanismos metabólicos mais eficiente utilizado pelos microrganismos solubilizadores de fosfato para converter o fósforo insolúvel em uma forma disponível para as plantas (ALORI, 2017).

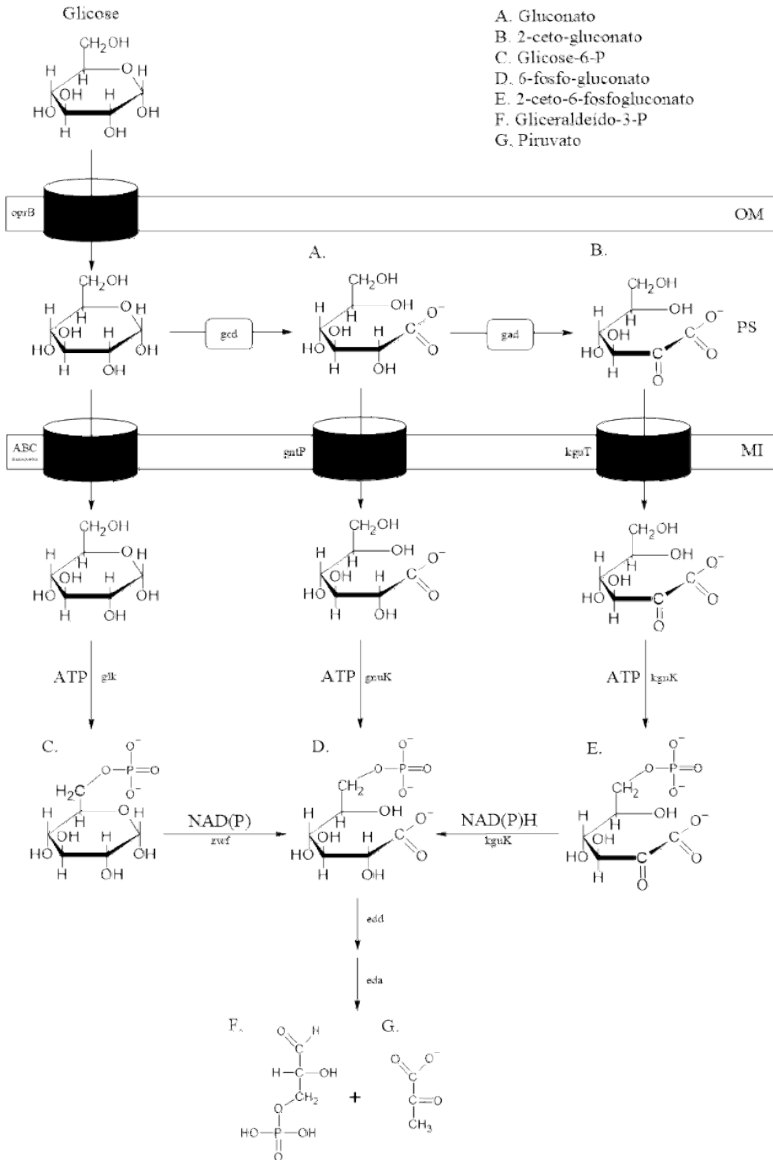
Segundo Miller *et al.* (2010) a via de oxidação direta se concentra na produção de ácidos orgânicos com alta capacidade de quelatização como o ácido glucônico. Resumidamente, ele pode ser explicado em duas etapas principais:

Conversão de glicose em ácido glucônico: O processo começa com a glicose, que é um açúcar simples. Através da ação da enzima glicose desidrogenase (GCD), a glicose é convertida diretamente em ácido glucônico;

Oxidação a ácido 2-cetoglucônico: Em seguida, o ácido glucônico é oxidado pela enzima gluconato desidrogenase (GAD), resultando na formação do ácido 2-cetoglucônico.

Como observado na Figura 4, esse processo ocorre no espaço periplasmático (PS) da bactéria, entre a membrana externa (OM) e membrana interna (IM). O ácido glucônico e, em particular, o ácido 2-cetoglucônico são potentes quelantes. Isso significa que quando liberados na rizosfera possuem a capacidade de se ligar fortemente a íons metálicos como o cálcio (Ca^{2+}) e o ferro (Fe^{2+}). Ao se ligarem a esses minerais, eles quebram a estrutura de fosfato liberando o íon fosfato (PO_4^{3-}). Dessa forma, o fósforo se torna solúvel e pode ser facilmente absorvido pelas raízes das plantas (GARCI, 2015; RAWAT, 2020; ALORI, 2017).

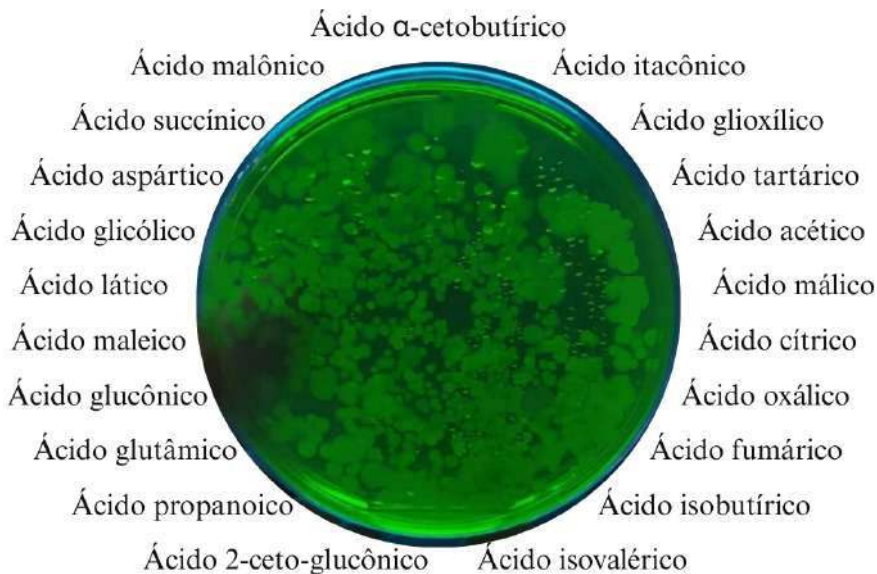
Figura 4 - Via metabólica de oxidação direta proposta para o catabolismo da glicose com formação de ácido gluconico



Fonte: Os Autores (2025).

Segundo Alori (2017) existe uma diversidade de ácidos orgânicos produzidos por diversos microrganismos já relatados na literatura que possuem capacidade de solubilizar o fósforo, conforme observado na Figura 5.

Figura 5 - Representação esquemática dos ácidos orgânicos que podem ser produzidos pelos MSPs e usados para solubilizar formas inorgânicas de fosfato



Fonte: Os autores (2025).

5.2 PRODUÇÃO DE ÁCIDO ORGÂNICO

A produção de ácido clorídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico e ácido carbônico pelos MSPs é relatada como mecanismo para solubilizar fosfato, contudo esse mecanismo apresenta baixa eficiência em comparação com ácidos orgânicos. Porém, embora menos eficiente, a produção desses ácidos também contribui para a acidificação do meio e, conseqüentemente, para a dissolução dos fosfatos (ALORI, 2017).

5.3 PRODUÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEO (EPS)

Os EPS são polímeros complexos compostos principalmente por carboidratos, mas também podem conter outros componentes orgânicos ou inorgânicos. Os microrganismos quando produzem EPS secretam para fora de sua parede celular, formando uma camada viscosa ao seu redor. Porém vale ressaltar que o EPS não dissolve o fósforo diretamente, mas atua facilitando a sua liberação por meio da complexação de íons metálicos. Ao se ligarem a esses íons metálicos, os EPS quelatizam os cátions que estavam fixados ao fosfato. Isso quebra a ligação entre o mineral e o fósforo, liberando-o em uma forma solúvel que a planta possa absorver (ARAÚJO, 2024; ALORI, 2017).

5.4 PRODUÇÃO DE SIDERÓFOROS

A produção de sideróforos age na solubilização do fósforo ao “competir” pela ligação com o ferro. Eles são produzidos por microrganismos para superar a baixa disponibilidade de ferro no solo. Assim, quando um sideróforo é secretado, ele se liga fortemente ao ferro presente no complexo Fe-P, ao retirar o ferro do complexo, o sideróforo indiretamente libera o fósforo. Assim, o fósforo, que estava preso, é liberado no solo em uma forma que as raízes das plantas conseguem absorver (ARAÚJO, 2024; ALORI, 2017).

Quadro 1 - Resumo dos mecanismos utilizados para solubilização de fosfato inorgânico

Mecanismo	Substâncias Produzidas	Forma de Atuação
Produção de Ácidos Orgânicos	Ácido cítrico, glucônico, oxálico, tartárico	Reduzem o pH e quelatizam cátions como Fe^{3+} e Al^{3+} , liberando o fósforo.
Via de Oxidação Direta	Ácido glucônico, 2-cetoglucônico	Quelatizam diretamente minerais como Ca^{2+} e Fe^{2+} , quebrando suas ligações com o fosfato.
Produção de Ácidos Inorgânicos	Ácido sulfúrico, clorídrico, nítrico	Reduzem o pH do meio, contribuindo para a dissolução dos fosfatos.
Produção de Exopolissacarídeos (EPS)	Polímeros de carboidratos	Formam complexos com íons metálicos do solo, o que ajuda na liberação indireta do fosfato.
Produção de Sideróforos	Compostos quelantes de ferro	Retiram íons de Fe^{3+} liberando o fosfato que estava ligado a eles.

Fonte: GARCI, 2015; RAWAT, 2020; ALORI, 2017.

6. MECANISMOS UTILIZADOS PARA SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO ORGÂNICO

Os fosfatos orgânicos constituem de 20 a 30% do fósforo total no solo. A solubilização de fosfato orgânico também é um processo biológico fundamental para a disponibilidade de fósforo no solo. Diferentemente do fosfato inorgânico, que está ligado a minerais, o fosfato orgânico está incorporado na matéria orgânica presente no solo. Para que as plantas possam utilizá-lo, esses compostos precisam ser convertidos em fósforo inorgânico solúvel. Esse processo é chamado de mineralização do fósforo orgânico e é realizado por microrganismos através de mecanismos enzimáticos, principalmente pela ação de enzimas fosfatases, fitases e fosfonatases/liases

de Carbono-Fósforo (GARCI, 2015; RAWAT, 2020; ALORI, 2017).

6.1 FOSFATASES

As fosfatases são as principais enzimas responsáveis pela mineralização do fósforo orgânico. Sua função é catalisar a desfosforilação, que é a quebra das ligações fosfoésteres e fosfoanidrido de compostos orgânicos para liberação do fósforo. Existem dois tipos de fosfatases, as ácidas que atuam de forma mais eficiente em solos ácidos. E as fosfatases alcalinas que são mais ativas em solos alcalinos. Suas funções são as mesmas, mas em ambientes de pH diferenciados (GARCI, 2015; RAWAT, 2020; ALORI, 2017).

6.2 FITASES

As fitases catalisam a remoção de fósforo do composto fitato, uma forma de armazenamento de fósforo orgânico em sementes e, por isso, muito abundante no solo. (GARCI, 2015; RAWAT, 2020; ALORI, 2017).

6.3 FOSFONATASES/LIASES DE CARBONO-FÓSFORO (C-P)

Esta classe de enzimas catalisa a quebra da ligação entre o carbono (C) e o fósforo (P) de organofosforados, melhorando a disponibilidade de fósforo às plantas. Essa ação é fundamental para tornar o fósforo de compostos de difícil degradação disponível para as plantas (GARCI, 2015; RAWAT, 2020; ALORI, 2017).

Em suma, a solubilização de fósforo orgânico é um processo enzimático sofisticado, porque diferentes enzimas atuam em diferentes compostos, garantindo a reciclagem eficiente do fósforo no solo, sendo assim, considerado um processo importante para a ciclagem da matéria orgânica na natureza.

Quadro 2 - Resumo dos mecanismos utilizados para solubilização de fosfato orgânico

Mecanismo	Substâncias envolvidas	Forma de Atuação
Ação das fosfatases	Fosfatases (ácidas e alcalinas)	Quebram ligações de fosfoésteres e fosfoanidridos em compostos orgânicos, liberando fósforo inorgânico. As fosfatases ácidas atuam em solos ácidos, e as alcalinas em solos básicos.
Ação de Fitases	Fitases	Catalisam a remoção de fósforo do fitato, que é a principal forma de armazenamento de P orgânico em sementes.

Ação de Fosfonatases/ Liases	Fosfonatases e Liases de Carbono-Fósforo	Quebram a forte ligação Carbono- Fósforo (C-P) em organofosforados, uma classe de compostos de fósforo orgânico.
---------------------------------	---	--

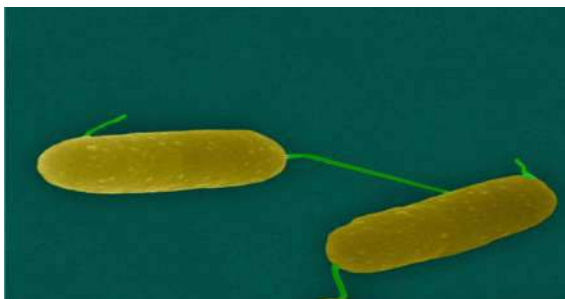
Fonte: GARCI, 2015; RAWAT, 2020

6.4 *Pseudomonas fluorescens*

O gênero *Pseudomonas* é um grupo composto por bactérias que são reconhecidas por suas propriedades benéficas nos setores agrícola, florestal e ambiental. Em especial, a espécie *P. fluorescens*, comumente encontrada em ambientes naturais como solos, águas e nas superfícies de plantas, especialmente na rizosfera e, a qual naturalmente se associa às raízes colonizando os tecidos corticais gerando inúmeros benefícios às plantas. A principal função dessa bactéria está relacionada com a solubilização de fósforo nos solos (ROJAS-SOLIS *et al.*, 2016; TAYLOR, 2024).

Outrossim, elas são consideradas bactérias Gram-negativas, e ao serem observadas em microscopia eletrônica elas possuem morfologia de bacilos e apresentam motilidade positiva, visto que apresentam flagelos (TAYLOR, 2024).

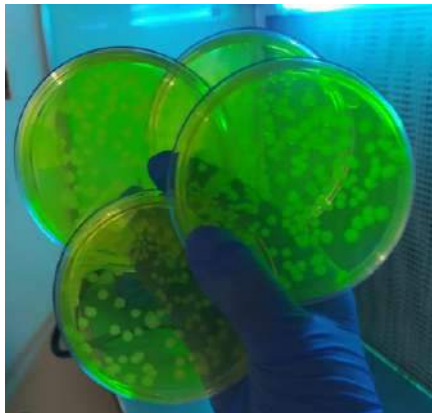
Figura 6 - Representação dos flagelos de *Pseudomonas fluorescens*



Fonte: Os autores (2025).

Uma outra característica marcante da *P. fluorescens* é sua capacidade de secretar um pigmento fluorescente verde-amarelo que é o sideróforo pioverdina, também chamado de fluoresceína e que confere sua fluorescência quando exposto à luz UV (ultravioleta). A pioverdina é o principal sideróforo produzido, um composto de alta-afinidade pelo ferro, sendo importante para o crescimento bacteriano e sua sobrevivência. Por meio dessa interação é possível verificar fluorescência em meios de cultivo suplementados com ferro como meio King B ou Agar Fluorescein conforme demonstrado na Figura 7 (FERREIRA, 2008; MULLER *et al.*, 2016; SARKAR, 2022; TAYLOR, 2024).

Figura 7 - Fluorescência da *Pseudomonas fluorescens*



Fonte: Os Autores (2025).

Outra característica importante da *P. fluorescens* é a capacidade de adesão e formação de biofilmes pela liberação de exopolissacarídeos. Essas substâncias conferem proteção às bactérias contra agressões externas, como falta de nutrientes ou antibióticos. Os biofilmes permitem o crescimento de bactérias de forma protegida e a sobrevivência das bactérias em substratos mesmo quando as condições não são favoráveis (ROSSI, 2016).

6.5 Solubilização do fósforo pela *Pseudomonas fluorescens*

O funcionamento dos solubilizadores de fósforo é baseado na interação entre os microrganismos presentes no produto e os elementos do solo. Ao serem aplicados no campo, esses microrganismos, como a *P. fluorescens*, colonizam a rizosfera, que é a região do solo ao redor das raízes das plantas. Uma vez estabelecidos, eles produzem substâncias, como ácidos orgânicos, que são capazes de quebrar as ligações do fósforo insolúvel do solo e torná-lo disponível para absorção no solo (ALORI, 2017; MILLER, 2010).

A *P. fluorescens* atua na solubilização de fósforo principalmente com a produção de ácidos orgânicos que participam da mobilização de fosfatos (PANG, 2024; TAYLOR, 2024). A principal produção é de ácido glucônico que está entre os mais eficientes na mobilização de nutrientes (RAWAT *et al.*, 2020).

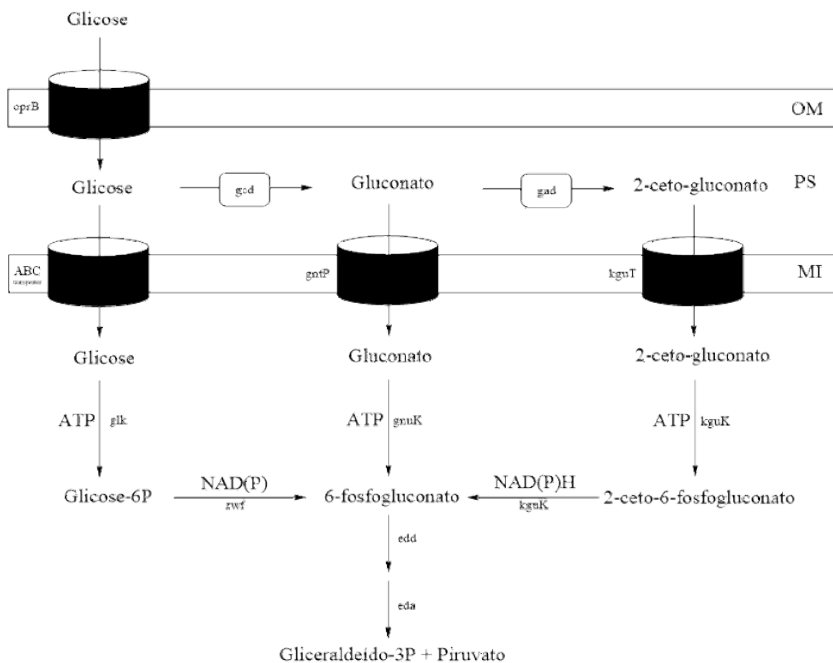
Essas bactérias solubilizam o fosfato mineral por oxidação direta da glicose em ácido glucônico. Elas utilizam a via metabólica da glicose para a produção desses ácidos, causando a liberação de fósforo no meio. Na via de oxidação direta, a glicose é convertida ao ácido glucônico pela enzima glicose desidrogenase (GCD). Esta via alternativa à glicólise envolve a oxidação da glicose a ácido glucônico, um

intermediário que pode ser convertido em outros produtos metabólicos, como ácido 2-cetoglucônico pela ação da enzima glucante desidrogenase (GAD) e, eventualmente, ácido pirúvico (MILLER *et al.*, 2010; ALORI, 2017).

Como observado na Figura 8, esse processo ocorre no espaço periplasmático (PS) da bactéria, entre a membrana externa (OM) e membrana interna (MI). Esses ácidos quando liberados na rizosfera atuam como quelantes de minerais como Ca^{2+} e Fe^{2+} de sua forma ligada ao fosfato, tornando-os mais solúveis e, conseqüentemente mais acessíveis as plantas (MILLER *et al.*, 2010; ALORI, 2017).

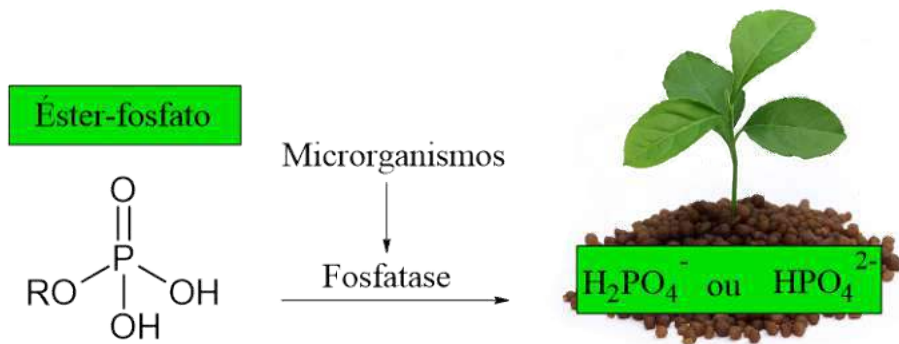
Além do mais, a excreção desses ácidos orgânicos é acompanhada por uma queda no pH que resulta na acidificação das células microbianas e do entorno, portanto, íons P são liberados (ALORI, 2017).

Figura 8 - Via metabólica proposta para o catabolismo da glicose em *Pseudomonas fluorescens* com formação de ácido glucônico



Fonte: Os autores (2025).

O fósforo orgânico também pode ser liberado por meio de enzimas fosfatases. Algumas cepas de *Pseudomonas* secretam enzimas fosfatases que catalisam a hidrólise de ligações éster-fosfato em compostos orgânicos. Essa quebra libera o íon inorgânico H_2PO_4^- (di-hidrogeno fosfato) ou HPO_4^{2-} (monohidrogenofosfato), que são formas solúveis para a planta (ALORI, 2017).

Figura 9 - Solubilização de fósforo orgânico pelas enzimas fosfatases

Fonte: Os Autores (2025)

Em síntese, o principal mecanismo de solubilização do P inorgânico pela *Pseudomonas fluorescens* ocorre pela produção e liberação de ácidos orgânicos por esses microrganismos. Esses ácidos reduzem o pH local ou aumentam a quelação dos cátions ligados ao fósforo, resultando na liberação de formas assimiláveis pelas plantas. Em relação ao fósforo contido em material orgânico, ele pode ser liberado por meio da ação de diferentes grupos de enzimas, principalmente pelas fosfatases (FLORENCIO *et al.*, 2022).

7. BIOPROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

Entre os grupos de bactérias do solo, as espécies do gênero *Pseudomonas* destacam-se por sua grande versatilidade nutricional e pela habilidade de crescer em ampla variedade de ambientes e substratos. Como a *P. fluorescens* não apresenta muitas exigências nutricionais, ela pode ser considerada um microrganismo não-fastidioso. Isso significa que ela é relativamente fácil de cultivar em ambientes laboratoriais e industriais, sem a necessidade de meios de cultura muito específicos ou complexos (FERREIRA, 2009).

Para a produção de *P. fluorescens*, pode-se usar uma variedade de substratos até mesmo substratos naturais como a matéria orgânica presente no solo ou na rizosfera das plantas. Porém, em uma escala laboratorial ou industrial para sua produção geralmente utilizam-se substratos que forneçam fontes de carbono e nitrogênio essenciais para o crescimento bacteriano. Alguns exemplos comuns de substratos incluem fontes de carbono como glicose, sacarose, lactose, ou outros açúcares simples e fontes de nitrogênio como nitrato de amônio, peptona, extrato de levedura ou caseína hidrolisada. A escolha específica dos substratos pode variar dependendo do objetivo

da produção e das condições do cultivo (SILVA, 2000; FLORENCIO, 2022).

Outrossim, a *P. fluorescens* é uma bactéria aeróbica que necessita de oxigênio para seu desenvolvimento ou fermentação, mas algumas cepas podem utilizar nitrato e realizar respiração anaeróbica (SARKAR, 2022; TAYLOR, 2024). Além do mais, ela é considerada versátil em termos de temperatura e condições ambientais, podendo crescer em temperaturas de até 36°C (SARKAR, 2022; TAYLOR, 2024). A sua produção é feita por meio de inoculantes biológicos. Esses inoculantes são formulados com cepas específicas de *P. fluorescens* que possuem propriedades promotoras de crescimento, mais especificamente como solubilizadoras de fósforo.

Segundo Florencio *et al.* (2022) a produção de um inoculante biológico como a *Pseudomonas* passa, principalmente pelas seguintes etapas: (a) isolamento e seleção de microrganismo efetivo e competitivo para um sistema específico ou uma variedade de culturas; (b) caracterização do microrganismo selecionado no meio de crescimento otimizado e nos parâmetros do processo fermentativo; (c) desenvolvimento de formulação para garantir a persistência microbiana no solo, inclusive sob condições estressantes; (d) estudos de aplicações no campo; (e) produção a nível industrial (aumento de escala); (f) desenvolvimento de um sistema de controle de qualidade para a produção e armazenamento.

Figura 10 - Principais etapas para fabricação de um inoculante biológico



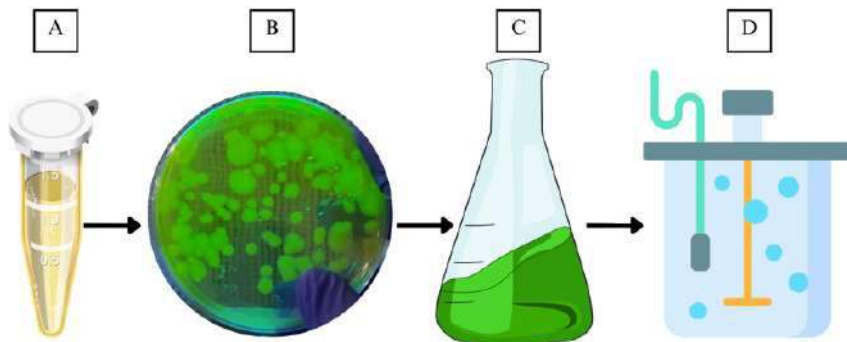
Fonte: Os Autores (2025).

Dentre todas essas fases, a produção dos microrganismos é uma das cruciais tanto em escala laboratorial quanto em escala de produção em biorreatores. Essa etapa requer ajuste e controle de muitos parâmetros como o tipo de substrato (meio de cultivo), temperatura, agitação, aeração, pH, tempo de cultivo entre outros (FLORENCIO *et al.*, 2022; VASSILEVA *et al.*, 2021).

Nesse viés, o processo de produção de inoculante de *P. fluorescens* em uma escala laboratorial segue etapas importantes para garantir um crescimento eficiente e a obtenção de biomassa e metabólitos desejados. O processo inicia-se com o repique e a garantia de pureza da linhagem em uma escala que segue

o cultivo em eppendorf, em placa de meio de cultivo, em erlenmeyers e em garrações de maior volume (aproximadamente 10 litros) conforme demonstrado na figura 11 (FLORENCIO *et al.*, 2022; VASSILEVA *et al.*, 2021).

Figura 11 - Etapas da produção de inoculantes em escala laboratorial. Eppendorf (A). Placa (B). Erlenmeyers (C). Garração (D)



Fonte: Os Autores (2025).

O processo de produção de inoculante de *P. fluorescens* em uma escala industrial também segue etapas importantes para garantir um crescimento eficiente e a obtenção de biomassa e metabólitos desejados. Dentre as etapas podemos enumerar algumas delas:

1. Preparação do meio de cultura: Existem diversos tipos de tecnologias para o desenvolvimento de formulações de inoculantes que incluem produtos líquidos (como emulsões e água), secos (como grânulos ou turfosos), e encapsulamento. O desenvolvimento de uma formulação adequada é uma etapa crucial para a produção do inoculante, isso porque tem por objetivo aumentar a sua eficácia quando aplicado ao campo e prolongar o tempo de prateleira mantendo sua atividade. Porém a produção de inoculantes em sua maioria são formulações líquidas porque são mais fáceis de produzir, podem ser aplicadas com facilidade pelos agricultores, poucas células são perdidas durante a formulação e utilizam materiais de baixo custo (FLORENCIO *et al.*, 2022; VASSILEVA *et al.*, 2021).

2. Inoculação: Após passar pela esterilização e resfriamento do meio de cultivo, uma cultura inicial e pura da linhagem da *P. fluorescens* é inoculada. A inoculação é uma etapa crucial a qual exige muito cuidado para não permitir a contaminação pela entrada de outro tipo de bactéria não desejada (FLORENCIO *et al.*, 2022).

3. Incubação e monitoramento: A mistura inoculada é incubada em condições controladas, geralmente a uma temperatura entre 25°C e 30°C, com agitação constante para garantir a oxigenação adequada. Além do mais, podem ser introduzidos filtros de ar estéreis que permitem a oxigenação do meio de cultivo. O tempo de incubação

varia, mas costuma durar de 24 a 48 horas. Ela é considerada uma bactéria de proliferação rápida, o que a torna uma interessante bactéria para aplicações em indústrias. Durante o processo, é importante monitorar parâmetros como pH, oxigenação, e absorvância para observar a curva de crescimento da bactéria, se necessário, a produção de compostos específicos, como a produção de biofilmes por elas (FLORENCIO *et al.*, 2022).

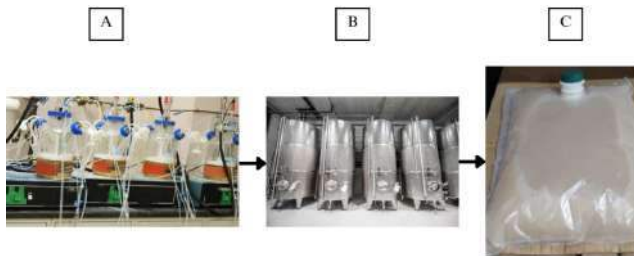
Além do mais, durante o monitoramento é importante que sejam feitas análises de controle de qualidade do inoculante para a verificação da pureza, concentração de microrganismos e segurança em relação a contaminantes. Esse controle é feito por meio de análises microbiológicas em placas de cultivo e técnica de coloração de Gram para identificar crescimento de bactérias contaminantes (FERREIRA, 2024; MAPA, 2010).

4. Envase: Para ser considerado produto, o qual está pronto para o envase, o inoculante precisa atingir a concentração mínima de microrganismos conforme legislação brasileira (1×10^9 células viáveis por grama ou mililitro de produto) segundo a Instrução Normativa 13/21. Além disso, é necessário que se faça também a observância dos métodos oficiais para análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza, de acordo com o previsto na Instrução Normativa Mapa/SDA 30/10. Para isso, é necessário o acompanhamento da absorvância do produto, diluição seriada para a contagem de colônias em placas. Logo, atingindo a concentração de microrganismo desejada e considerados livres de contaminação o produto está pronto para ser envasado em sacos (*bags*) estéreis conforme demonstrado na Figura 12 (C) (FLORENCIO *et al.*, 2022; FERREIRA, 2024).

Porém, antes do envase o fermentado de bactéria é misturado a um suporte a base de estabilizantes como uma diversidade de gomas. Esse estabilizante é importante para manter as bactérias viáveis e evitar a morte celular. Sendo, essencial para o *shelf-life* do produto (FLORENCIO *et al.*, 2022; MISHRA, 2006).

5. Aplicação ou armazenamento: Os produtos obtidos podem ser utilizados em aplicações agrícolas ou armazenados em condições adequadas para uso futuro, essas condições exigem temperaturas adequadas que evitem a sua morte celular, não sendo recomendado sua exposição a calor (FLORENCIO *et al.*, 2022).

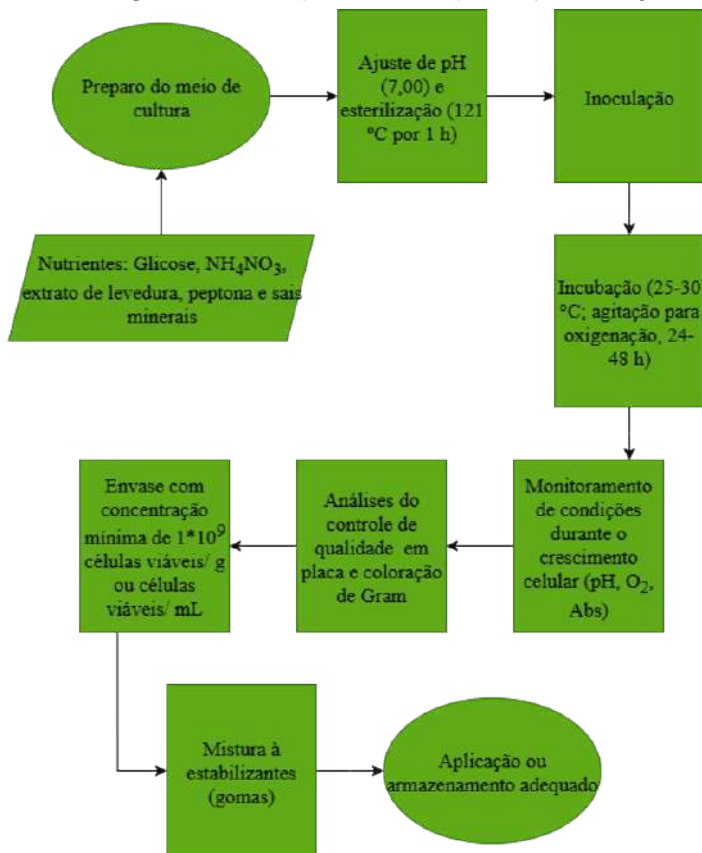
Figura 12 - Bioprocesso industrial para produção de *Pseudomonas fluorescens*



Fonte: Os Autores (2025).

Em síntese, os inoculantes à base de *Pseudomonas* são produzidos em processos fermentativos em biorreatores sob condições de temperatura próximas a 30°C, com agitação e aerificação, ou seja, em processos aeróbicos. Além do mais, o processo é realizado sob cuidados máximos de esterilização e filtração do ar para não permitir o crescimento de outras bactérias contaminantes no meio de cultivo. O meio de cultivo para um inoculante biológico é formado por nutrientes que sejam fontes de carbono, nitrogênio e fontes de energia como açúcares, bem como outras substâncias. Além do mais, no processo de produção de inoculantes é feito o controle de vários parâmetros de controle de qualidade de produção, como pH, absorvância, pureza e concentração mínima de bactérias. A *P. fluorescens* possui um crescimento rápido, atingindo o ponto máximo de crescimento em menos de 24 horas, sendo considerado um microrganismo versátil e interessante para produções em indústrias.

Figura 13 - Fluxograma do bioprocesso de produção de *P. fluorescens*



Fonte: Os Autores (2025).

O produto do processo fermentativo é o inoculante biológico de *Pseudomonas fluorescens*, a qual será comercializada como solubilizadora de fósforo e promotora de crescimento vegetal. A maioria dos inoculantes formulados com *P. fluorescens*, são vendidos em forma líquida conforme observado na Figura 11 (C), com composição formada por meio de cultivo e conservantes como para manter a viabilidade desses microrganismos durante os próximos meses. Porém, estes precisam ser conservados em ambientes frescos, longe de altas temperaturas para evitar morte dos microrganismos (MISHRA, 2006; FLORENCIO *et al.*, 2022; VASSILEVA *et al.*, 2021).

Além do mais, os inoculantes biológicos de *P. fluorescens* podem ser compostos por somente um microrganismo isolado ou em conjunto com mais um, sendo denominado de coinoculação. A *P. fluorescens* pode ser encontrada em conjunto com outras bactérias muito importantes na agricultura, como exemplos, o *Azospirillum* ou com o *Bradyrhizobium japonicum*. Os resultados positivos obtidos com coinoculações, reforçam a importância de pesquisas adicionais para elucidar as interações entre microrganismos, visando a produção de inoculantes mistos, como alternativa de maior sucesso da biotecnologia microbiana (LOPES *et al.*, 2021).

No entanto, o uso comercial dos inoculantes biológicos não somente a partir da *P. fluorescens*, mas sim de um contexto em geral, ainda apresenta alguns desafios e dificuldades técnicas a serem enfrentados de forma a garantir seu uso otimizado em campo. A maioria dessas questões está relacionada a como proteger o microrganismo e mantê-lo viável frente aos estresses bióticos e abióticos, aos métodos de entrega e a adaptação após a aplicação no solo. Logo, é importante pesquisas científicas para a bioprospecção de novos microrganismos, bem como o aprimoramento dos microrganismos e dos métodos que possam já existentes que possam viabilizar o uso eficiente como inoculante biológico (FLORENCIO *et al.*, 2022).

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de inoculantes solubilizadores de fósforo à base da bactéria *Pseudomonas fluorescens* representa uma estratégia promissora para uma agricultura mais sustentável, contribuindo para a redução da dependência de fertilizantes químicos.

A solubilização de fósforo pela bactéria *P. fluorescens* envolve a síntese de ácidos orgânicos, principalmente o ácido glucônico. Esse processo ocorre por meio do metabolismo extracelular oxidativo direto da glicose.

A *P. fluorescens* destaca-se por sua grande versatilidade nutricional e pela habilidade de crescer em ampla variedade de ambientes e substratos, não apresentando muitas exigências nutricionais.

A *P. fluorescens* possui uma multiplicação rápida, sendo considerado um microrganismo versátil e interessante para produções em indústrias.

REFERÊNCIAS

ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2 jun. 2017.

BILHAR ARAÚJO, E. V. et al. Solubilização de fosfatos e potássio por bactérias rizosféricas - uma revisão. **Nativa**, v. 12, n. 4, p. 843–852, 31 dez. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 30, de 12 de novembro de 2010**. Estabelece os métodos oficiais para análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza na forma desta Instrução Normativa. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 nov. 2010. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 13, de 24 de março de 2011**. Aprova as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura... Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 25 mar. 2011. Seção 1, p. 3.

ALFAMARE. **Equipamentos para biofábricas**: a revolução no desenvolvimento de defensivos biológicos na agricultura. Disponível em: <https://alfamare.com.br/biofabricas-defensivos-biologicos/> Acesso em 15 de agosto de 2025.

FERREIRA, E. P. et al. Diversidade de *Pseudomonas fluorescentes* em diferentes sistemas de manejo do solo e rotação de culturas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.4, n.2, p.140-148, 2009. Disponível em : <https://www.redalyc.org/pdf/1190/119017351004.pdf>. Acesso em 09 de janeiro de 2026.

FERREIRA, E.; NOGUEIRA, M.A.; HUNGRIA, M. Manual de análises de bioinsumos para uso agrícola: inoculantes. Brasília, DF: **Embrapa**, 2024. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1163171/1/Livro-Analises-Bioinsumos-completo-final.pdf>. Acesso em 09 de janeiro de 2026.

FLORENCIO, C. et al. Avanços na produção e formulação de inoculantes microbianos visando uma agricultura mais sustentável. **Química Nova**, 2022.

GARCIA, R.A.; LOVAISA, N.C.; ULLA, E.L. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria in northwestern Argentina and its effect in promoting growth in maize (*Zea mays* L.). **Rev.**

agron. noroeste argent. V. 35, p. 13-28, 2015.

KOUR, D.; RANA, K.L.; KAUR, T.; YADAV, N.; YADAV, A.N.; KUMAR, M.; KUMAR, V.; DHALIWAL, H.S.; SAXENA, A.K. Biodiversity, current developments and potential biotechnological applications of phosphorus-solubilizing and -mobilizing microbes: A review. **Pedosphere**, v. 31, p. 43-75, 2021.

LOPES, M. J. dos S.; SANTIAGO, B. S.; SILVA, I. N. B. da; GURGEL, E. S. C. Microbial biotechnology: inoculation, mechanisms of action and benefits to plants. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, 2021.

MARQUES, M.S.G.T. **Monitorização de biofilmes de Pseudomonas fluorescens**. Dissertação de mestrado. Universidade de Minho - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Ambiente, Portugal, 2004.

MILLER, S.H.; BROENE, P.; PRIGENT-COMBARET, C.; COMBES-MEYNET, E.; MORRISSEY, J.P.; O'GARA, F. Biochemical and genomic comparison of inorganic phosphate solubilization in *Pseudomonas* species. **Environmental Microbiology Reports**, v.2, n.3, p. 403–411, 2010.

MISHRA, J.; ARORA, N. K. In **Bioformulations: for Sustainable Agriculture**; Arora, N. K., Mehnaz, S., Balestrini, R., eds.; Springer India: New Delhi, 2016, cap. 1.

MOREIRA, C. Membrana celular. **Revista de Ciência Elementar**, v. 2, n. 2, 30 jun. 2014.

MÜLLER, T. *et al.* Fluorescent *Pseudomonads* in the Phyllosphere of Wheat: Potential Antagonists Against Fungal Phytopathogens. **Current Microbiology**, v. 72, n. 4, p. 383–389, 2015 2016

OLIVEIRA-PAIVA, Christiane Abreu de et al. Microrganismos solubilizadores de fósforo e potássio na cultura da soja. In: EMBRAPA SOJA. **Bioinsumos na Cultura da Soja**. Brasília, DF: [s. n.], 2022. cap. 9, p. 163-179.

PANG, F. Soil phosphorus transformation and plant uptake driven by phosphate-solubilizing microorganisms. **Frontiers in microbiology**, v. 15, 2024.

RAWAT, P.; DAS, S.; SHANKHDHAR, D.; SHANKHDHAR, S.C. Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, 2020.

RHEINHEIMER, D.S.; ANGHINONI, I. Distribuição do fósforo inorgânico em sistemas de manejo de solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.151-160, 2001.

ROJAS-SOLÍS, D.; HERNÁNDEZ-PACHECO, C. E.; SANTOYO, G. Evaluation of *Bacillus* and *Pseudomonas* to colonize the rhizosphere and their effect on growth promotion in tomato (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.). **Revista Chapingo Serie Horticultura**, v. XXII, n. 1, p. 45–57, 2016.

SANTOS, D. R. DOS; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 38, p. 576–586, 1 abr. 2008.

SARKAR, B. Review On *Pseudomonas Fluorescens*: A Plant Growth Promoting Rhizobacteria. **Journal of Positive School Psychology**, v. 6, n. 6, p.2701-2709, 2022.

SASABUCHI, I. T. M. *et al.* Sustentabilidade no uso de fósforo: uma revisão bibliográfica com foco na situação atual do estado de são paulo, Brasil. **Química Nova**, v. 46, n. 2, p. 185–198, 2023.

SHARMA, S. B. *et al.* Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, 2013.

SESHACHALA, U.; PADMAVATHI TALLAPRAGADA. Phosphate Solubilizers from the Rhizospher of *Piper nigrum* L. in Karnataka, India. **Chilean journal of agricultural research**, v. 72, n. 3, p. 397–403,2012.

SOUSA, S.F. DNA (Química Biológica). **Revista Ciência Elementar**, v.1. 2013.

TAYLOR, T. B.; SILBY, M. W.; JACKSON, R. W. *Pseudomonas fluorescens*. **Trends in Microbiology**, v. 33, n. 2, 29 nov. 2024.

VASQUES, C.N. **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, 2024. 38 p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; n. 462).

VASSILEVA, M.; MALUSÀ, E.; SAS-PASZT, L.; TRZCINSKI, P.; GALVEZ, A.; FLOR-PEREGRIN, E.; SHILEV, S.; CANFORA, L.; MOCALI, S.; VASSILEV, N. Fermentation Strategies to Improve Soil Bio-Inoculant Production and Quality. **Microorganisms**, 2021.

ZHANG, L. *et al.* Reducing carbon: phosphorus ratio can enhance microbial phytin mineralization and lessen competition with maize for phosphorus. **Journal of Plant Interactions**, v. 9, n. 1, p. 850–856, 2014.

WANG, C. *et al.* Phosphorus solubilizing microorganisms: potential promoters of agricultural and environmental engineering. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, 2023.

WHITELAW, M. A. Growth promotion of plant inoculated with phosphate-solubilizing fungi. **Advances in Agronomy**, New York, v. 69, p. 99-151, 2000.



Fatores de Transcrição Presentes na Frutificação em Basidiomicetos

*Vanessa Vaz Leonel
Bruna Cristina dos Santos*

CAPÍTULO

06

1. INTRODUÇÃO

Os basidiomicetos, integrantes do filo *Basidiomycota*, representam um grupo de fungos extremamente diverso e amplamente distribuído em diferentes continentes. Esse grupo inclui desde leveduras até espécies formadoras de corpos de frutificação macroscópicos, conhecidos como basidiocarpos. A relevância ecológica dos basidiomicetos é notável, sobretudo por seu papel na decomposição de matéria orgânica lignocelulósica, sendo agentes que atuam na reciclagem de nutrientes e na manutenção dos ecossistemas (KUES, 2000).

Do ponto de vista biotecnológico e econômico, destacam-se espécies com potencial na produção de enzimas ligninolíticas, compostos bioativos, além da aplicação em processos sustentáveis como a biorremediação e a geração de biomateriais à base de micélio (SIERRA *et al.*, 2023; ALEMU *et al.*, 2022). A frutificação nos basidiomicetos constitui um processo complexo e altamente regulado, que envolve a diferenciação celular coordenada a reorganização do micélio vegetativo para originar estruturas férteis.

A formação dos basidiocarpos e a posterior esporulação representam eventos essenciais para a reprodução sexuada, garantindo a dispersão dos basidiósporos e a perpetuação da espécie. Diversos fatores ambientais, como luminosidade, temperatura, umidade e disponibilidade de nutrientes, atuam como gatilhos externos para o início desse processo (BINDER *et al.*, 2013). No entanto, para além dos estímulos ambientais, há uma intrincada rede de regulação gênica que comanda a progressão das etapas morfogênicas.

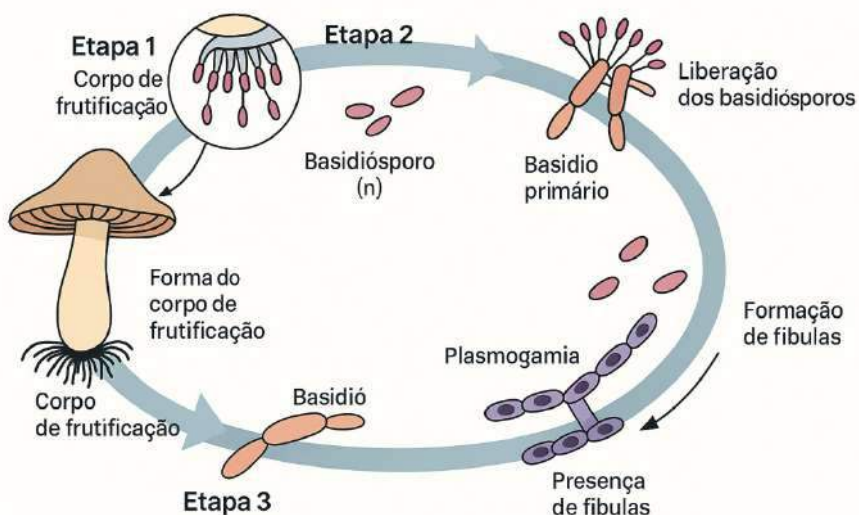
Nesse contexto, os fatores de transcrição (FTs) são representados como elementos importantes na integração dos sinais ambientais com as respostas celulares. Esses FTs são proteínas capazes de se ligar a sequências específicas do DNA, modulando a transcrição de genes-alvo em momentos e tecidos específicos do desenvolvimento fúngico (KUES; LIU, 2000). Diferentes famílias de FTs, como Zn(II)₂Cys₆, GATA, bZIP, MADS-box, entre outras, têm sido descritas como fundamentais nos eventos que controlam a formação e o amadurecimento dos basidiocarpos em diversas espécies de *Basidiomycota* (SHELEST, 2008).

Este capítulo tem como objetivo discutir os principais fatores de transcrição associados à frutificação em basidiomicetos, enfatizando suas funções moleculares, interações regulatórias e vias de sinalização envolvidas. Pretende-se oferecer uma visão atualizada sobre os mecanismos genéticos que regem esse processo, contribuindo para a compreensão da biologia do desenvolvimento fúngico e suas potenciais aplicações em biotecnologia fúngica.

2. CICLO DE VIDA DOS BASIDIOMICETOS E ETAPAS DA FRUTIFICAÇÃO

O ciclo de vida dos basidiomicetos é marcado pela germinação de basidiósporos haploides, formando micélios primários monocarióticos. Essas hifas, compostas por células uninucleadas, possuem vida vegetativa limitada e, para completar o ciclo, precisam encontrar outra hifa geneticamente compatível. O contato entre parceiros de diferentes tipos de acasalamento, desencadeia a plasmogamia, processo que resulta na fusão citoplasmática e na formação de um micélio secundário dicariótico. Este apresenta um arranjo celular peculiar, com dois núcleos geneticamente distintos coexistindo em cada compartimento e, em muitos casos, com a presença de fibulas estruturas em forma de gancho que asseguram a manutenção do estado dicariótico durante a divisão celular (KUES *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2025).

Figura 1 - Ciclo de vida dos basidiomicetos, destacando as etapas de germinação dos basidiósporos



Fonte: Elaborada por Leonel, V. V., com auxílio do ChatGPT (2025).

O micélio dicariótico, possui um desempenho superior, sendo assim tem maior capacidade de colonização se compararmos com o micélio monocariótico, constituindo a base para a formação dos corpos frutíferos nos basidiomicetos. A transição da fase vegetativa para a reprodutiva não ocorre de forma aleatória, e sim controlada por redes de sinalização que integram fatores

ambientais e programas regulatórios internos (MOORE; ROBSON; TRINCI, 2020). Entre esses reguladores, os fatores de transcrição desempenham papel central, modulando a ativação ou repressão de conjuntos específicos de genes conforme a necessidade de cada etapa do desenvolvimento (KUES, 2000).

Crescimento como: primórdio → corpo frutífero jovem → corpo frutífero maduro representam o modelo de desenvolvimento do basidiocarpo em fungos do filo *Basidiomycota*, especialmente em espécies que produzem corpos frutíferos complexos como agaricoides, poliporoides.

Esse padrão é amplamente documentado em espécies como *Coprinopsis cinerea* sendo referência em estudos genéticos e de frutificação rápida, *Schizophyllum commune* (KAMADA *et al.*, 2010; MURAGACHI *et al.*, 2015), em *Ganoderma lucidum* sendo de importância medicinal e biotecnológica (ZHANG *et al.*, 2017) e *Pleurotus ostreatus* (CHANG; MILES, 2004). Embora a sequência morfológica seja semelhante, a duração de cada estágio e a sensibilidade a estímulos ambientais variam entre espécies.

2.1 PRIMÓRDIO: A FASE INICIAL DA FRUTIFICAÇÃO

O primórdio representa o primeiro sinal visível de diferenciação reprodutiva, formando-se a partir de um denso entrelaçamento de hifas do micélio dicariótico. Nesse estágio, a plasticidade celular é alta, e as células ainda não apresentam especialização funcional definida. A indução dessa estrutura depende de um conjunto de sinais ambientais, sendo o principal a luz (XU *et al.*, 2017). Em espécies como *C. cinerea*, a percepção da luz azul é mediada por proteínas do tipo LOV-domain, entre elas os ortólogos WC-1 e WC-2 (do complexo White Collar). Este mecanismo atuam como fotoreceptores e reguladores transcricionais, ativando genes como *dst1*, essencial para a diferenciação inicial (PARDO-MEDINA *et al.*, 2023).

Paralelamente, fatores de transcrição da família Zn₂Cys₆, como Fst3, ajustam a organização celular, coordenando a compactação hifal e preparando o tecido para a futura morfogênese (ZHANG *et al.*, 2017). Em *S. commune*, o gene *hom2* (homeobox) regula a orientação do crescimento e a polaridade celular, permitindo que o primórdio assumira uma estrutura que favorece o surgimento do corpo frutífero (OHM *et al.*, 2011).

2.2 CORPO FRUTÍFERO JOVEM: O CRESCIMENTO E A DIFERENCIAÇÃO TECIDUAL

A passagem do primórdio para o corpo frutífero jovem marca o início de um intenso crescimento volumétrico, sustentado por divisões

celulares rápidas e reorganização espacial das hifas. Nessa etapa, as estruturas macroscópicas começam a se delinear: píleo, estipe e a região fértil tornam-se morfológicamente evidentes. Essa reorganização estrutural é regulada por uma complexos sinais moleculares e fatores de transcrição que modulam o padrão de crescimento, preparando o corpo frutífero para a maturação e esporulação (KUES; LIU, 2000). Do ponto de vista molecular, o processo envolve a ativação de fatores de transcrição da família MADS-box, que participam na definição da simetria e na regulação da expressão de genes estruturais relacionados à expansão celular (MENG *et al.*, 2020).

Os genes regulados pelos fatores de transcrição da família bZIP (*basic leucine zipper*) desempenham um papel crucial na coordenação metabólica durante o desenvolvimento do corpo frutífero (LIU *et al.*, 2023). Esses FTs atuam integrando sinais ambientais e fisiológicos, fazendo a síntese da parede celular, o transporte de metabólitos essenciais e a organização do citoesqueleto. Essa regulação garante que a expansão celular, a diferenciação tecidual e o direcionamento do crescimento ocorram de maneira precisa, permitindo a correta morfogênese do basidiocarpo (NOWROUSIAN, 2022).

Adicionalmente, os TFs que pertencem à família HMG-box (*High Mobility Group*) têm um papel crucial na definição da estrutura reprodutiva conhecida como himenóforo. Esses FTs são reguladores que influenciam a ativação de genes que controlam hifas férteis que se organizam e como os basídios se diferenciam, afetando tanto a localização quanto a quantidade dessas estruturas. Esse controle garante que as superfícies férteis sejam distribuídas de maneira estratégica, favorecendo a eficiência na produção e na dispersão dos basidiósporos (AIT *et al.*, 2013).

Com isso, as variações ambientais atuam como o principal fator decisivo nas fases de crescimento, sejam elas variações nutricionais ou de temperatura em seu habitat, retardando ou prolongamento a fase jovem, favorecendo a formação de corpos frutíferos mais robustos e com maior potencial de produção de esporos.

2.3 CORPO FRUTÍFERO MADURO: A FASE REPRODUTIVA

No estágio de crescimento maduro do fungo, o corpo frutífero já exhibe suas estruturas e os basídios encontram-se preparados para concluir a meiose. Nesta fase, ocorre a cariogamia, processo no qual os dois núcleos no estado dicariótico se fundem, originando um núcleo diplóide transitório. Em seguida, a meiose se inicia, resultando em quatro núcleos haploides. Cada um desses núcleos se migram para um basidiósporo em formação, completando o ciclo de desenvolvimento reprodutivo (VIRAGH *et al.*, 2022).

O controle genético nessa etapa envolve a atuação de fatores de

transcrição, entre os quais se destacam os da família C2H2 zinc-finger. Esses reguladores estão associados à modulação de genes essenciais para a meiose e a maturação dos basídios, assegurando que a formação dos basidiósporos ocorra de maneira coordenada e funcional (MENG *et al.*, 2019; LI; ZHONG, 2020). Em paralelo o FT Crz1 mantém-se ativo coordenando a expressão de genes relacionados à tolerância ao estresse térmico e hídrico, garantindo que os basidiósporos conservem sua viabilidade durante e após a dispersão no ambiente (THEWES, 2014; LI; ZHONG, 2020).

Já a limitação de nutrientes como o nitrogênio atua como sinal de ativação para AreA, um fator de transcrição do tipo GATA, que redireciona o metabolismo celular priorizando processos que asseguram a disponibilidade de nutrientes para a formação e a liberação de esporos (LIU *et al.*, 2023).

2.4 INTEGRAÇÃO MOLECULAR E SINAIS AMBIENTAIS

A frutificação em basidiomicetos não é resultado de um único estímulo, mas de um conjunto de diversos sinais ambientais e fisiológicos. Fatores como luz, temperatura, composição gasosa e disponibilidade de nutrientes são percebidos por redes sensoriais que ativam a atividade de fatores de transcrição importantes. Dessa forma a expressão sequencial de WC-1/WC-2, Fst3, Hom2, MADS-box, bZIP, PacC, AreA, Crz1 e HMG-box estabelece uma via regulatória que integra a morfogênese com as condições externas, maximizando as chances de sucesso reprodutivo (XU *et al.*, 2017; ZHONG, 2020; LIU *et al.*, 2023).

Essa interação entre sinais ambientais e as rotas de sinalização molecular ajuda a explicar como pequenas variações nas condições de habitat provocam alterações expressivas na estrutura e até no tempo de maturação dos corpos frutíferos. Em fungos de interesse econômico como *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* e *Agaricus bisporus*, compreender esses processos é essencial para manipular esses mecanismos moleculares e assim otimizar a produção, seja para fins medicinais, alimentícios ou de produção de biomaterial (SAKAMOTO, 2018; ZHOU *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2025). Essa abordagem é fundamental não apenas para fins alimentares ou medicinais, mas também para o desenvolvimento de biomateriais a partir da estrutura micelial.

3. REGULAÇÃO GÊNICA E FATORES DE TRANSCRIÇÃO

O fluxo de informação genética do DNA para o RNA mensageiro é regulado por um conjunto de proteínas reguladoras conhecidas como fatores de transcrição (FTs). Esses reguladores se ligam a sequências específicas no DNA,

modulando a atividade da RNA polimerase II e influenciando diretamente a taxa de transcrição. Dessa forma, os FTs atuam como “interruptores moleculares”, capazes de ativar ou silenciar conjuntos de genes fundamentais para processos como a diferenciação celular, a adaptação a variações ambientais e a produção de metabólitos secundários (TODD *et al.*, 2014; VONK; OHM, 2018).

Em fungos basidiomicetos os FTs exercem um papel crucial na regulação da expressão gênica, regulando desde o crescimento vegetativo até o desenvolvimento dos corpos de frutificação. Esse processo se inicia com o reconhecimento de sequências reguladoras específicas no DNA, presentes em regiões promotoras ou em cis-regulatórios distais, sendo mediados por domínios de ligação ao DNA (*DNA-binding domains* – DBDs), que apresentam arranjos estruturais adaptados para interagir seletivamente com o sulco maior ou menor da dupla hélice (LUSCOMBE *et al.*, 2000; SHELEST, 2008; MUINO *et al.*, 2014).

Entre os *motif* estruturais mais comuns em fungos *Basidiomycota* destacam-se o tipo Zn₂Cys₆ envolvido na regulação de genes relacionados ao metabolismo secundário já o bZIP está associado a respostas a estresses ambientais (MORIN *et al.*, 2012).

Após a ligação ao DNA, muitos FTs necessitam da associação com cofatores para desempenhar seu papel regulatório. Em fungos *Basidiomycota*, esses cofatores frequentemente modulam o estado da cromatina por meio de acetilação, metilação ou remodelamento nucleossomo, afetando a acessibilidade dos promotores aos complexos transcricionais (NOWROUSIAN, 2022).

A *Ganoderma lucidum*, por exemplo, estudos apontaram que os FTs como PacC e AreA interagem com cofatores para regular a expressão de genes ligados à adaptação a pH e ao metabolismo de nitrogênio (MENG *et al.*, 2022).

Na fase subsequente, os FTs estabelecem interações direta ou indireta com a RNA polimerase II e com o complexo de pré-iniciação, garantindo o posicionamento adequado da enzima no sítio de início da transcrição (WANG *et al.*, 2023). Esse mecanismo é determinante para ativar ou silenciar genes envolvidos no processo chave como a transição de micélio para primórdio e a diferenciação de estruturas reprodutivas (MENG *et al.*, 2022; NOWROUSIAN, 2022).

4. FATORES DE TRANSCRIÇÃO ASSOCIADOS À FRUTIFICAÇÃO EM BASIDIOMICETOS

Entender o mecanismo de ação dos FTs em fungos *Basidiomycota* não apenas elucidar aspectos fundamentais da biologia desses organismos, mas também abre perspectivas para aplicações biotecnológicas, como o controle da frutificação na produção de biomateriais ou a modulação de metabólitos de

interesse industrial. Ou seja, a identificação e caracterização de FTs associados à frutificação permite compreender melhor os mecanismos moleculares que controlam o desenvolvimento multicelular nesses organismos (Ohm et al., 2010; Nowrousian, 2022), conforme apresentado alguns exemplos no quadro abaixo.

Quadro 1 - Principais fatores de transcrição associados à frutificação em Basidiomycota

Fator de Transcrição	Família / Domínio	Espécie(s)	Função / Estágio de Atuação	Fenótipo Observado em Mutantes
fst3	Zn2Cys6	<i>Schizophyllum commune</i>	Regulação inicial da formação de primórdios	Mutantes apresentam bloqueio na diferenciação de primórdios; ausência de corpos frutíferos maduros (Ohm et al., 2010)
fst4	Zn2Cys6	<i>Coprinopsis cinerea</i>	Essencial para progressão do desenvolvimento do primórdio até corpos frutíferos	Mutantes Δ fst4 formam apenas primórdios abortivos (Ohm et al., 2010)
HMG-box	High Mobility Group (HMG)	<i>Coprinopsis cinerea</i> , <i>Lentinula edodes</i>	Regulação do ciclo sexual; expressão de genes de compatibilidade	Mutantes mostram falhas na compatibilidade e ausência de frutificação (Ait Benkhali et al., 2013)
hom1	Homeobox (Hox-like)	<i>Schizophyllum commune</i>	Controle da identidade sexual e da formação de hifas férteis	Mutantes hom1 – são incapazes de completar a diferenciação sexual (Liu et al. 2022)
hom2	Homeobox	<i>Schizophyllum commune</i>	Atuação conjunta com hom1 na formação de estruturas férteis	Mutantes apresentam esterilidade e falha na produção de basidiósporos (Liu et al. 2022)

MADS-box	MADS-box Domínio: MADS (MCM1, AGAMOUS, DEFICIENS, SRF)	<i>Ganoderma lucidum</i>	Controle da diferenciação tecidual durante o desenvolvimento	Mutantes apresentam primórdios malformados e frutificação incompleta (Meng et al. 2021)
PoMbp1	bZIP (Mbp1- like)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Controle de crescimento micelial e iniciação da frutificação	Mutantes Δ PoMbp1 apresentam redução na colonização e falhas na formação de corpos frutíferos (Zhang et al., 2025).
wc-1 / wc-2	bZIP (complexo White Collar)	<i>Neurospora crassa</i> (Ascomycota, ortólogos em Basidiomycota)	Percepção de luz azul; regulação de genes dependentes de estímulos ambientais	Mutantes Δ wc-1 ou Δ wc-2 são “cegos à luz”, incapazes de frutificar sob condições luminosas (Schumacher, 2017; Xu et al. 2017).

Fonte: Elaborada por Leonel, V. V. (2025).

A análise comparativa dos fatores de transcrição associados à frutificação em *Basidiomycota* evidencia a presença de mecanismos conservados, bem como particularidades específicas entre diferentes gêneros.

Em espécies como *Schizophyllum commune* e *Coprinopsis cinerea*, fatores da família Zn₂Cys₆, como *fst3* e *fst4*, demonstram papéis importantes na transição do primórdio para corpos frutíferos maduros, demonstrando um controle rigoroso da diferenciação (OHM *et al.*, 2010). Já os fatores *hom1* e *hom2*, pertencentes à família *homeobox*, reforçam a importância da regulação sexual e da compatibilidade na formação de basidiósporos, funcionando como “chaves genéticas” para a reprodução sexuada e o estabelecimento de hifas férteis (LIU *et al.*, 2022).

Também se destacam os fatores da família WC (white collar), como *wc-1* e *wc-2*, conhecidos por mediar respostas à luz azul em Ascomycota e que, em Basidiomycota, participam da regulação da frutificação dependente de estímulos ambientais. Esses FTs atuam em conjunto com elementos do complexo *white collar*, regulando a transcrição de genes sensíveis à luz e influenciando a iniciação do desenvolvimento (XU *et al.*, 2017; PARDO-MEDINA *et al.*, 2023).

Em fungos do gênero *Pleurotus*, observa-se a atuação de fatores como PoMbp1, integram sinais ambientais e nutricionais para o desenvolvimento do fungo, refletindo a plasticidade regulatória necessária para responder às condições

do substrato e condições do em seu habitat. A presença de fatores de transcrição da família MADS-box e HMG-box em diferentes basidiomicetos indica a conservação de módulos de regulação do desenvolvimento, embora sua função específica possa variar de acordo com o contexto fisiológico de cada espécie.

Em *Ganoderma lucidum*, por exemplo, o fator de transcrição MADS está associado tanto ao crescimento vegetativo quanto à diferenciação do corpo frutífero, reforçando o papel dessa família na regulação de transições morfogênicas. De forma semelhante, em *Coprinopsis cinerea* e *Lentinula edodes*, proteínas MADS-box controlam a formação de tecidos especializados durante a frutificação. Já os fatores da família HMG-box regulam a compatibilidade sexual em espécies como *Schizophyllum commune* e *Ustilago maydis*, sendo determinantes para o sucesso da frutificação (AIT BENKHALI *et al.*, 2013; MENG *et al.*, 2021; NOWROUSIAN, 2022).

A diversidade funcional de cada fator de transcrição sugere que, embora sejam compartilhados entre os fungos *Basidiomycota*, a evolução da frutificação ocorreu por meio de modificações de acordo com a atuação dos fatores de transcrição, permitindo que cada gênero/espécie se adapte o seu ciclo de vida a diferentes habitats. Dessa forma, os FTs atuam como mecanismos que traduzem estímulos ambientais, tais como luz, disponibilidade de nutrientes e variações de pH, em respostas genéticas responsáveis pelo desenvolvimento e diferenciação.

4.1 FATORES DE TRANSCRIÇÃO EM *LENTINULA EDODES*

O fungo *Lentinula edodes*, é amplamente cultivado na Ásia e em outros continentes e tem sido utilizado como modelo para estudos de expressão gênica durante a frutificação devido à sua importância econômica e nutricional. Diversos fatores de transcrição já foram descritos na espécie, demonstrando a complexidade dos mecanismos regulatórios que regulam a transição do crescimento micelial para a formação de corpos frutíferos (Chen *et al.*, 2016).

Entre os fatores identificados, destacam-se os que pertencem às famílias Zn₂Cys₆, bZIP e MADS-box, os quais participam da regulação de rotas metabólicas, diferenciação celular e morfogênese. Estudos transcriptômicos sob luz azul revelaram que múltiplos genes que codificam fatores de transcrição apresentam padrões de expressão diferencial ao longo do desenvolvimento do corpo frutífero, sugerindo sua participação ativa na transição do micélio para o primórdio e na maturação do corpo frutífero (Kim *et al.*, 2021).

Estudos com *L. edodes* demonstram que genes codificadores de fatores de transcrição com domínios Zn₂Cys₆, bZIP e HMG-box são altamente expressos durante o desenvolvimento pós-colheita do corpo frutífero. Esses padrões de expressão sugerem a atuação direta desses FTs na iniciação da frutificação e na regulação da morfogênese, funcionando como elementos

que conectam sinais ambientais como a variações de pH, disponibilidade de nutrientes e respostas ao estresse oxidativo que influencia o desenvolvimento do fungo (SAKAMOTO *et al.*, 2017).

A função dos FTs em *L. edodes* também está diretamente relacionada às condições ambientais e à resposta a estresses. A disponibilidade de luz, nutrientes e variações de temperatura afeta diretamente a transcrição de fatores regulatórios, modulando a expressão de genes envolvidos em vias metabólicas primárias e secundárias (CHEN *et al.*, 2016). Por exemplo, fatores de transcrição contendo domínios Zn₂Cys₆, como *GAL4-like* induzidos após a colheita, e proteínas com domínios bZIP apresentaram expressão elevada no corpo de frutificação, sugerindo participação desses FTs na regulação da autólise tecidual e na adaptação ao substrato (SAKAMOTO *et al.*, 2017).

Uma comparação proteômica entre *L. edodes* e outros basidiomicetos, como *Coprinopsis cinerea* e *Ganoderma lucidum*, revelam tanto semelhanças quanto especificidades. enquanto em *G. lucidum* fatores como GIMADS e PacC estão diretamente envolvidos na diferenciação de tecidos e na resposta a variações ambientais (OHM *et al.*, 2010; MENG *et al.*, 2021). No caso de *L. edodes*, análises transcriptômicas e proteômicas indicam que a regulação por fatores da família MADS-box é particularmente expressiva durante a transição micélio para primórdio, sugerindo que a espécie apresenta um perfil regulatório relacionado à adaptação do cultivo.

Análises de RNA-Seq em *Coprinopsis cinerea* identificaram a expressão diferencial de diversos fatores de transcrição, incluindo membros das famílias Zn₂Cys₆, bZIP, Homeobox, HMG-box e MADS-box, durante a transição do micélio para o primórdio e ao longo da maturação do corpo frutífero. Esses reguladores atuam na coordenação de processos como reorganização tecidual, diferenciação hifal, ativação de vias metabólicas específicas e regulação da morfogênese (MURAGACHI *et al.*, 2015).

Essas comparações reforçam que embora exista um núcleo conservado de fatores de transcrição entre os fungos *Basidiomycota*, cada espécie se adaptou a sua rede transcricional em resposta a pressões evolutivas distintas, seja para acelerar a diferenciação (como em *C. cinerea*), seja para integrar sinais ambientais de forma adaptativa para o desenvolvimento (como em *G. lucidum*).

4.2 FATORES DE TRANSCRIÇÃO EM *PLEUROTUS*

Alguns genes descobertos em *Pleurotus ostreatus* são os fatores de transcrição *Pofst3*, *PoGat1* e *PoHMG11*, as hidrofobinas *Vmb2* e *Vmb3*, *polectin2* e *Lacc2*, codificantes de lectina e lacase, respectivamente, e *Mnsod1*, gene codificador da enzima manganese superoxide dismutase que ajuda também o fungo a superar situações de estresse causado por calor. *Flammulina*

filiformis também possui genes relacionados a lectinas e hidrofobinas (*FvJRL1* e *Hyd9*), responsáveis pelo desenvolvimento do micélio e das hifas aéreas que darão início ao desenvolvimento do basidiocarpo. Alguns fatores de transcrição presentes são *Fvclp1*, *ste12-like* e *pdd1* envolvidos na promoção do desenvolvimento do corpo de frutificação e regulação de estresse abiótico e de FTs como *FvHmg1* e *LFC1*, que regulam negativamente o processo de frutificação (LI *et al.*, 2024). O macrofungo *Schizophyllum commune* também é muito estudado no contexto de regulação genética e metabólica, segundo o sequenciamento e a análise conduzidas por OHM *et al.*, (2010), descobriu-se que dos 13.210 genes preditos, 421 são fatores de transcrição, e cerca de 39% possuem ortólogos e outras espécies e 36% das proteínas são exclusivas de *S. commune*, singularidade que dificultou a anotação dos genes, que atingiu somente 43% do total predito.

5. ABORDAGENS ÔMICAS E FERRAMENTAS PARA ESTUDO DA EXPRESSÃO GÊNICA

Na atualidade, a maioria dos estudos e descobertas de genes geralmente se iniciam com comparações entre espécies de relações evolutivas próximas, campo conhecido como genômica comparativa, uma vez que os genes de interesse tenham identificados segue-se com experimentos de silenciamento (*knockdown*) ou disrupção (*knockout*) para observação dos efeitos fenotípicos e genéticos associados a eles. Tal abordagem é muito utilizada para estudar os efeitos associados a condições de estresse, ou para identificar genes associados a cada estágio de crescimento dos cogumelos, como feito por ORBAN *et al.*, (2021).

Com o advento da pós-genômica e das novas abordagens ômicas, o estudo da expressão gênica se tornou não somente mais acessível, mas também uma valiosa fonte de informações sobre o comportamento de um organismo e como se dão suas respostas metabólicas em função das condições ambientais na qual está inserido. Dentre elas vale destaque para a transcriptômica, um campo de estudo que busca analisar e sumarizar o transcriptoma de um organismo – isso é, a totalidade do RNA produzido pelo mesmo – ou mesmo realizar comparações entre espécies, a fim de inferir homologias ou relações evolutivas. A molécula de maior interesse é geralmente o mRNA, mas cada vez mais pesquisas surgem em torno de ncRNAs (noncoding RNAs), moléculas não codificadoras de proteínas que vêm sendo reconhecidas pelo seu envolvimento na regulação da expressão gênica, ainda que não completamente entendidas e consideradas em uma visão mais sistemática (MAJUMDER *et al.*, 2022).

Os primeiros passos da transcriptômica se deram na década de 1990

com o desenvolvimento do SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) a partir da quantificação de ESTs (Expressed Sequence Tag), mas a técnica foi rapidamente substituída por outros métodos, como a análise por microarray e RNA-Seq, esta última que vem dominando a área de transcriptoma desde 2015, pois requer baixo volume de material. Os principais passos incluem a extração e o isolamento do RNA, retirando RNA ribossomal e separando as moléculas alvo do DNA e demais moléculas para então fragmentar o mRNA em vários pedaços, uma vez que o mesmo costuma ser grande demais para a maior parte dos equipamentos de sequenciamento, o material geralmente ainda passa por uma etapa de amplificação por PCR, a fim de multiplicar o número de cópias de uma sequência e garantir maior confiabilidade e acurácia. Em seguida o RNA é convertido a cDNA e sequenciado, seja em apenas uma direção de fita ou em ambas. Um sequenciamento unidirecional é mais barato e rápido, e costuma ser o suficiente para análise diferencial ou quantificação de transcritos, mas se o pesquisador busca por resultados mais robustos, visando anotação de genes e descoberta de isoformas, um sequenciamento de ambas as fitas pode ser necessário para mapeamento correto da direção de leitura (LOWE *et al.*, 2017).

Para realizar a montagem do transcriptoma a partir de um RNA-Seq, é essencial assegurar a qualidade do sequenciamento e conferir se os dados obtidos são condizentes com o esperado, para que durante o alinhamento não haja problemas. O alinhamento pode ser feito a um genoma de referência, mas caso não haja nenhum disponível, é necessário fazer uma montagem dita *De Novo*, muito mais complexa em termos de tempo e trabalho computacional, pois alinha os *reads* apenas uns com os outros em busca de fragmentos que se sobreponham e ajudem a determinar uma sequência unificada (LOWE *et al.*, 2017).

Uma vez que os transcritos tenham sido alinhados e quantificados, é possível realizar uma análise de expressão diferencial de genes para comparar quais conjuntos de dados são mais expressos nas condições do estudo, e mesmo estabelecer se há diferenças entre estágios. A confirmação dos níveis de transcrição pode ser obtidos por PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR) a partir do qual os níveis de expressão de um transcrito podem ser comparados a um gene de referência, que em geral é previamente conhecido e que possua de expressão estável (COENYE, 2021).

Nesse contexto se evidencia a importância da anotação de genes em projetos de sequenciamento, pois além de gerar dados para a espécie de interesse do autor, as informações podem ser depositadas em bancos de dados e ajudar outros pesquisadores em seus respectivos estudos.

5.1 BANCO DE DADOS

Dentro do escopo da pesquisa com fungos, alguns bancos de dados

merecem destaque como democratizadores das informações conhecidas, dentre eles, o *MycoCosm*, um portal genômico que providencia acesso e visualização dos dados sequenciados pelo *Joint Genome Institute* (JGI) bem como genomas depositados em outros bancos de dados online, além de ferramentas para análise comparativa. Todos os genomas sequenciados pelo JGI seguem uma *pipeline* de anotação que integra predição, notação e análise (GRIGORIEV *et al.*, 2013). O acesso às informações é intuitivo, pois a página principal do site funciona como uma árvore taxonômica interativa a partir da qual o usuário pode explorar os diferentes organismos.

O *Fungal Transcription Factor Database* (FTFD) é um banco de dados criado para armazenar, identificar, comparar e garantir acesso público aos fatores de transcrição descobertos em fungos, vale ressaltar que por mais que haja grande confiabilidade, muitas das entradas são putativas, baseadas em análises computacionais e homologias com alguns pouco trabalhos experimentais que norteiam as descobertas (PARK *et al.*, 2008). Entretanto, o site do FTFD conta com uma interface antiga e pouco intuitiva, além de aparentar não ser atualizado a algum tempo. Contrariamente, o JASPER, apesar de não ser focado exclusivamente em fungos e não possuir tantas entradas referentes a eles, é regularmente atualizado, e possui uma interface mais receptiva, em que o usuário pode filtrar suas buscas por grupo taxonômico, espécie, classe de fatores de transcrição, entre outros, além de contar com ferramentas como o *Profile Inference*, onde o usuário pode inserir uma sequência e identificar se há padrões reconhecíveis como sítios de ligação de fatores de transcrição (RAULUSEVICIUTE *et al.*, 2023).

6. APLICAÇÕES E PERSPECTIVAS

Tendo em vista o crescente aumento na utilização de produtos de origem fúngica nos últimos anos e do número cada vez maior de patentes relacionadas a estes organismos sendo registradas, percebe-se que estamos diante de um mercado em amplo desenvolvimento, em que o estudo e caracterização das vias metabólicas dessas espécies vem sendo empregado para diversos fins. Como evidenciado por MORAES (2022) a manipulação genética dos cogumelos vem ganhando espaço desde meados da década de 90, principalmente em países leste-asiáticos como China, Japão e Coreia do Sul, marcados pelo estudo *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* e *Agaricus bisporus*.

No Brasil, o cultivo para fins alimentícios é liderado por *A. bisporus*, *P. ostreatus* e *Lentinula edodes* (RODRIGUES; OKURA, 2022), e além de buscar por formas de acelerar o crescimento e melhorar a produtividade, muitos produtores também investem em desenvolver métodos de conservação

pós-colheita, garantindo maior resistência a perda de água para o ambiente, a oxidação e a ação de outros microrganismos que podem levar a redução da vida útil desses alimentos (SHARMA; SINGH; SINGH, 2024).

Como já sabemos, os cogumelos têm um papel fundamental na manutenção do equilíbrio trófico, pois é a partir da degradação de madeira e outras matérias vegetais, conseguem os substratos necessários para seu crescimento, auxiliando no processo de decomposição e reutilização dos nutrientes na natureza. Como principais causadores da podridão branca, os basidiomicetos são espécies capazes de produzir enzimas que degradam celulose e lignina (PINTO, 2006), como a lignina peroxidase, lacase e a manganês peroxidase, essas enzimas são altamente visadas pelas indústrias de tecidos, papel/celulose e de tratamentos, pois além de metabolizar a lignina presente nos materiais vegetais, degrada também moléculas semelhantes, como pigmentos, pesticidas, disruptores endócrinos e fenóis clorados (ATIWESH *et al.*, 2021)

Ademais, um grande número dos basidiomicetos produzem compostos bioativos de grande valor medicinal e nutracêutico, com reconhecidas funções antioxidantes, antiinflamatórias, antimicrobianas, antitumorais, imunomoduladoras, antidiabéticas, hepatoprotetoras, entre outras (MORAES, 2022). Em relação a *Ganoderma lucidum*, muitos estudos conduzidos atualmente tem como foco obter uma maior produção de seus compostos, especialmente os ácidos ganodéricos, metabólitos secundários que além dos atributos já citados, são associados a efeitos anti radiação, antienvhecimento, antiparasítico, cardioprotetor e neuroprotetor (WANG *et al.*, 2024).

Mais recentemente, a utilização do micélio fúngico como biomaterial vem ganhando espaço, ao cultivar esses organismos em uma base orgânica, como resíduos agroindustriais, permite-se a criação de um material compósito com ótimas propriedades físicas, incluindo baixa ou alta densidade, hidrofobicidade, isolamento térmico e acústico, não inflamabilidade e biodegradabilidade (CERIMI *et al.*, 2019). Vale ressaltar que características inerentes a espécie utilizada tem grande influência nas propriedades do material, por exemplo, biocompósitos a base a *P. ostreatus* tendem a ser 2 vezes mais rígidos que aqueles produzidos com *G. lucidum*, esse efeito é associado a uma maior quantidade de polissacarídeos de membrana (ELSACKER *et al.*, 2020). Algumas aplicações de destaque são como embalagens (POHAN; KUSUMAWATI; RADHITANTI, 2023), material de construção (XIA, 2024) e bio-tecidos (AMOBONYE *et al.*, 2023), como um substituto do couro animal.

No momento atual, cada vez mais métodos de transformação e edição genética em macrofungos estão sendo criados e aprimorados, criando mais formas de estudar a relação entre os fatores de transcrição e as características e expressões fenotípicas associadas a ele (SUN; LIU; ZHAO, 2023). O foco dos estudos está apenas em encontrar os genes que promovem a frutificação mas também

naqueles que estejam intimamente relacionados com o crescimento do fungo e aspectos do micélio, ou que demonstrem influência nas vias metabólicas desses organismos. Entretanto, a edição genética em macrofungos ainda enfrenta diversas limitações, entre elas, uma das dificuldades é atravessar a parede celular fúngica cuja composição de quitina confere rigidez aos métodos tradicionais. Por isso, a maior parte das transformações são feitas a partir da formação de protoplastos, com remoção enzimática da parede celular ou por Transformação Mediada por *Agrobacterium tumefaciens* (ATMT), outro ponto é a falta de marcadores de seleção, até o momento, mesmo os compostos mais consolidados como higromicina B e carboxina, não funcionam para todas as espécies (JANSONIUS, 2024).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como explicitado no presente capítulo, os fatores de transcrição estão intimamente relacionados ao controle da frutificação e de outras funções de diferenciação celular, mesmo que não completamente elucidados, os estudos realizados em espécies como *Ganoderma lucidum*, *Coprinosopsis cinerea*, *Lentinus edodes*, *Neurospora crassa*, *Schizophyllum commune* e *Pleurotus ostreatus* construíram as fundações para que cada vez mais fatores de transcrição sejam descobertos e explorados em outras espécies.

Apesar de ainda limitado pelo estado da arte das tecnologias atuais, os estudos genéticos em basidiomicetos se apresenta como uma promissora abordagem contemporânea na busca por bases mais verdes e sustentáveis para o desenvolvimento industrial, podendo muito em breve alcançar os ascomicetos em número de trabalhos publicados. A criação de novas ferramentas que tornem mais prática e eficiente a edição genética nessas espécies, podem beneficiar não somente as indústrias em busca de inovações, mas também trazer importantes avanços em nosso entendimento da biologia.

Para isso, torna-se cada vez mais relevante a integração dos dados obtidos em diferentes frentes de pesquisa (molecular, morfológica, empírica, etc), a partir da realização de estudos funcionais para descoberta e anotação de genes, caracterização de vias metabólicas e de sinalização, bem como testes de aplicabilidade e construção de protótipos.

REFERÊNCIAS

AIT BENKHALI, Jinane et al. A network of HMG-box transcription factors regulates sexual cycle in the fungus *Podospora anserina*. **PLoS genetics**, v. 9, n. 7, p. e1003642, 2013. Disponível em: DOI: 10.1371/journal.pgen.1003642. Acesso: 30 de jul 2025.

ALEMU, Digafe; TAFESSE, Mesfin; MONDAL, Ajoy Kanti. Mycelium-based composite: the future sustainable biomaterial. **International journal of biomaterials**, v. 2022, n. 1, p. 8401528, 2022. Disponível em: DOI: 10.1155/2022/8401528. Acesso: 01 de ago 2025.

AMOBONYE, A. et al. Fungal mycelium as leather alternative: A sustainable biogenic material for the fashion industry. **Sustainable Materials and Technologies**, v. 38, n. e00724, 1 dez. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2023.e00724>. Acesso em 17 de ago de 2025.

ATIWESH, G. et al. Lignin degradation by microorganisms: A review. **Biotechnology Progress**, v. 38, n. 2, 9 dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/btpr.3226>. Acesso em 17 de ago de 2025.

BINDER, Manfred et al. Phylogenetic and phylogenomic overview of the *Polyporales*. **Mycologia**, v. 105, n. 6, p. 1350-1373, 2013. Disponível em: DOI: 10.3852/13-003. Acesso: 02 de ago 2025.

CERIMI, K. et al. Fungi as source for new bio-based materials: a patent review. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 6, n. 1, 26 out. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40694-019-0080-y>. Acesso em 17 de ago de 2025.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2. ed. **Boca Raton: CRC Press**, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/9780203492086>. Acesso 01 de ago 2025.

CHEN, Lianfu et al. Genome sequence of the edible cultivated mushroom *Lentinula edodes* (Shiitake) reveals insights into lignocellulose degradation. **PLoS One**, v. 11, n. 8, p. e0160336, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160336>. Acesso: 09 de ago 2025.

CHEN, S. et al. Genome sequence of the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. **Nature Communications**, v. 3, n. 1, jan. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ncomms1923>. Acesso em 06 de ago de 2025.

COENYE, T. Do results obtained with RNA-sequencing require independent verification? **Biofilm**, v. 3, p. 100043, dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2021.100043>. Acesso em: 06 de ago de 2025.

ELSACKER, E. *et al.*, A comprehensive framework for the production of mycelium-based lignocellulosic composites. **Science of The Total Environment**,

v. 725, n. 138431, p. 138431, 10 jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138431>. Acesso em 17 de ago de 2025.

FISCHER, Reinhard et al. The complexity of fungal vision. **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 6, p. 10.1128/microbiolspec.funk-0020-2016, 2016. Disponível em: DOI: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0020-2016. Acesso: 12 de ago 2025.

GRIGORIEV, I. V. et al. MycoCosm portal: gearing up for 1000 fungal genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. D1, p. D699–D704, 1 dez. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1183>. Acesso em 08 de ago de 2025.

JANSONIUS, Koert. **Tools and Approaches for the Genetic Engineering of Basidiomycete Fungi**. 2024. Tese de Doutorado.

KAMADA, Takashi et al. Regulation of fruiting body photomorphogenesis in *Coprinopsis cinerea*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 47, n. 11, p. 917-921, 2010. Disponível em: DOI: 10.1016/j.fgb.2010.05.003. Acesso: 16 de ago 2025.

KIM, Dae Yeon et al. Transcriptome analysis identified candidate genes involved in fruit body development under blue light in *Lentinula edodes*. **Applied Sciences**, v. 11, n. 15, p. 6997, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app11156997>. Acesso: 09 de ago 2025.

KUEES, Ursula. From two to many: multiple mating types in *Basidiomycetes*. **Fungal Biology Reviews**, v. 29, n. 3-4, p. 126-166, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2015.11.001>. Acesso: 15 de ago 2025.

KÜES, U.; LIU, Y. Fruiting body production in *basidiomycetes*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 54, p. 141–152, 2000. Disponível em: DOI: 10.1007/s002530000396. Acesso: 17 de ago 2025.

LI, Han; ZHONG, Jian-Jiang. Role of calcineurin-responsive transcription factor CRZ1 in ganoderic acid biosynthesis by *Ganoderma lucidum*. **Process Biochemistry**, v. 95, p. 166-173, 2020. Disponível em: DOI: 10.1016/j.procbio.2020.05.027. Acesso: 12 de ago 2025.

LI, W. et al. Current Advances in the Functional Genes of Edible and Medicinal Fungi: Research Techniques, Functional Analysis, and Prospects. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 5, p. 311–311, 25 abr. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof10050311>. Acesso: 06 de ago de 2025.

LIU, Cuicui et al. Molecular mechanism by which the GATA transcription factor CcNsdD2 regulates the developmental fate of *Coprinopsis cinerea* under dark or light conditions. **Mbio**, v. 13, n. 1, p. e03626-21, 2022. Disponível em: doi: 10.1128/mbio.03626-21. Acesso: 12 de ago 2025.

LIU, He et al. A Gene from *Ganoderma lucidum* with Similarity to nmrA of Filamentous Ascomycetes Contributes to Regulating AreA. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 5, p. 516, 2023. Disponível em: DOI: 10.3390/jof9050516. Acesso: 15 de ago 2025.

LIU, Yong-Nan et al. The bHLH-zip transcription factor SREBP regulates triterpenoid and lipid metabolisms in the medicinal fungus *Ganoderma lingzhi*. **Communications Biology**, v. 6, n. 1, p. 1, 2023. Disponível em: DOI: 10.1038/s42003-022-04154-6. Acesso: 13 de ago 2025.

LOWE, R. et al. Transcriptomics technologies. **PLOS Computational Biology**, v. 13, n. 5, p. e1005457, 18 maio de 2017. Disponível em: <https://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1005457>. Acesso em: 05 de ago de 2025.

LUSCOMBE, Nicholas M. *et al.*, An overview of the structures of protein-DNA complexes. **Genome biology**, v. 1, n. 1, p. reviews001. 1, 2000. Disponível em: DOI: 10.1186/gb-2000-1-1-reviews001. Acesso: 10 de ago 2025.

MAJUMDER, R. et al. Prokaryotic ncRNAs: Master regulators of gene expression. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, p. 100136, out. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.crphar.2022.100136>. Acesso em 16 de ago de 2025.

MENG, Li et al. Enhanced ganoderic acids accumulation and transcriptional responses of biosynthetic genes in *Ganoderma lucidum* fruiting bodies by elicitation supplementation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 11, p. 2830, 2019. Disponível em: DOI: 10.3390/ijms20112830. Acesso: 09 de ago 2025.

MENG, Li et al. The MADS-box transcription factor GLMADS1 regulates secondary metabolism in *Ganoderma lucidum*. **Mycologia**, v. 113, n. 1, p. 12-19, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00275514.2020.1810515>. Acesso: 07 de ago 2025.

MENG, Li et al. Transcriptome and metabolome analyses reveal transcription factors regulating ganoderic acid biosynthesis in *Ganoderma lucidum* development. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 956421, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.956421>. Acesso em: 10 de ago. 2025.

MOORE, David; ROBSON, Geoffrey D.; TRINCI, Anthony PJ. **21st century guidebook to fungi**. Cambridge University Press, 2020. Disponível em: DOI: 10.1017/CBO9780511977022. Acesso: 09 de ago 2025.

MORAIS, Wyllian Figueiredo de. **Caracterização e quantificação do uso de vetores em cogumelos basidiomicetos com o intuito de melhoramento genético**. 2022. Monografia (Especialização em Biologia Molecular) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2022.

MORIN, Emmanuelle et al. Genome sequence of the button mushroom *Agaricus bisporus* reveals mechanisms governing adaptation to a humic-rich ecological niche. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 43, p. 17501-17506, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1206847109>. Acesso em 08 de ago de 2025.

MUINO, Jose M. et al. Structural determinants of DNA recognition by plant MADS-domain transcription factors. **Nucleic acids research**, v. 42, n. 4, p. 2138-2146, 2014. Disponível em: DOI: 10.1093/nar/gkt1172. Acesso: 07 de ago 2025.

MURAGUCHI, Hajime et al. Strand-specific RNA-seq analyses of fruiting body development in *Coprinopsis cinerea*. **PloS one**, v. 10, n. 10, p. e0141586, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141586>. Acesso: 12 de ago 2025.

NOWROUSIAN, Minou. The role of chromatin and transcriptional control in the formation of sexual fruiting bodies in fungi. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 86, n. 4, p. e00104-22, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mmbr.00104-22>. Acesso em 10 de ago de 2025.

OHM, R. A. et al. Genome sequence of the model mushroom *Schizophyllum commune*. **Nature Biotechnology**, v. 28, n. 9, p. 957-963, 11 jul. 2010. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nbt.1643>. Acesso em 08 de ago de 2025.

OHM, Robin A. et al. Transcription factor genes of *Schizophyllum commune* involved in regulation of mushroom formation. **Molecular Microbiology**, v. 81, n. 6, p. 1433-1445, 2011. Disponível em: DOI: 10.1038/nbt.1643. Acesso: 10 de ago 2025.

OPENAI. *ChatGPT* (versão GPT-5) [inteligência artificial]. São Francisco: OpenAI, 2025. Disponível em: <https://chat.openai.com/>. Acesso em: 24 ago. 2025.

ORBAN, A. *et al.*, Transcriptome of different fruiting stages in the cultivated mushroom *Cyclocybe aegerita* suggests a complex regulation of fruiting and reveals enzymes putatively involved in fungal oxylipin biosynthesis. **BMC Genomics**, v. 22, n. 1, 4 maio 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07648-5>. Acesso em 05 de ago de 2025.

PARDO-MEDINA, Javier; LIMÓN, M. Carmen; AVALOS, Javier. Fusarium photoreceptors. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 3, p. 319, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9030319>. Acesso: 09 de ago 2025.

PARK, J. et al. FTFD: an informatics pipeline supporting phylogenomic analysis of fungal transcription factors. **Bioinformatics**, v. 24, n. 7, p. 1024–1025, 26 fev. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn058>. Acesso em 08 de ago de 2025.

POHAN, J. N.; KUSUMAWATI, Y. A.; RADHITANTI, A. Mushroom Mycelium-Based Biodegradable Packaging Material: A Promising Sustainable Solution for Food Industry. **E3S Web of Conferences**, v. 426, p. 02128, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202342602128>. Acesso em 17 de ago de 2025.

RAULUŠEVIČIŪTĖ et al. JASPAR 2024: 20th anniversary of the open-access database of transcription factor binding profiles. **Nucleic Acids Research**, 14 nov. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1059>. Acesso em: 20 de Ago de 2025.

RODRIGUES, G. DE M.; OKURA, M. H. Cogumelos comestíveis no Brasil: uma revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p. e24711830830, 17 jun. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i8.30830>. Acesso em 16 de ago de 2025.

SAKAMOTO, Yuichi et al. *Lentinula edodes* genome survey and postharvest transcriptome analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 10, p. e02990-16, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.02990-16>. Acesso: 12 de ago 2025.

SAKAMOTO, Yuichi. Influences of environmental factors on fruiting body induction, development and maturation in mushroom-forming fungi. **Fungal biology reviews**, v. 32, n. 4, p. 236-248, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2018.02.003>. Acesso: 17 de ago 2025.

SCHUMACHER, Julia. How light affects the life of *Botrytis*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 106, p. 26-41, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2017.06.002>. Acesso: 09 de ago. 2025.

SHARMA, V.; SINGH, P.; SINGH, A. Shelf-life extension of fresh mushrooms: From conventional practices to novel technologies—A comprehensive review. **Future Postharvest and Food**, 30 ago. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/fpf2.12029>. Acesso em 17 de ago de 2025.

SHELEST, Ekaterina. Transcription factors in fungi. **FEMS microbiology letters**, v. 286, n. 2, p. 145-151, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01293.x>. Acesso: 17 de ago 2025.

SIERRA, Luz Alba Ballen et al. Current situation and future perspectives for the use of fungi in the biomaterial industry and proposal for a new classification of fungal-derived materials. **PeerJ Materials Science**, v. 5, p. e31, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.7717/peerj-matsci.31>. Acesso: 17 de ago 2025.

SUN, Sheng et al. Fungal sexual reproduction and mating-type loci. **Current Biology**, v. 35, n. 11, p. R496-R503, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2025.04.061>. Acesso: 10 de ago 2025

SUN, X.; LIU, D.; ZHAO, X. Transcription factors: switches for regulating growth and development in macrofungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 107, n. 20, p. 6179–6191, 25 ago. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12726-7>. Acesso em 06 de ago de 2025.

THEWES, S. Calcineurin-Crz1 signaling in lower eukaryotes. **Eukaryotic cell**, v. 13, n. 6, p. 694-705, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/EC.00038-14>. Acesso: 15 de ago 2025.

TODD, Richard B. et al. Prevalence of transcription factors in *ascomycete* and *basidiomycete* fungi. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 214, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-214>. Acesso: 10 de ago 2025.

VONK, Peter Jan; OHM, Robin A. The role of homeodomain transcription factors in fungal development. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 4, p. 219-230, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2018.04.002>. Acesso: 14 de ago 2025.

WANG, Haibo et al. Structures of transcription preinitiation complex

engaged with the + 1 nucleosome. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 226-232, 2023. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41594-022-00865-w>. Acesso: 10 de ago. 2025.

WANG, S. et al. Research Progress on the Biological Activity of Ganoderic Acids in *Ganoderma lucidum* over the Last Five Years. **Life** (Basel, Switzerland), v. 14, n. 10, p. 1339, Spring 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/life14101339>. Acesso em 17 de ago de 2025.

XIA, Q. Utilizing mycelium-based materials for sustainable construction. **Applied and Computational Engineering**, v. 63, n. 1, p. 10–15, 9 maio 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.54254/2755-2721/63/20240967>. Acesso em 17 de ago de 2025.

XU, Hongyan et al. Enhancing yield and quality: research and practice of agro-forest waste for *Lentinus edodes* (shiitake mushroom) cultivation. **Frontiers in Nutrition**, v. 12, p. 1538039, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1538039>. Acesso: 10 de ago 2025.

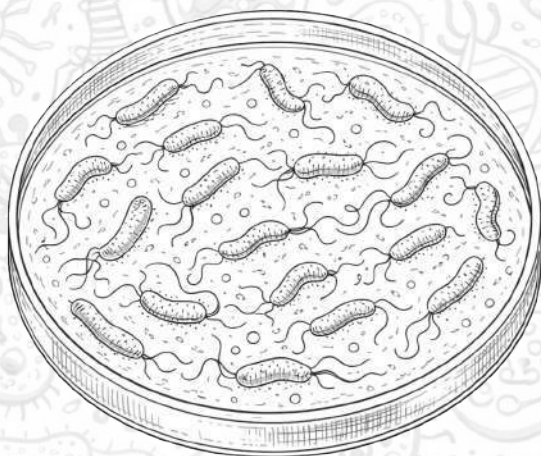
XU, Xinran et al. Cloning and analysis of the Glwc-1 and Glwc-2 genes encoding putative blue light photoreceptor from *Ganoderma lucidum*. **Journal of Basic Microbiology**, v. 57, n. 8, p. 705-711, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jobm.201700016>. Acesso: 09 de ago 2025.

YU, G.-J. et al. Deep Insight into the *Ganoderma lucidum* by Comprehensive Analysis of Its Transcriptome. **PLoS ONE**, v. 7, n. 8, p. e44031, 27 ago. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044031>. Acesso em 05 de ago de 2025.

ZHANG, Guang et al. Ethylene promotes mycelial growth and ganoderic acid biosynthesis in *Ganoderma lucidum*. **Biotechnology letters**, v. 39, p. 269-275, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10529-016-2238-5>. Acesso: 09 de ago 2025.

ZHANG, Lijiao et al. The transcription factor PoMbp1 promotes the growth and development of *Pleurotus ostreatus* by regulating polysaccharide utilisation. **Mycology**, p. 1-16, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/021501203.2025.2467115>. Acesso: 11 de ago 2025.

ZHOU, Xuan-Wei; SU, Kai-Qi; ZHANG, Yong-Ming. Applied modern biotechnology for cultivation of *Ganoderma* and development of their products. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 941-963, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3780-7>. Acesso: 11 de ago 2025.



Azospirillum na Agricultura Moderna: Dos Estudos Biológicos ao uso no Campo

*Helyemari Valentim Althaus
Dorival Domingos Valentim Neto
Ricardo Antonio Ayub*

CAPÍTULO

07

1. INTRODUÇÃO

A crescente necessidade em produzir alimentos de forma segura e sustentável, aliada à urgência em reduzir a dependência por fertilizantes químicos, tem impulsionado a busca por uma agricultura mais ecológica. Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), a população mundial deve crescer cerca de 35% até 2050, elevando em 60 a 110% a demanda por produtos agrícolas (NOSHEEN *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022). Assim, ampliar a produção agrícola e garantir a segurança ambiental é um dos maiores desafios do século XXI.

Nesse cenário, a utilização de microrganismos benéficos ao solo e às plantas emergem na busca de uma agricultura mais sustentável. As comunidades microbianas, como um componente fundamental dos ecossistemas, desempenham papel importante na manutenção da fertilidade do solo, ciclagem de nutrientes e preservação da diversidade das comunidades vegetais (RAMAKRISHNA *et al.*, 2019). As plantas estão naturalmente associadas a uma alta diversidade de microrganismos benéficos, essa microbiota contribui para saúde, qualidade e produtividade vegetal, facilitando a aquisição de nutrientes, melhorando as defesas naturais das plantas e promovendo resistência aos estresses bióticos e abióticos (CASTANHEIRA *et al.*, 2017; KONG *et al.*, 2022; NAM *et al.*, 2023; FASUSI *et al.*, 2023).

A rizosfera, uma microzona na interface solo-raiz fortemente influenciada pela planta e seus exsudados (compostos, principalmente, por aminoácidos, açúcares e diversos ácidos orgânicos), é considerada um dos ecossistemas mais complexos e competitivos do planeta, sendo um dos principais habitats para os microrganismos benéficos associados às plantas (PRASHAR *et al.*, 2014; ANDRADE *et al.*, 2019; NAM *et al.*, 2023; ZHU *et al.*, 2023). Entre esses microrganismos estão bactérias capazes de colonizar as raízes e formar associações simbióticas ou não simbióticas com as plantas, beneficiando seu desenvolvimento, crescimento e produção (CASSAN *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2017; CHEBOTAR *et al.*, 2022). A esses microrganismos foi dado o nome de rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; PRASHAR *et al.*, 2014; RAMAKRISHNA *et al.*, 2019; AZIZOGLU *et al.*, 2021; FASUSI *et al.*, 2023).

As BPCV regulam o crescimento das plantas e melhoram a saúde do solo por diferentes mecanismos diretos ou indiretos. Esses mecanismos incluem, mas não estão limitados a fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilização de minerais, produção de fitormônios, rizoremediação de solos contaminados, controle de estresse biótico e abiótico, biocontrole contra fitopatógenos e insetos, além de aumentar a biodisponibilidade de nutrientes para as plantas.

Dentre os inúmeros gêneros bacterianos descritos como BPCV, o

gênero *Azospirillum* emergiu como um dos mais promissores e é atualmente um dos mais estudados devido à sua capacidade de colonizar mais de 100 espécies de plantas, distribuídas em 35 famílias botânicas, a maioria de interesse econômico (DOBEREINER, 1992; CASSAN *et al.*, 2020; PEDROSA *et al.*, 2020; BARBOSA *et al.*, 2022). *Azospirillum* é um gênero de bactérias Gram-negativas, de vida livre ou associada a plantas, microaerófilas, geralmente não fermentativas e fixadoras de nitrogênio. As bactérias desse gênero são comumente encontradas associadas às raízes de diferentes espécies de plantas e podem ser observadas em todo planeta sob uma variedade de ambientes e condições de solo, incluindo solos agrícolas, solos contaminados, fontes naturais de sulfeto, ambientes aquáticos e, em estudos experimentais, testadas em células de combustíveis microbianos (PEDRAZA *et al.*, 2009; CHÁVEZ-HERRERA *et al.*, 2018; CASSAN *et al.*, 2020; PEDROSA *et al.*, 2020; CRUZ-HERNANDEZ *et al.*, 2022).

Nas últimas décadas, as bactérias do gênero *Azospirillum* vêm sendo extensivamente estudadas, tornando-se um modelo em pesquisas sobre a interação planta-bactéria (CASSAN *et al.* 2020; SUN; SHAHRAJABIAN; WANG, 2025). O crescente número de estudos permitiu uma melhor compreensão dos mecanismos de ação intrínsecos ao gênero, e o sequenciamento genômico de diferentes estirpes de *Azospirillum* vem contribuindo para a identificação de genes e a elucidação de funções relacionadas à promoção do crescimento vegetal e à adaptação a diferentes ambientes, favorecendo o desenvolvimento de inoculantes com aplicabilidade prática no campo (FUKAMI *et al.*, 2018; CASSAN *et al.* 2020; GIRI *et al.*, 2025).

Diante disso, o presente capítulo tem como objetivo apresentar uma visão abrangente sobre o gênero *Azospirillum*, abordando seus aspectos ecológicos, mecanismos de promoção de crescimento vegetal, aplicações agrônômicas e perspectivas futuras de uso como biofertilizante.

2. BIOLOGIA DO GÊNERO *AZOSPIRILLUM*

O gênero *Spirillum* foi inicialmente descrito por Beijerinck em 1925. Contudo, na década de 1970, estudos taxonômicos e fisiológicos levaram a reclassificação de algumas espécies desse grupo no gênero *Azospirillum*, cuja relevância científica ganhou destaque internacional após a descoberta da capacidade dessas bactérias de fixar nitrogênio atmosférico. Tal descoberta, conduzida por pesquisadores brasileiros liderados pela Dr^a Johanna Döbereiner (Tarrand *et al.*, 1978), representou um marco na microbiologia do solo, ao consolidar *Azospirillum* como um dos principais representantes das bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) e aprofundar o

entendimento das interações benéficas entre microrganismos e plantas.

O gênero *Azospirillum* pertence à classe Alphaproteobacteria, ordem Rhodospirillales e família Azospirillaceae, da qual é o gênero-tipo (SANTOS FERREIRA *et al.*, 2022). Atualmente, é composto por 25 espécies oficialmente validadas segundo a List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN; <https://lpsn.dsmz.de/genus/azospirillum>). Essas bactérias são diazotróficas, de vida livre, Gram-negativas, microaerófilas, não formadoras de esporos, não fermentativas, com células em forma de bastonete ou espiral, e amplamente encontradas associadas às raízes de diversas espécies vegetais. Em meio líquido são móveis e apresentam um único flagelo, já em meio sólido, crescidas a 30°C, apresentam numerosos flagelos laterais de menor comprimento. Sua plasticidade adaptativa e a capacidade de colonizar mais de 100 espécies de plantas, pertencentes a 35 famílias botânicas, muitas de relevância agrícola, fazem de *Azospirillum* um gênero-modelo para estudos de interação planta–bactéria, com impacto direto na promoção do crescimento vegetal e na produtividade agrícola (HUNGRIA *et al.*, 2010; FUKAMI *et al.*, 2018; CASSÁN *et al.*, 2020; SANTOS FERREIRA *et al.*, 2020; 2022).

A espécie-tipo do gênero é *Azospirillum brasilense* Sp7, utilizada como referência taxonômica na descrição original do grupo (TARRAND *et al.*, 1978). A primeira espécie descrita, anteriormente conhecida como *Spirillum lipoferum* por Beijerinck (1925) e hoje reclassificada como *Azospirillum lipoferum*, é associada principalmente a cereais e gramíneas forrageiras, sendo uma das espécies pioneiras estudadas no gênero (CRUZ-HERNANDES *et al.*, 2022; SUN; SHAHRAJABIAN; WANG, 2025). Entre as espécies mais estudadas destacam-se: *A. baldaniorum* Sp245 (anteriormente classificada como *A. brasilense* Sp245), amplamente empregada como espécie modelo em pesquisas de interação planta-bactéria devido à sua capacidade de colonizar diferentes hospedeiros, promover crescimento vegetal e possuir genoma totalmente sequenciado (SANTOS FERREIRA, 2020). Outra espécie de grande relevância agrícola; é a espécie-tipo *A. argentinense* Az39 (anteriormente *A. brasilense* Az39), isolada da superfície de raízes esterilizadas de trigo na Argentina. Reconhecida por sua eficiência em aumentar a produtividade das culturas de milho e trigo, *A. argentinense* é a estirpe mais utilizada em inoculantes na América Latina e também possui genoma completo sequenciado (DÍAZ-ZORITA; FERNANDÉZ-CANIGIA, 2009; RIVERA *et al.*, 2014; SANTOS FERREIRA, 2022).

Outras espécies de relevância agrícola incluem *A. oryzae*, isolada de rizosferas de arroz, *A. zaeae*, proveniente de milho e *A. canadense*, isolada da rizosfera de milho e adaptada a ambientes de clima frio (XIE *et al.*, 2005; SUN SHARAJABIAN; WANG, 2025). A diversidade filogenética do gênero, evidenciada por análises baseadas em sequências genômicas, reflete sua ampla plasticidade adaptativa e

potencial para aplicações biotecnológicas em diferentes sistemas agrícolas.

Além da diversidade taxonômica, as espécies do gênero *Azospirillum* apresentam diferentes modos de interação com as plantas, colonizando a rizosfera, a superfície radicular (epifítico) e o interior dos tecidos vegetais (endofítico). Essa plasticidade na associação permite uma adaptação eficiente a diversos hospedeiros e condições ambientais (CASSÁN *et al.*, 2014; HOUSH *et al.*, 2021; CASSÁN *et al.*, 2020; BARBOSA *et al.*, 2022). A capacidade de formar biofilmes é outro fator crucial para o estabelecimento dessas bactérias no ambiente rizosférico. Os biofilmes promovem a adesão das células bacterianas às raízes, protegem-nas contra estresses ambientais e facilitam a troca de sinais químicos entre a bactéria e a planta, além de aumentar a eficiência da colonização e da promoção do crescimento vegetal (CASSÁN *et al.*, 2020; SANTOS FERREIRA, 2022).

3. MECANISMOS DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL

O primeiro mecanismo proposto para explicar a capacidade do *Azospirillum* em promover o crescimento vegetal foi a fixação biológica do nitrogênio. Na sequência um crescente número de estudos propôs mecanismos adicionais que implicam na promoção do crescimento, como a produção de fitormônios (auxinas, citocinas, giberelina, ácido abscísico e etileno), proteção contra estresses bióticos e abióticos, biocontrole contra fitopatógenos, solubilização de fosfato e potássio, produção de sideróforos, facilitação na assimilação de ferro, entre outros (FUKAMI *et al.*, 2018; CHANDRAMOHAN REDDY; GOYAL, 2020; CASSÁN *et al.*, 2020; HOUSH *et al.*, 2021; BARBOSA *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2022).

Devido aos vários mecanismos pelos quais *Azospirillum* é capaz de promover o crescimento vegetal, foi proposta uma hipótese aditiva, segundo a qual as bactérias desse gênero atuam em um padrão cumulativo ou sequencial de efeitos, nos quais os mecanismos ocorrem simultaneamente ou em sequência, atuando de forma complementar e potencializando os benefícios para a planta (FUKAMI *et al.*, 2018; PEDROSA *et al.*, 2020; SCUDELETTI *et al.*, 2023). Essa hipótese aditiva contrasta com visões simplistas que buscam um único mecanismo dominante e destaca a importância das interações planta-microrganismo e do contexto ambiental para a manifestação dos efeitos benéficos.

3.1 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN)

A disponibilidade de nitrogênio é um dos principais fatores limitantes para o crescimento e produtividade das culturas vegetais (SANTOS *et al.*, 2017). Nas plantas, a deficiência de nitrogênio está associada à redução da divisão e

expansão celular, área foliar e da taxa fotossintética (GHENOV *et al.*, 2021). Embora seja um dos elementos mais abundantes na atmosfera, correspondendo a cerca de 78% de sua fração gasosa, em sua forma molecular (N₂) o nitrogênio é um gás inerte que não reage quimicamente em condições naturais, não sendo prontamente assimilado pelas plantas. Nesse contexto, a fixação biológica do nitrogênio (FBN), um processo essencialmente microbiológico, complexo e realizado por um restrito grupo de procariotos (Bacteria e Archaea), denominados diazotróficos, é a principal via de entrada de nitrogênio em formas assimiláveis nos ecossistemas naturais (DOBEREINER, 1992; BACA *et al.*, 2000; BALDANI; BALDANI, 2005; GHENOV *et al.*, 2021).

De acordo com o tipo de interação estabelecida, a FBN pode ocorrer de três formas: de vida livre, associativa ou simbiótica (PANKIEVICZ *et al.*, 2019; SOUMARE *et al.*, 2020; GUO *et al.*, 2023). Na fixação de vida livre ou associativa, diazotróficos presentes no solo ou associados às plantas utilizam compostos orgânicos como fonte de energia para fixar nitrogênio, em condições microaeróbicas, atendendo prioritariamente ao seu próprio metabolismo, mas liberando parte do nitrogênio assimilado ao hospedeiro. Enquanto os de vida livre atuam independentemente de interações próximas, os associativos habitam a superfície radicular, espaços intersticiais ou tecidos vegetais, juntas, essas formas contribuem com cerca de 50–70 teragramas (Tg) de nitrogênio fixado por ano em escala global (PANKIEVICZ *et al.*, 2019; GUO *et al.*, 2023).

Por fim, na fixação simbiótica, microrganismos instalados em estruturas especializadas, como nódulos radiculares, utilizam produtos fotossintéticos do hospedeiro como fonte de energia para fixar N em benefício direto da planta (SOUMARE *et al.*, 2020; GUO *et al.*, 2023). Em *Azospirillum*, a fixação é exclusivamente de vida livre ou associativa, sem formação de nódulos, o que lhe confere grande versatilidade ecológica e capacidade de colonizar diferentes culturas e condições ambientais (CASSÁN *et al.*, 2020; GUO *et al.*, 2023).

A FBN consiste na redução do N₂ atmosférico a amônia (NH₃) pela ação do complexo enzimático nitrogenase, altamente conservado entre os diazotróficos. Esse complexo é formado por duas proteínas: a dinitrogenase redutase (Fe-proteína), codificada pelo gene *nifH*, responsável pela transferência de elétrons, e a dinitrogenase (MoFe-proteína), codificada pelos genes *nifD* e *nifK*, que contém o sítio ativo onde ocorre a redução do N₂ a amônia (ZEHR *et al.*, 2003; REIS; TEIXEIRA, 2006; CASSÁN *et al.*, 2020). O processo demanda grande aporte energético, consumindo cerca de 16 moléculas de ATP para cada molécula de N₂ fixada, e é extremamente sensível à presença de oxigênio (CASSÁN *et al.*, 2020; SOUMARE *et al.*, 2020; GIRI *et al.*, 2025). A reação global pode ser representada da seguinte forma:



Após sua formação no citoplasma bacteriano, a amônia é rapidamente protonada, formando amônio (NH_4^+). Em concentrações elevadas, o NH_4^+ inibe a expressão e a atividade da nitrogenase, sendo necessário que seja prontamente assimilado ou exportado para fora da célula (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; REIS; TEIXEIRA, 2006; CASSÁN *et al.*, 2020).

No gênero *Azospirillum*, a assimilação intracelular do amônio ocorre por duas vias principais, presentes em todas as espécies estudadas até o momento. Sob baixas concentrações de NH_4^+ , predomina a via da glutamina sintetase (GS) associada à glutamato sintase (GOGAT). Já em condições de altas concentrações de NH_4^+ , a assimilação ocorre pela via da glutamato desidrogenase (GDH), enquanto a GS é inativada por adenililação sucessiva de suas 12 subunidades, catalisada pela enzima bifuncional adenililtransferase (GlnE). Além disso, o excesso de NH_4^+ atua como sinal de repressão, levando à inibição da atividade da nitrogenase e, conseqüentemente, da fixação de N_2 (SANTOS *et al.*, 2017; CASSÁN *et al.*, 2020; PEDROSA *et al.*, 2020).

Machado e colaboradores (1991), caracterizaram um mutante espontâneo, *A. brasilense* HM053, derivado de *A. brasilense* Sp7 (Sp7 ATCC 29145, Sm^R , Nal^R), na glutamina sintetase (GS), capaz de excretar amônio e fixar nitrogênio constitutivamente, mesmo na presença de altas concentrações de NH_4^+ (MACHADO *et al.*, 1991; SANTOS *et al.*, 2017; PEDROSA *et al.*, 2020). Esta capacidade está relacionada a uma baixa atividade da glutamina sintetase, resultando em uma deficiência na assimilação do NH_4^+ e excreção do excesso de amônio produzido durante a fixação do nitrogênio, tornando essa estirpe um forte candidato como biofertilizante para fornecer nitrogênio (MACHADO *et al.*, 1991; SANTOS *et al.*, 2017; PEDROSA *et al.*, 2020; GHENOV *et al.*, 2021; BARBOSA *et al.*, 2022).

O estudo de mutantes capazes de excretar amônio, como a estirpe HM053, representa um novo e promissor viés na busca por biofertilizantes de nitrogênio mais eficientes, ampliando o potencial de aplicação agrícola do gênero *Azospirillum*.

3.2 SÍNTESE DE FITORMÔNIOS E TOLERÂNCIA AO ESTRESSE ABIÓTICO

Fitohormônios ou reguladores do crescimento vegetal são substâncias sintetizadas pelas plantas em baixíssimas concentrações que atuam em diversos processos fisiológicos e bioquímicos, medeiam o crescimento e desenvolvimento das plantas e agem como moléculas sinalizadoras em resposta a estresses ambientais (FAHAD *et al.*, 2015; KHATOON *et al.*, 2020). A capacidade de *Azospirillum* em promover o crescimento vegetal está associada à sua habilidade de sintetizar e excretar fitormônios, que atuam diretamente

no desenvolvimento radicular e na resposta das plantas a condições de estresse (OLENSKA *et al.*, 2020; BHAT *et al.*, 2023). Entre os principais reguladores produzidos por *Azospirillum*, destacam-se o ácido indol-3-acético (AIA), citocininas (CKs), giberelinas (GAs), ácido abscísico (ABA), compostos relacionados ao metabolismo do etileno e outros reguladores do crescimento de plantas (CASSÁN *et al.*, 2014; FUKAMI *et al.*, 2018; CASSÁN *et al.*, 2020; BHAT *et al.*, 2023; GANUSOVA *et al.*, 2025).

No gênero *Azospirillum*, a síntese de auxinas, especialmente de ácido indol-3-acético (AIA), ocorre predominantemente pela via do ácido indol-3-pirúvico (IPyA), na qual o triptofano, frequentemente obtido a partir de exsudatos radiculares, é convertido a indol-3-piruvato pela ação de aminotransferases. Este, por sua vez, é descarboxilado a indol-3-acetaldeído pela enzima indol-3-piruvato descarboxilase (IpdC) e, subsequentemente, oxidado a AIA por uma aldeído desidrogenase (CASSÁN *et al.*, 2020; GIRI *et al.*, 2025). Outras rotas biossintéticas também foram identificadas, como a via da indolacetamida (IAM), mediada por triptofan-2-monoxigenase e indolacetamida hidrolase, e a via da triptamina (TAM), que envolve triptofano descarboxilase e amina oxidase, ambas menos frequentes em *Azospirillum*. Adicionalmente, estudos sugerem a existência de uma via triptofano-independente, cujo papel fisiológico ainda não está completamente elucidado, mas que pode contribuir para a produção basal de AIA mesmo na ausência do aminoácido precursor (PRINSEN *et al.*, 1993; CASSÁN *et al.*, 2014; 2020; GANUSOVA *et al.*, 2025). Um resumo das principais vias biossintéticas de AIA em *Azospirillum* é apresentado no Quadro 1.

Quadro 1 - Vias de biossíntese de ácido indolacético (AIA) em *Azospirillum*

Via	Dependência de Triptofano	Precursor inicial	Enzimas-chave	Intermediários principais	Relevância
IPyA (ácido indol-3-pirúvico)	Sim	Triptofano	Aminotransferase; IpdC (indol-3-piruvato descarboxilase); aldeído desidrogenase	Indol-3-piruvato → Indol-3-acetaldeído → AIA	Principal via em <i>Azospirillum</i> ; estimulada por exsudatos radiculares ricos em triptofano
IAM (indol-3-acetamida)	Sim	Triptofano	Triptofan-2-monoxigenase; indolacetamida hidrolase	Indol-3-acetamida → AIA	Menos frequente; comum em bactérias fitopatogênicas

TAM (triptamina)	Sim	Triptofano	Triptofano descarboxilase; amina oxidase	Triptamina → Indol-3-acetaldeído → AIA	Menos estudada; pode atuar em condições microaeróbias
Independente de Triptofano	Não	Indol-3- glicerol fosfato (ou outros intermediários da via do shikimato)	Enzimas de clivagem e oxidação do anel indol (não totalmente caracterizadas)	Indol-3-glicerol fosfato → AIA	Pouco elucidada; pode sustentar produção basal de AIA na ausência de triptofano

Fonte: Os Autores (2025).

Atualmente, acredita-se que *Azospirillum* promova a fitoestimulação do crescimento radicular através do AIA sintetizado por uma série de mudanças morfológicas, como a diminuição do alongamento da raiz principal, estimulação na formação e alongamento de raízes adventícias e laterais e pêlos radiculares, levando a expansão do volume radicular e ampliando a superfície de contato com o solo. Essas modificações na arquitetura da raiz favorecem a aquisição de água e nutrientes, incluindo o nitrogênio, o que melhora o crescimento da planta como um todo (CASSÁN *et al.*, 2020; GIRI *et al.*, 2025).

Diversos estudos têm demonstrado que a produção de AIA por *Azospirillum* resulta em alterações significativas na morfologia radicular, favorecendo tanto o crescimento quanto a tolerância a condições adversas. Em revisão de literatura, Cassán e colaboradores (2020) demonstram que a inoculação de *A. brasilense* estimulou a formação de raízes laterais e pêlos radiculares em milho e trigo, aumentando a superfície de absorção e a eficiência no aproveitamento de nutrientes. De forma semelhante, Fukami e colaboradores (2017) verificaram que a inoculação de *A. brasilense* em milho não apenas intensificou o desenvolvimento radicular, mas também elevou a biomassa aérea, mesmo sob condições de déficit de água. Estudos com a estirpe HM053 enfatizaram sua capacidade de colonizar de forma eficiente raízes de trigo, aumentando a massa seca da parte aérea e da raiz em 30 e 49% em relação a plantas não inoculadas (SANTOS *et al.*, 2017). Já Althaus e colaboradores (2025) observaram maior desenvolvimento das raízes em morangueiros inoculados com duas estirpes de *A. brasilense* (Ab-V5 e HM053) sob limitação de nitrogênio.

Além de seu papel no desenvolvimento radicular, o AIA produzido por *Azospirillum* também está envolvido na resposta a estresses abióticos. Em condições de estresse hídrico, Guo *et al.* (2023) relataram que plantas tratadas com *Azospirillum* apresentaram maior biomassa radicular e fechamento estomático

mais eficiente, efeito atribuído à interação do AIA com o ácido abscísico (ABA) na modulação da resposta ao déficit hídrico. Resultados semelhantes foram obtidos por Fukami e colaboradores (2018), que verificaram aumento da tolerância ao estresse salino em plantas de arroz inoculadas, associado à melhoria no crescimento radicular e à ativação de mecanismos antioxidantes. Esses achados reforçam que a síntese bacteriana de AIA não apenas contribui para o desenvolvimento radicular em condições ideais, mas também desempenha papel estratégico na resiliência das plantas frente a estresses abióticos.

O ácido giberélico (GA₃) é a giberelina mais frequentemente produzida por bactérias, exercendo efeito no aumento do hipocótilo, crescimento do caule, regulação do tamanho do meristema de folhas e raízes e tolerância ao estresse térmico e salino. A capacidade de *Azospirillum* em produzir giberelinas foi inicialmente confirmada em meio de cultura, para as formas biologicamente ativas GA₁ e GA₃ (BOTTINI *et al.*, 1989). A biossíntese de giberelina, especialmente o ácido giberélico (GA₃), em *Azospirillum* ocorre por uma via que utiliza precursores comuns da rota do mevalonato, iniciando a síntese a partir do geranyl difosfato (GGDP), de modo similar ao processo observado em fungos e plantas (KEJELA, 2023). Além disso, essas bactérias são capazes de metabolizar formas conjugadas de giberelinas, convertendo-as em compostos ativos que desempenham papel importante na interação com as plantas (BASHAN; BASHAN, 2010; CASSÁN *et al.*, 2014).

Em experimentos com mutantes anões de milho e arroz, a inoculação com *Azospirillum* resultou na reversão do fenótipo nanico, indicando que a bactéria produz giberelinas funcionais *in planta*. Essa capacidade de converter precursores inativos em hormônios ativos reforça a importância do *Azospirillum* em estimular o crescimento vegetal, com ênfase nos estágios iniciais de desenvolvimento (CASSÁN *et al.*, 2014).

A produção de giberelinas por *Azospirillum* é influenciada por fatores ambientais, como a disponibilidade de nitrogênio e oxigênio, além do potencial osmótico do ambiente, contribuindo para o aumento das taxas de germinação e o rápido crescimento inicial das plantas, complementando os efeitos da auxina, que está mais associada ao desenvolvimento radicular (BASHAN; BASHAN, 2010). Assim, a biossíntese bacteriana de giberelinas representa um mecanismo importante pelo qual *Azospirillum* promove o crescimento vegetal.

As citocininas (CKs), por sua vez, constituem uma classe de fitormônios derivados de nucleotídeos purínicos, conhecidos como reguladores centrais do crescimento e desenvolvimento vegetal, atuando na divisão e diferenciação celular, acúmulo de clorofila, expansão foliar, conversão de etioplastos em cloroplastos e retardamento da senescência (LI *et al.*, 2021; ZAHEER *et al.*, 2022). Sua biossíntese em bactérias, incluindo *Azospirillum*, ocorre, principalmente, via rota do metileritritol fosfato (MEP), a partir de

precursores isoprenóides como o dimetilalil difosfato (DMAPP), catalisados pela enzima isopentenil transferase (IPT), que gera formas como isopentenil adenina (iP) e trans-zeatina (tZ) (CASSÁN *et al.*, 2014; GUPTA *et al.*, 2020).

Estudos clássicos já haviam demonstrado a capacidade de *Azospirillum brasilense* e *A. lipoferum* de produzir CKs em meio de cultura, incluindo iP, ribosídeo de iP (iPR), tZ e zeatina (Z), com efeitos morfofisiológicos similares à aplicação exógena desses hormônios, como aumento de raízes laterais e densidade de pelos radiculares (TIEN *et al.*, 1979; HOREMANS *et al.*, 1986; STRZELCZYK *et al.*, 1994). Embora a caracterização química completa dessas moléculas em *Azospirillum* ainda apresente desafios, evidências recentes confirmam a produção de tZ em *A. lipoferum* cultivado em meio específico (ESQUIVEL-COTE *et al.*, 2010), reforçando o potencial desse gênero na modulação da arquitetura radicular por meio da sinalização de CKs.

Em relação a interação planta-bactéria, as CKs bacterianas podem ativar vias de sinalização canônicas na planta hospedeira, modulando a expressão de genes regulados por receptores específicos, como AHK2, AHK3 e CRE1/AHK4, o que resulta em estímulo da divisão celular nas regiões meristemáticas e aumento da biomassa (MÉNDEZ-GÓMEZ *et al.*, 2022).

Em *Arabidopsis thaliana*, a inoculação com *A. brasilense* Sp245 desencadeou sinalização de CKs na coifa e no meristema radicular, promovendo crescimento mesmo em condições ambientais adversas, sugerindo um papel adicional dessas moléculas na tolerância a estresses abióticos, como seca e salinidade, por preservarem o aparato fotossintético e manterem a integridade funcional das folhas (CASSÁN *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2021). Esse efeito pode ocorrer de forma independente ou em sinergia com outros fitormônios, como auxinas e giberelinas, compondo uma rede regulatória que otimiza a plasticidade fenotípica e a eficiência fisiológica das plantas em ambientes variáveis.

O ácido abscísico (ABA) é considerado um dos reguladores de crescimento mais importantes envolvidos na sinalização e na indução de tolerância ao estresse osmótico. Sua atuação está associada ao desencadeamento de respostas adaptativas, como o crescimento retardado dos brotos, a abscisão foliar, o ajuste osmótico e a biossíntese de proteínas relacionadas ao estresse, contribuindo para a manutenção do metabolismo celular sob condições adversas (CASSÁN *et al.*, 2014; FAHAD *et al.*, 2015; BHAT *et al.*, 2020; GUREEVA; GUREEV, 2023). O ABA sintetizado por *Azospirillum* está frequentemente associado à resposta ao déficit hídrico, atuando no fechamento estomático, redução da perda de água e estímulo ao crescimento radicular profundo, mecanismos-chave na tolerância à seca. Esse aumento pode resultar tanto da produção direta pela bactéria, por vias biossintéticas ainda não totalmente elucidadas — possivelmente envolvendo rotas bacterianas alternativas à via clássica do carotenóide descrita em plantas — quanto da indução da biossíntese endógena vegetal, por modulação da expressão gênica do hospedeiro (CASSÁN *et*

al., 2014; CASSÁN *et al.*, 2020; GUREEVA; GUREEV, 2023).

Além da atuação direta na regulação hídrica, o ABA induzido por *Azospirillum* também participa da ativação de mecanismos antioxidantes, responsáveis por minimizar os danos oxidativos decorrentes de condições adversas como seca, salinidade e temperaturas extremas. O ABA atua como sinalizador na ativação da expressão de genes que codificam enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e glutatona peroxidase (GPX), que neutralizam espécies reativas de oxigênio (EROs) acumuladas sob estresse. A ação coordenada dessas enzimas preserva a integridade de membranas, proteínas e ácidos nucleicos, garantindo a manutenção do metabolismo celular e a continuidade do crescimento mesmo em ambientes hostis (CASSÁN *et al.*, 2014; FAHAD *et al.*, 2015; FUKAMI *et al.*, 2018; GUREEVA; GUREEV, 2023).

O papel do ABA fornecido por *Azospirillum* na adaptação vegetal a condições de estresse hídrico e salino vem sendo documentado por inúmeros estudos. Em revisão de literatura, Cassán e colaboradores (2014) observaram que plantas de trigo inoculadas com *A. brasilense* apresentaram aumento significativo na concentração foliar de ABA, correlacionado ao fechamento estomático e à manutenção do potencial hídrico. De forma semelhante, Cruz-Hernández e colaboradores (2022) relataram que a inoculação de *Azospirillum* em milho sob déficit hídrico promoveu maior crescimento radicular profundo e redução da transpiração, efeitos atribuídos tanto à produção bacteriana direta de ABA quanto à indução da biossíntese hormonal na planta. Em revisão de literatura, Fahad e colaboradores (2014; 2015) enfatizam que o aumento de ABA em plantas associadas a rizobactérias favorece o ajuste osmótico e a expressão de genes relacionados a proteínas LEA (*Late Embryogenesis Abundant*), reforçando a tolerância à salinidade. Complementarmente, Gureeva e Gureev (2023) destacaram que esses efeitos não se restringem ao manejo da água, mas também incluem a modulação de vias antioxidantes, indicando que a atuação do ABA em associação com *Azospirillum* é multifacetada, integrando sinalização hormonal e defesa celular frente a múltiplos estresses ambientais.

O etileno é um fitormônio multifuncional que, em baixas concentrações, participa de processos como maturação e defesa, mas, quando acumulado, especialmente sob estresses abióticos e bióticos, pode inibir o crescimento radicular e a expansão celular (CASSÁN *et al.*, 2020). Seu principal precursor é o ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), cuja concentração nos tecidos vegetais aumenta em resposta a condições adversas. Diversas estirpes de *Azospirillum* produzem a enzima ACC desaminase, capaz de degradar o ACC em α -cetobutirato e amônia, reduzindo a síntese de etileno e, conseqüentemente, seus efeitos inibitórios no crescimento, levando a tolerância a estresses ao promover o

crescimento das plantas (FAHAD *et al.*, 2014; OLENSKA *et al.*, 2020; BHAT *et al.*, 2023; BORAH *et al.*, 2023; ZHU *et al.*, 2023). Assim, a atividade da ACC desaminase em *Azospirillum* integra-se ao conjunto de mecanismos hormonais que favorecem a adaptação vegetal, mitigando o impacto negativo do etileno e potencializando os efeitos positivos de outros reguladores de crescimento.

3.3 PRODUÇÃO DE SIDERÓFOROS E SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES

Sideróforos são moléculas de baixo peso molecular que possuem alta afinidade com o ferro, o que permite que microrganismos do solo solubilizem e absorvam ferro férrico em formas disponíveis para as plantas, principalmente em solos pobres nesse nutriente (TORTORA; DÍAZ-RICCI; PEDRAZA, 2011; GUREEVA; GUREEV, 2023). O ferro é um dos elementos químicos mais abundantes do planeta. Comumente encontrado em sua forma iônica (Fe_2^+ ou Fe_3^+), atua como cofator enzimático em diversos processos metabólicos, como fotossíntese, síntese de aminoácidos e RNA, respiração celular e fixação de nitrogênio, é crucial para o desenvolvimento dos organismos vivos (PATHANIA *et al.*, 2020; TIMOFEEVA; GALYAMOVA; SEDYKH, 2022; GIRI *et al.*, 2025). As BPCV, incluindo o gênero *Azospirillum*, produzem sideróforos para competir pelo ferro no ambiente rizosférico, limitando sua disponibilidade para microrganismos patogênicos. O que contribui para o controle biológico de doenças e aumenta a absorção de ferro pelas plantas, favorecendo seu crescimento e resistência a estresses bióticos (BORAH *et al.*, 2022; BHAT *et al.*, 2023).

Os sideróforos produzidos por *Azospirillum brasilense* são do tipo catecol, como a espirilobactina, que atua na quelação e mobilização de íons férricos do meio para uso celular (TIMOFEEVA; GALYAMOVA; SEDYKH, 2022; GIRI *et al.*, 2025), e o ácido salicílico, que atua como agente quelante de ferro e como molécula sinalizadora, capaz de ativar respostas sistêmicas de resistência da planta a patógenos (PATHANIA *et al.*, 2020; GUREEVA; GUREEV, 2023). Embora nem todas as estirpes de *Azospirillum* produzam sideróforos, aquelas que o fazem demonstram um importante mecanismo de promoção do crescimento vegetal e proteção contra doenças.

Diversos estudos relacionam a produção de sideróforos por *Azospirillum* à atividade antifúngica. Por exemplo, Tortora e colaboradores (2011) observaram que sideróforos produzidos pelas estirpes *A. brasilense* REC2 e REC3 exibiram ação antifúngica contra *Colletotrichum acutatum*, causador da antracnose em morangos. Já Pii e colaboradores (2015) verificaram que a inoculação de plantas de pepino (*Cucumis sativus*) com deficiência de ferro por *A. brasilense* resultou em aumento nos teores de clorofila foliar e maior acumulação de biomassa em comparação com plantas não inoculadas.

Além disso, López-Reyes e colaboradores (2017), evidenciaram que a síntese de sideróforos por linhagens bacterianas de *A. brasilense* contribuiu para a resistência do teosinto (*Zea mays* ssp. *mexicana*) contra fungos fitopatogênicos como *Alternaria*, *Bipolaris* e *Fusarium*. Espécies como *A. lipoferum* também produzem compostos fenólicos com atividade siderófora, que auxiliam na quelação do ferro em condições de escassez e potencializam a defesa das plantas (GIRI *et al.*, 2025). Os sideróforos também são capazes de quelar diversos metais pesados e mitigar a toxicidade dos mesmos em solos contaminados.

Junto ao nitrogênio, o fósforo (P) e o potássio (K) são os elementos mais requeridos pelas plantas. O fósforo está envolvido em quase todas as principais vias metabólicas que ocorrem nas plantas, como a respiração, fotossíntese, biossíntese de macromoléculas, cadeia transportadora de elétrons, entre outros, bem como participa de processos como a formação de flores, pólen e sementes e, desenvolvimento de raízes e caules (KHATOON *et al.*, 2020; ANDRADE *et al.*, 2023).

Já o potássio é exigido na ativação de diversas enzimas envolvidas em processos como a redução de nitrato, síntese de amido e fotossíntese (PATHANIA *et al.*, 2020). A escassez de potássio no solo leva a formação de raízes mal desenvolvidas, sementes pequenas devido ao desenvolvimento inadequado do tubo polínico e consequente baixa produção agrícola (KHATOON *et al.*, 2020; NWACHUKWU *et al.*, 2024).

Cerca de 75% do fósforo presente no solo está em formas insolúveis, enquanto aproximadamente 90% do potássio é encontrado na forma de minerais de silicato e rochas insolúveis. Formas que não podem ser assimiladas diretamente pelas plantas (ZHU *et al.*, 2023; JIAO *et al.*, 2024). Algumas BPCV, incluindo várias espécies do gênero *Azospirillum*, possuem a capacidade de solubilizar fosfatos minerais e mineralizar compostos orgânicos fosfatados, aumentando a fração biodisponível desse nutriente. Esse processo ocorre principalmente por meio da secreção de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, como ácido glucônico, cítrico, málico e láctico, que quelam cátions (Ca^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+}) e liberam o fosfato para a solução do solo (ZHU *et al.*, 2023; JIAO *et al.*, 2024). Além disso, a produção de fosfatases e fitases por *Azospirillum* contribui para a mineralização de formas orgânicas de P, como fitatos, ampliando a disponibilidade do nutriente para as plantas hospedeiras (ZAIDI *et al.*, 2009; MOHAMED; SHAIEB; EL-KOMY, 2017). Estudos *in vitro* e em condições de campo demonstram que a inoculação com *A. brasilense* pode aumentar a solubilização de P e melhorar sua absorção, efeito potencializado pelo maior crescimento radicular promovido por fitormônios bacterianos (BASHAN *et al.*, 2004; FUKAMI *et al.*, 2018).

Bactérias solubilizadoras de potássio (KSB), incluindo espécies do gênero *Azospirillum*, facilitam a disponibilidade de K^+ por meio da liberação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, tais como ácido cítrico, ácido oxálico

e ácido tartárico, que atuam na solubilização de minerais como feldspato e mica, onde o potássio está presente em formas inorgânicas e não assimiláveis pelas plantas (AHMAD *et al.*, 2016; RAJAWAT *et al.*, 2019; SHARMA; SINDHU; GLICK, 2024). Além da produção ácida, as KSB contribuem para a acidificação do ambiente rizosférico pela liberação de prótons e compostos quelantes, aumentando a mobilização do potássio (RAJAWAT *et al.*, 2019). A ação sinérgica dessas atividades resulta na liberação de K^+ para o solo, facilitando sua absorção pelas raízes das plantas, o que pode refletir em melhorias no metabolismo fotossintético, aumento da resistência a estresses abióticos e maior produtividade das culturas (SHARMA; SINDHU; GLICK, 2024).

Em condições de estresse biótico, como doenças, as BPCV como *Azospirillum*, auxiliam as plantas ao competir com patógenos por nutrientes limitados, como ferro, colonizando rapidamente as superfícies radiculares e utilizando grande parte dos nutrientes exsudados pelas raízes. As bactérias benéficas também podem atuar ao produzir antibióticos e inibir a proliferação de microrganismos patogênicos e suas atividades metabólicas, ou antifúngicos, como quitinase, protease, celulase e lipase, que degradam a parede celular dos fungos e inibem o crescimento das hifas (KHATOON *et al.*, 2020; OLENSKA *et al.*, 2020; NWACHUKWU *et al.*, 2024).

Outro mecanismo pelo qual as BPCV protegem as plantas da infecção de fitopatógenos é a resistência sistêmica induzida, onde o microrganismo benéfico desencadeia alterações físicas e químicas relacionadas à defesa das plantas, levando a superexpressão de metabólitos defensivos como enzimas antioxidantes, ácido jasmônico, ácido salicílico e etileno. A produção dessas substâncias nas plantas favorece a resistência contra infecções fitopatogênicas (PATHANIA *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2023; GUREEVA; GUREEV, 2023; NWACHUKWU *et al.*, 2024).

4. PRODUÇÃO E FORMULAÇÃO COMO BIOINSUMO

As espécies *A. brasilense* e *A. lipoferum* protagonizam o gênero desde o seu isolamento e classificação em 1978 (TARRAND; KRIEG; DOBEREINER, 1978). A pesquisadora Mariangela Hungria e seu trabalho dentro da Embrapa Soja são de grande relevância no ramo de bioinsumos e fixação biológica de nitrogênio, culminando na liderança brasileira na pesquisa do gênero *Azospirillum* (FERREIRA *et al.*, 2022). A autora notou a afinidade entre linhagens da bactéria com alguns tipos de plantas, e que isso seria essencial na elaboração de inoculantes. A partir disso, foram realizados estudos para avaliar a performance de estirpes de *A. brasilense* e *A. lipoferum* em culturas de milho e trigo no sul do Brasil. As linhagens foram selecionadas previamente conforme estudos *in vitro*, sendo sete de *A. brasilense* (Ab-V1, Ab-V2, Ab-V4, Ab-V5, Ab-V6, Ab-V7 e Ab-V8) e duas

de *A. lipoferum* (Al-V1 e Al-V2). A primeira rodada de ensaios utilizou inoculantes turfosos contendo linhagens isoladas, na concentração de 2×10^8 células g^{-1} . Na segunda rodada, foi empregada uma combinação das linhagens Ab-V5 e Ab-V6, tanto em formulação turfosa, na mesma concentração, quanto em formulação líquida, com concentração de 3×10^8 células mL^{-1} . No fim do experimento, as culturas de milho mostraram um aumento de produtividade de 24-30% utilizando as linhagens Ab-V4, Ab-V5, Ab-V6 e Ab-V7, enquanto as bactérias Ab-V1, Ab-V5, Ab-V6 e Ab-V8 geraram um aumento de 13-18% na produtividade da cultura de trigo. Assim, foram identificadas as primeiras e principais linhagens de *Azospirillum* autorizadas para a produção comercial de inoculantes no Brasil.

Após o isolamento, é necessária a multiplicação do microrganismo de interesse e o ajuste de parâmetros para tal operação, como o substrato, tipo de cultivo, pH, agitação e escalonamento (FLORENCIO *et al.*, 2022). O gênero *Azospirillum* é comumente multiplicado em laboratório utilizando frascos de Erlenmeyer sob agitação constante em um meio de cultura enriquecido, geralmente Nfb (BALDANI *et al.*, 2014). Realizando o escalonamento para os biorreatores, os parâmetros de cultivo são apurados conforme Trujillo-Roldán *et al.* (2013): cultivo submerso com uma variação do meio Nfb e em um biorreator de 1400 L (volume útil de 1000 L), temperatura de 30 °C, pH de $7,0 \pm 0,2$, e agitação de 54 rpm. Os modos de batelada simples e alimentada são amplamente utilizados no cultivo submerso para a multiplicação de microrganismos, oferecendo uma produção de células constante e controlada (FLORENCIO *et al.*, 2022). Já o cultivo em estado sólido é majoritariamente empregado com fungos filamentosos, como *Trichoderma spp.* (HEWAVITHARANA *et al.*, 2018; FAN *et al.*, 2024) e *Metarhizium spp.* (MSLIM *et al.*, 2005; BARRA-BUCAREI *et al.*, 2016), não sendo comumente utilizado para a multiplicação de *Azospirillum spp.*

Os principais objetivos da formulação de um inoculante é suportar o crescimento dos microrganismos em questão, manter em boas condições o número necessário de células viáveis até o tempo da aplicação, e entregar a concentração necessária para a resposta desejada da planta (BASHAN e BASHAN, 2015). Inoculantes líquidos são essencialmente culturas microbianas com aditivos químicos para auxiliar na aplicação do produto (SHARMA *et al.*, 2023), normalmente à base de óleos minerais ou vegetais, polímeros, e água (FLORENCIO *et al.*, 2022). Aditivos como sacarose, carboximetilcelulose, glicerol, povidona e trehalose auxiliam na manutenção da cultura, permitindo uma alta concentração celular, um maior *shelf life*, e fácil manuseio pelo consumidor, sendo a principal característica desse tipo de formulação (BASHAN e BASHAN, 2015). Já formulações sólidas utilizam suportes sólidos com uma grande área de contato e retenção de água, principalmente a turfa. Inoculantes turfosos possuem grande espaço no mercado pela maior facilidade de armazenamento e transporte, além

das diferentes formas de aplicação granular, em pó e irrigáveis (MISHRA e ARORA, 2016). A inoculação do gênero *Azospirillum* nas culturas pode ser feita de forma sólida ou líquida via sementes, folhas e solo, juntamente com fungicidas, inseticidas e fertilizantes (CASSÁN e DIAZ-ZORITA, 2016).

No entanto, esses tipos de formulação estão líquidas e sólidas estão sujeitas a estresses externos que podem comprometer a integridade celular e a eficiência do bioinsumo. O uso de polímeros para encapsulação já se provou uma alternativa viável contra esses estresses, além de oferecer resistência a tratamentos químicos e para preservar a viabilidade celular (FLORENCIO *et al.*, 2022). Para isso, é necessário que o composto proteja a célula, disperse junto do microrganismo em questão, libere o conteúdo sob certas condições, e mantenha a célula dentro sua estrutura (ROJAS-SÁNCHEZ *et al.*, 2022). O principal material utilizado para a encapsulação de *Azospirillum* é o alginato, um biopolímero derivado de algas biocompatível, onde o inóculo é imerso e juntos são gotejados em uma solução gelificante, normalmente cloreto de cálcio (NASCIMENTO *et al.*, 2019). Essa técnica de extrusão gera esferas de 100-200 µm estabilizadas pelos íons cálcio, capazes de difundir oxigênio, nutrientes e metabólitos eficientemente (SZCZECHE e MACIOROWSKI, 2016).

Independentemente da formulação ou do microrganismo, a normatização dos bioinsumos é necessária para garantir qualidade, eficácia, segurança ambiental e fitossanitária, além de assegurar credibilidade ao uso agrícola e proteger o consumidor e o meio ambiente. O Ministério de Agricultura e Pecuária (MAPA) é responsável por estabelecer as normas para registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização da produção e do comércio de bioinsumos, conforme a Lei 6.894/80, e alterada pelo Decreto 4.954/04 (BRASIL, 2004). Esse decreto define inoculantes, além de outros produtos agrícolas, como produtos com um inóculo puro favorável ao crescimento de plantas, contendo um suporte esterilizado capaz de manter ou nutrir os microrganismos especificados. Além disso, a Instrução Normativa 13/11, estabelece que produtos contendo microrganismos promotores de crescimento vegetal como o *Azospirillum* devem ter sua concentração especificada por um órgão credenciado pelo MAPA durante o registro, além de listar as espécies autorizadas para a produção de inoculantes no Brasil, exemplificado no Quadro 2. Caso o microrganismo não esteja dentro da Instrução Normativa, seu registro deve apresentar relatórios técnicos-científicos atestando sua viabilidade e eficiência de seu uso (BRASIL, 2011). Já os métodos de análise e controle de qualidade de inoculantes foram apresentados pela Instrução Normativa 30/10, detalhando a preparação de amostras, protocolo de diluição, e meios de cultura para cada tipo de microrganismo. O Quadro 3 detalha os meios de cultura e tempo necessário para a contagem pelos métodos de contagem em placa e número mais provável (NMP) (BRASIL, 2010). Por fim, projetos como o Programa Nacional de Bioinsumos procuram fomentar e regular a utilização de bioinsumos no país, voltado para práticas sustentáveis e parcerias com produtores.

Conforme o Decreto 10.37/20, o Programa atua sob o MAPA e tem como objetivo estabelecer as diretrizes para a produção e utilização desses produtos, promover parcerias e campanhas para uma agricultura mais sustentável, incentivar a pesquisa e o desenvolvimento de bioinsumos (BRASIL, 2020).

Quadro 2 - Microrganismos para a produção de inoculantes no Brasil

CULTURA	NOME COMUM	GÊNERO/ ESPÉCIE	DESIGNAÇÃO ORIGINAL	INSTITUIÇÃO
<i>Eucalyptus sp.</i>	Eucalipto	<i>Bacillus subtilis</i>	UFV 3918	UFV
<i>Eucalyptus sp.</i>	Eucalipto	<i>Frateria aurantia</i>	UFV R1	UFV
<i>Eucalyptus sp.</i>	Eucalipto	<i>Bacillus subtilis</i>	UFV S1	UFV
<i>Eucalyptus sp.</i>	Eucalipto	<i>Bacillus subtilis</i>	UFV S2	UFV
<i>Triticum spp.</i>	Trigo	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V1	Embrapa Soja UFPR
<i>Zea mays</i>	Milho	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V4	Embrapa Soja UFPR
<i>Zea mays e Triticum spp.</i>	Milho e Trigo	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V5	Embrapa Soja UFPR
<i>Zea mays e Triticum spp.</i>	Milho e Trigo	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V6	Embrapa Soja UFPR
<i>Zea mays</i>	Milho	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V7	Embrapa Soja UFPR
<i>Triticum spp.</i>	Trigo	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V8	Embrapa Soja UFPR
<i>Oryza sativa</i>	Arroz	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V5	UEM Unesp
<i>Oryza sativa</i>	Arroz	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V6	UEM Unesp

Fonte: Adaptado de BRASIL(2011).

Quadro 3 - Meios e métodos para contagem de microrganismos

Microrganismo	Meio de cultura para contagem em placa	Faixa de dias para contagem em placa	Meio de Cultura para NMP	Faixa de dias para contagem em NMP
<i>Azorhizobium</i>	79 + VC	5 a 7	NA	25 a 30
<i>Azospirillum</i>	Batata e NFb	5 a 7	NFb, LGI e FAM	5 a 7

<i>Azotobacter</i>	LG	3 a 5	NA	NA
<i>Burkholderia</i>	79 + VC	3 a 5	NA	25 a 30
<i>Bradyrhizobium</i>	79 + VC	5 a 12	NA	25 a 30
<i>Ensifer</i> (<i>Sinorhizobium</i>)	79 + VC	2 a 4	NA	25 a 30
<i>Gluconacetobacter</i>	Batata-P	7 a 10	LGI-P	7 a 10
<i>Herbaspirillum</i>	Batata	5 a 7	JNFb	5 a 7
<i>Mesorhizobium</i>	79 + VC	2 a 5	NA	25 a 30
<i>Rhizobium</i>	79 + VC	2 a 3	NA	20 a 30
<i>Spingomonas</i>	Batata	7 a 12	NFb	8 a 12

Fonte: BRASIL (2010).

5. APLICAÇÕES NO CAMPO E RESULTADOS AGRONÔMICOS

Durante a aplicação de um inoculante, fatores como o tipo de cultura, estágio de crescimento, linhagem do microrganismo, vias de aplicação e a adição de outros tratamentos podem interferir na eficácia do produto. A aplicação via sementes é uma das mais comuns ao trabalhar com bactérias promotoras de crescimento, sendo feita pela submersão das sementes na concentração recomendada e permitindo a colonização do microrganismo através dos pêlos radiculares durante a germinação (MUNHOZ, 2016). Embora a presença de exsudatos, açúcares e nutrientes na rizosfera possibilita o desenvolvimento do *Azospirillum* (SCUDELETTI, 2016), outros aditivos químicos usados durante o tratamento de sementes, como fungicidas e inseticidas, podem afetar drasticamente a viabilidade da bactéria durante a associação com a planta (PEREIRA & TOZONI, 2017). Uma alternativa é a inoculação por sulcos, onde a semente entra em contato com o produto somente no momento da semeadura e minimiza os impactos do tratamento químico na bactéria (PEREIRA & TOZONI, 2017). Esse tipo de aplicação é realizado com equipamentos de pulverização e requer uma dose superior a padrão (HUNGRIA e NOGUEIRA, 2022), podendo apresentar rendimentos iguais quando comparada a via de sementes (FUKAMI *et al.*, 2016). Por fim, a aplicação foliar corrobora com o endofitismo facultativo do gênero *Azospirillum* ao favorecer a entrada nos estômatos, onde as bactérias podem multiplicar-se rapidamente e colonizar os espaços intercelulares (KAKU, 2004). Fukami *et al.* (2016) relata a baixa compatibilidade entre *Azospirillum spp.* e os agroquímicos utilizados no tratamento de sementes, e apontou o aumento do rendimento de culturas de milho com a pulverização via sulco e foliar contendo as linhagens Ab-V5 e Ab-V6 juntamente com fertilizantes nitrogenados.

A aplicação do gênero *Azospirillum* na cultura do milho tem sido muito estudada nos últimos anos, principalmente em relação a formulação do produto e modo de aplicação (BARBOSA *et al.*, 2022). Oliveira *et al.* (2018) realizaram uma série de experimentos na região norte brasileira a fim de avaliar o impacto das linhagens Ab-V5 e Ab-V6 com fertilização nitrogenada no milho, e concluiu que os tratamentos contendo a bactéria culminaram no aumento da altura da planta, concentração de N nas folhas e grãos, e rendimento da cultura quando comparada às amostras sem nitrogênio e inoculante, evidenciando o impacto da produção de fitormônios no desenvolvimento da planta. De forma análoga, Condori *et al.* (2024) observaram a influência do *A. brasilense* em diferentes níveis de nitrogênio no tratamento de milho roxo no Peru. As amostras inoculadas apresentaram um aumento de 10,5% na altura da planta, 16,7% no comprimento radicular, e 11% no rendimento em relação às não inoculadas. Além disso, ao se considerar parâmetros como o tamanho da espiga e a concentração de nitrogênio foliar, as plantas submetidas à adubação convencional com 120 kg de N ha⁻¹ apresentaram desempenho estatisticamente semelhante àquelas inoculadas e cultivadas com 90 kg de N ha⁻¹, indicando uma maior eficiência na utilização do nitrogênio pelas plantas com *A. brasilense*.

O trigo é uma cultura importante no sistema de produção agrícola da região centro-sul do Brasil, por representar uma opção economicamente viável durante o inverno, e proporcionar uma das melhores coberturas de solo para o sistema de plantio direto (PICCCININ *et al.*, 2012). A altura, a absorção de macro e micronutrientes, e a produtividade de duas variedades de trigo sob inoculação foliar com *Azospirillum* foram investigadas por Boleta *et al.* (2020). O estudo foi conduzido na região Centro-Oeste do Mato Grosso do Sul, utilizando os cultivares CD150 e CD1104, da empresa Coodetec®, e as linhagens Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense*, aplicadas via pulverização foliar. Embora a altura e a produtividade das plantas inoculadas não tenham diferido estatisticamente das testemunhas, o desenvolvimento radicular estimulado pela bactéria, aliado à fixação biológica de nitrogênio, resultou em maior acúmulo de micronutrientes na parte aérea (MOUTIA *et al.*, 2010). Observou-se aumento de 27,7% e 57,4% nas concentrações de boro e cobre, respectivamente, no cultivar CD1104, e de 43,8%, 49,9% e 22% nas concentrações de boro, ferro e manganês no cultivar CD150. Em contrapartida, Fukami *et al.* (2016) apontaram um maior número de perfilhos no trigo quando inoculados com as linhagens Ab-V5 e Ab-V6, gerando uma maior produtividade.

Os efeitos do gênero *Azospirillum* também podem ser observados em culturas de cana-de-açúcar. Dado sua importância no setor de biocombustíveis, Scudeletti *et al.* (2023) avaliaram o efeito da aplicação de diferentes doses de inoculante de *Azospirillum brasilense* em distintos estádios de desenvolvimento da cana-de-açúcar sobre parâmetros morfológicos, concentrações de nutrientes,

produtividade e qualidade tecnológica da matéria-prima. Em ambos os sítios testados, a inoculação via sulcos e foliar de Ab-V5 provocou um aumento no comprimento da planta e dos entrenós, na produtividade e no número de colmos. Parâmetros como pureza, fibras, açúcares redutores, e açúcares totais recuperáveis não mostraram diferença estatística com a dose do inoculante nem com o estágio de inoculação. Sob o mesmo escopo, Souza *et al.* (2025) avaliaram o impacto das linhagens Ab-V5 e Ab-V alinhadas com a adubação nitrogenada das variedades de cana-de-açúcar RB 97-5242 e CTC 4. Ao levar em conta a produção de massa fresca, o tratamento utilizando 14 kg ha^{-1} de N e o inoculante se mostrou 34% superior ao tratamento com a mesma taxa de fertilização, evidenciando os mecanismos de crescimento vegetal promovidos pela bactéria. Além disso, a absorção de micronutrientes (Fe, Mn, e Zn) também respondeu com a inoculação em ambos cultivares.

6. PAPEL NA AGRICULTURA REGENERATIVA E BAIXO CARBONO: DESAFIOS E PERSPECTIVAS

A adubação nitrogenada é uma prática extremamente comum e decisiva, já que o nitrogênio (N) é um elemento limitante para o crescimento e produtividade de uma cultura (SANTA *et al.*, 2004) devido ao seu papel fundamental como constituinte dos aminoácidos e participação na biossíntese de clorofila (FREITAS, 2023). Mas fatores ambientais, como o clima e o solo, podem influenciar significativamente a eficiência de aproveitamento de N pelas plantas, levando à aplicação excessiva de fertilizantes na tentativa de maximizar a produtividade (MARTÍNEZ-DALMAU, 2021). Assim, fertilizantes minerais como sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) e ureia ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) podem acidificar o solo com a liberação de íons H^+ durante a hidrólise, contaminação de lençóis freáticos por resíduos nitrogenados, e liberação de gases do efeito estufa pela volatilização da amônia (NH_3) (SAINJU *et al.*, 2019).

Na mitigação da poluição por nitrogênio, as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) desempenham papel estratégico. Por meio da fixação biológica de nitrogênio (FBN), esses microrganismos convertem o nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia, forma prontamente assimilável pelas plantas (FREITAS, 2023), reduzindo a dependência de fertilizantes sintéticos. Espécies como *Bradyrhizobium japonicum* (DIAS *et al.*, 2022) e *Bradyrhizobium elkanii* (RIVIEZZI *et al.*, 2020) estabelecem simbiose com leguminosas, formando nódulos radiculares nos quais o N é fixado de maneira eficiente. Porém, o gênero *Azospirillum* compreende bactérias de vida livre associativas que, embora realizem FBN, secretam somente uma parte do N fixado para a planta. Seu principal mecanismo de promoção de crescimento está

atrelado à síntese de ácido indolacético, giberelinas e citocininas (HUNGRIA, 2011), compostos que promovem a divisão celular, o alongamento do caule, retardam a senescência foliar, e favorecem o desenvolvimento radicular, facilitando a absorção de N. Por isso, inoculantes à base de *Azospirillum spp.* são empregados junto de fertilizantes nitrogenados a fim de aumentar a sua eficiência. Resultados positivos dessa interação foram observados por Piccinin *et al.* (2012), que verificaram aumento no número de sementes por espiga e na produtividade do trigo em tratamentos com inoculação associada à adubação nitrogenada, e por Moraes *et al.* (2016), que relataram incremento na massa seca do milho sob a mesma estratégia de manejo.

Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), estabelecidos pela Organização das Nações Unidas em 2015, representam uma agenda global para promover o desenvolvimento econômico, social e ambiental de forma integrada e sustentável até 2030. Com um total de 17 objetivos, essa iniciativa busca erradicar a pobreza, garantir a segurança alimentar, proteger o meio ambiente e combater as mudanças climáticas, como ilustrado na Figura 1 (UNITED NATIONS, 2015). O uso de bioinsumos representa uma abordagem mais sustentável em comparação aos produtos químicos convencionais. Microrganismos de biocontrole são capazes de atacar patógenos e promover o crescimento da planta através de mecanismos como a competição por nutrientes e espaço no solo, indução de resistência na planta, e produção de metabólitos antibióticos, destacando-se o gênero *Bacillus* e *Trichoderma* (VILLAVICENCIO-VÁSQUEZ *et al.*, 2025). Assim, oferecem uma solução a dependência de pesticidas sintéticos e diminuem seu impacto no meio ambiente (DAMALAS e KOUTROUBAS, 2018). Já solubilizadores de nutrientes facilitam a absorção de elementos essenciais pelas plantas através de mecanismos enzimáticos e fisiológicos promovidos por microrganismos, como *Pseudomonas spp.* (BAKKI *et al.*, 2024) e fungos micorrízicos (SOUZA *et al.*, 2006), beneficiando todo o sistema solo-planta. A aplicação de inoculantes à base de *Azospirillum* promove o aumento do rendimento em diversas culturas através da produção de fitormônios, resultando em maior produtividade alimentar e contribuindo para o cumprimento do ODS 2 – Fome Zero. Além disso, a capacidade dessas bactérias em promover a absorção de nitrogênio aumenta a eficiência dos fertilizantes químicos, reduzindo a necessidade de doses elevadas e diminuindo a emissão de resíduos, especialmente o óxido nitroso (N₂O), um potente gás de efeito estufa, alinhando-se também ao ODS 13 – Ação Contra a Mudança Global do Clima.

Figura 1 - Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. Os ODS da ONU são um conjunto de ações para acabar com a pobreza, proteger o meio ambiente e garantir que as pessoas desfrutem de paz e prosperidade



Fonte: Nações Unidas Brasil (2015).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O gênero *Azospirillum* destaca-se entre as bactérias promotoras de crescimento vegetal por sua versatilidade ecológica, ampla gama de mecanismos benéficos e capacidade de colonizar diferentes espécies cultivadas sob variadas condições ambientais. Seus efeitos positivos resultam de processos complementares, como a fixação biológica de nitrogênio, a síntese e modulação de fitormônios, a solubilização de nutrientes e a produção de sideróforos, atuando de forma integrada na promoção do crescimento e na indução de tolerância a estresses bióticos e abióticos.

A diversidade metabólica e fisiológica de *Azospirillum* permite sua adaptação a distintos ambientes e sistemas agrícolas, o que amplia seu potencial como biofertilizante e agente de manejo biológico sustentável. Estudos recentes evidenciam que a atuação dessa bactéria vai além do fornecimento direto de nutrientes, envolvendo a modulação de respostas adaptativas complexas nas plantas, como alterações na arquitetura radicular, indução de sistemas antioxidantes e regulação fina da sinalização hormonal, especialmente em condições de estresse hídrico, salino ou nutricional.

O conhecimento acumulado ao longo das últimas décadas, aliado a avanços nas áreas de genômica, transcriptômica e metabolômica, tem ampliado a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes à interação *Azospirillum*-planta. Essas descobertas reforçam seu potencial para integrar estratégias de manejo agrícola sustentável, contribuindo para a redução da dependência de insumos químicos e para o aumento da resiliência dos sistemas

produtivos frente às mudanças climáticas. No entanto, ainda são necessários estudos que explorem a variabilidade intraespecífica, a estabilidade dos efeitos em campo e o impacto de consórcios microbianos, visando maximizar a eficácia de *Azospirillum* em diferentes contextos agrícolas.

REFERÊNCIAS

ALTHAUS, Helyemari Valentim; REIS, Camila Audrey dos; GALVÃO, Carolina Weigert; ETTO, Rafael Mazer; AYUB, Ricardo Antonio. The Ammonium Excreting *Azospirillum* brasilense Strain HM053 Enhances the Vegetative Development of Strawberry. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 68, p. e25230890, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2025230890>. Acesso em: 2 ago. 2025.

AHMAD, Maqshoof; NADEEM, Sajid Mahmood; NAVEED, Muhammad ; ZAHIR, Zahir Ahmad. Potassium-solubilizing bacteria and their application in agriculture. **Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture**, p. 293-313, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2_21. Acesso em: 26 jul. 2025.

AZIZOGLU, Ugur; YILMAZ, Nihat; SIMSEK, Ozhan; IBAL, Jerald Conrad; TAGELE, Setu Bazie; SHIN, Jae-Ho. The fate of plant growth-promoting rhizobacteria in soilless agriculture: Future perspectives. **3 Biotech**, v. 11, n. 8, p. 1-13, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02941-2>. Acesso em: 03 ago. 2025.

BACA, B. E.; SOTO, U. L.; PARDO, R. M. P. **Fijación biológica de nitrógeno**. 2000.

BAKKI, Mohamed; BANANE, Badra; MARHANE, Omaira; et al. Phosphate solubilizing *Pseudomonas* and *Bacillus* combined with rock phosphates promoting tomato growth and reducing bacterial canker disease. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2024.1289466/full>. Acesso em: 8 ago. 2025.

BALDANI, José Ivo; BALDANI, Vera Lucia Divan. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.77, p.549-579, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0001-37652005000300014>. Acesso em: 26 jul. 2025.

BALDANI, José Ivo; REIS, Veronica Massena; VIDEIRA, Sandy Sampaio; et al. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. **Plant and Soil**, v. 384, n. 1–2, p. 413–431, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-014-2186-6>. Acesso em: 4 ago. 2025.

BARBOSA, Julierme Zimmer; ROBERTO, L.; HUNGRIA, Mariangela; et al. Meta-analysis of maize responses to *Azospirillum brasilense* inoculation in Brazil: Benefits and lessons to improve inoculation efficiency. **Applied Soil Ecology**, v. 170, p. 104276–104276, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929139321003991>. Acesso em: 6 ago. 2025.

BARRA-BUCAREI, Lorena; VERGARA, Pedro; CORTES, Amparo. Conditions to optimize mass production of *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin 1883 in different substrates. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 76, n. 4, p. 448–454, 2016. Disponível em: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-58392016000400008. Acesso em: 4 ago. 2025.

BASHAN, Yoav; HOLGUIN, Gina.; DE-BASHAN, Luz E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian journal of microbiology**, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/w04-035>. Acesso em: 25 jul. 2025.

BASHAN, Yoav.; DE-BASHAN, Luz E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. In: *Advances in agronomy*. **Academic Press**, p. 77-136, 2010. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8). Acesso em: 29 jul. 2025.

BASHAN, Yoav; DE-BASHAN, Luz E. Inoculant preparation and formulations for *Azospirillum* spp. **Handbook for Azospirillum**, p. 469–485, 2015. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-06542-7_26. Acesso em: 4 ago. 2025.

BHAT, Mudasir Ahmad; MISHRA, Awdhesh Kumar; JAN, Saima; BHAT, Mujtaba Aamir; KAMAL, Mohammad Azhar; RAHMAN, Safikur; SHAH, Ali Asghar; JAN, Arif Tasleem. Plant growth promoting rhizobacteria in plant health: A perspective study of the underground interaction. **Plants**, v. 12, n. 3, p. 629, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants12030629>. Acesso em: 29 jul. 2025.

BOLETA, Eduardo Henrique Marcandalli; GALINDO, Fernando Shintate; JALAL, Arshad; et al. Inoculation with growth-promoting bacteria

Azospirillum brasilense and its effects on productivity and nutritional accumulation of wheat cultivars. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/sustainable-food-systems/articles/10.3389/fsufs.2020.607262/full>. Acesso em: 7 ago. 2025.

BORAH, Palakshi; GOGOI, Nirmali; ASAD, Saeed Ahmad; RABHA, Aparna Jyoti; FAROOQ, Muhammad. An insight into plant growth-promoting rhizobacteria-mediated mitigation of stresses in plant. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 5, p. 3229-3256, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10787-y>. Acesso em: 25 jul. 2025.

BOTTINI, Rubén; FULCHIERI, Mónica; PEARCE, David; PHARIS, Richard P. Identification of gibberellins A1, A3, and iso-A3 in cultures of Azospirillum lipoferum. **Plant physiology**, v. 90, n. 1, p. 45-47, 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.90.1.45>. Acesso em 02 ago. 2025.

BRASIL. **Instrução Normativa Nº 30, de 12 de novembro de 2010**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, n. 219, p. 4. 7 nov. 2010. Seção 1. Acesso em: 6 ago. 2025.

BRASIL. **Decreto Nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004**. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Presidência da República. Brasília, DF. Acesso em: 6 ago. 2025.

BRASIL. **Instrução Normativa Nº 13, de 24 de março de 2011**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, n. 58, p. 3. 25 mar. 2011. Seção 1. Acesso em: 6 ago. 2025.

BRASIL. **Decreto Nº 10.375 de 26 de maio de 2020**. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Presidência da República. Brasília, DF. Acesso em: 6 ago. 2025.

CASSÁN, Fabricio; VANDERLEYDEN, Jos; SPAEPEN, Stijn. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus Azospirillum. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 33, n. 2, p. 440-459, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-013-9362-4>. Acesso em: 26 jul. 2025.

CASSÁN, Fabricio; DIAZ-ZORITA, Martín. Azospirillum sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 103, p. 117-130, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071716302000>. Acesso em: 7 ago. 2025.

CASSÁN, Fabricio; CONIGLIO, Anahí; LÓPEZ, Gastón.; MOLINA, Romina; NIEVAS, Sofia; DE CARLAN, Coline Le Noir; DONADIO, Florencia; TORRES, Daniela; ROSAS, Susana; PEDROSA, Fabio Oliveira; SOUZA, Emanuel; ZORITA, Martín Díaz; DE-BASHAN, Luz; MORA, Verónica. Everything you must know about Azospirillum and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, n. 4, p. 461-479, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01463-y>. Acesso em: 02 ago. 2025.

CASTANHEIRA, Nádia L.; DOURADO, Ana Catarina; PAIS, Isabel; SEMEDO, José; SCOTTI-CAMPOS, Paula; BORGES, Nuno; CARVALHO, Gilda; CRESPO, Maria Teresa Barreto; FARELEIRA, Paula. Colonization and beneficial effects on annual ryegrass by mixed inoculation with plant growth promoting bacteria. **Microbiological Research**, v. 198, p. 47-55, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.01.009>. Acesso em: 26 jul. 2025.

CHANDRAMOHAN REDDY, G.; GOYAL, R. K. Growth, yield and quality of strawberry as affected by fertilizer N rate and biofertilizers inoculation under greenhouse conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v. 44, n. 1, p. 46-58, 2020. Acesso em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1806301>. Acesso em: 20 jul. 2025.

CHÁVEZ-HERRERA, Estefanía; HERNÁNDEZ-ESQUIVEL, Alma Alejandra; CASTRO-MERCADO, Elda; GARCÍA-PINEDA, Ernesto. Effect of Azospirillum brasilense Sp245 lipopolysaccharides on wheat plant development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 37, n. 3, p. 859-866, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9782-2>. Acesso em: 20 jul. 2025.

CHEBOTAR, Vladimir K.; CHIZHEVSKAYA, Elena P.; VOROBYOV, Nikolai I.; BOBKOVA, Veronika V.; POMYAKSHEVA, Lyubov V.; KHOMYAKOV, Yuriy V.; KONOVALOV, Sergey N. The quality and productivity of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) improved by the inoculation of PGPR *Bacillus velezensis* BS89 in field experiments. **Agronomy**, v. 12, n. 11, p. 2600, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy12112600>. Acesso em: 27 jul. 2025.

CONDORI, Tatiana; ALARCÓN, Susan; HUASASQUICHE, Lucero; et al. Inoculation with Azospirillum brasilense as a strategy to reduce nitrogen fertilization in cultivating purple maize (*Zea mays* L.). **Microorganisms**, v. 12, n. 10, p. 2107, 2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11514594/>. Acesso em: 7 ago. 2025.

CRUZ-HERNÁNDEZ, María Antonia; MENDOZA-HERRERA, Alberto;

BOCANEGRA-GARCÍA, Virgilio; RIVERA, Gildardo. Azospirillum spp. from plant growth-promoting bacteria to their use in bioremediation. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 1057, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10051057>. Acesso em: 01 ago. 2025.

DAMALAS, Christos; KOUTROUBAS, Spyridon. Current status and recent developments in biopesticide use. **Agriculture**, v. 8, n. 1, p. 13, 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0472/8/1/13>. Acesso em: 8 ago. 2025.

DE ANDRADE, Fernanda Marcondes; DE ASSIS PEREIRA, Thiago; SOUZA, Thiago Pereira; GUIMARÃES, Paulo Henrique Sales; MARTINS, Adalvan Daniel; SCHWAN, Rosane Freitas; PASCAL, Moacir; DORIA, Joyce. Beneficial effects of inoculation of growth-promoting bacteria in strawberry. **Microbiological Research**, v. 223, p. 120-128, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.04.005>. Acesso em: 25 jul. 2025.

DE ANDRADE, Luana Alves; SANTOS, Carlos Henrique Barbosa; FREZARIN, Edvan Teciano; SALES, Luziane Ramos; RIGOBELLO, Everlon Cid. Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1088, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>. Acesso em 20 jul. 2025.

DÍAZ-ZORITA, Martín; FERNÁNDEZ-CANIGIA, María Virginia. Field performance of a liquid formulation of Azospirillum brasilense on dryland wheat productivity. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 3–11, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1164556308000733>. Acesso em: 4 ago. 2025.

DIAS, Barbara Patrocínio; DIAS, Elém Rodrigues; OLIVEIRA, Rosângela Aparecida Pereira de; et al. Avaliação do uso do inoculante Bradyrhizobium japonicum na cultura da soja (Glycine max) em Colméia-TO. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 15, p. e538111537342, 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/365623604_Avaliacao_do_uso_do_inoculante_Bradyrhizobium_Japonicum_na_cultura_da_soja_Glycine_Max_em_Colmeia-TO. Acesso em: 8 ago. 2025.

DÖBEREINER, Johanna. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. *Microbiologia do solo*. **Sociedade Brasileira de Ciências do Solo**. p. 173-180, 1992.

DOS REIS, Guilherme Anacleto; MARTÍNEZ-BURGOS, Walter Jose; POZZAN, Roberta; et al. Comprehensive review of microbial inoculants:

Agricultural applications, technology trends in patents, and regulatory frameworks. **Sustainability**, v. 16, n. 19, p. 8720, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/16/19/8720>. Acesso em: 4 ago. 2025.

DOS SANTOS FERREIRA, Natalia; HAYASHI SANT'ANNA, Fernando; MASSENA REIS, Veronica; AMBROSINI, Adriana; GAZOLLA VOLPIANO, Camila; ROTHBALLER, Michael; SCHWAB, Stefan; BAURA, Valter Antonio; BALSANELLI, Eduardo; PEDROSA, Fabio de Oliveira; PASSAGLIA, Luciane Maria Pereira; DE SOUZA, Emanuel Maltempi; HARTMANN, Anton; CASSAN Fabricio; ZILLI, Jerry Edson. Genome-based reclassification of *Azospirillum brasilense* Sp245 as the type strain of *Azospirillum baldaniorum* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n.12, p. 6203-6212, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004517>. Acesso em: 05 ago. 2025.

DOS SANTOS FERREIRA, Natalia; CONIGLIO, Anahí; PUENTE, Mariana; SANT'ANNA, Fernando Hayashi; MARONICHE, Guillermo; GARCÍA, Julia; MOLINA, Romina; NIEVAS, Sofia; VOLPIANO, Camila Gazolla; AMBROSINI, Adriana; PASSAGLIA, Luciane M. P.; PEDRAZA, Raul O.; REIS, Verônica M.; ZILLI, Jerry Edson; CASSAN, Fabricio. Genome-based reclassification of *Azospirillum brasilense* Az39 as the type strain of *Azospirillum argentinense* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 72, n. 8, p. 005475, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005475>. Acesso em: 05 ago. 2025.

ESQUIVEL-COTE, Rosalba; RAMÍREZ-GAMA, Rosa María; TSUZUKI-REYES, Guadalupe; OROZCO-SEGOVIA, Alma; HUANTE, Pilar. *Azospirillum lipoferum* strain AZm5 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase improves early growth of tomato seedlings under nitrogen deficiency. **Plant and soil**, v. 337, n. 1, p. 65-75, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0499-7>. Acesso em: 07 ago. 2025.

FAHAD, Shah; HUSSAIN, Saddam; BANO, Asghari; SAUD, Shah; HASSAN, Shah; SHAN, Darakh; KHAN, Faheem Ahmed; KHAN, Fahad; CHEN, Yutiao; WU, Chao; TABASSUM, Muhammad Adnan; CHUN, Ma Xiao; AFZAL, Muhammad; JAN, Amanullah; JAN, Mohammad Tariq; HUANG, Jianliang. Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 4907-4921, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3754-2>. Acesso em: 26 jul. 2025.

FAHAD, S.; HUSSAIN, S.; MATLOOB, A.; KHAN, F. A.; KHALIQ, A.; SAUD, S.; HASSA, S.; SHAN, D.; KHAN, F.; ULLAH, N.; FAIQ, M.; KHAN, M. R.; TAREEN, A. K.; KHAN, A.; ULLAH, A.; ULLAH, N.; HUANG, J. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. **Plant growth regulation**, v. 75, p. 391-404, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10725-014-0013-y>. Acesso em: 27 jul. 2025.

FAN, Weiwei; LIU, Kehan; XU, Yongping; et al. Solid-state fermentation of corn wet distiller grains and wheat bran with *Trichoderma reesei* and *Candida utilis* for improving feed value. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2024. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.14079>. Acesso em: 4 ago. 2025.

FASUSI, Oluwaseun Adeyinka; BABALOLA, Olubukola.; ADEJUMO, Timothy Olubisi. Harnessing of plant growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystem sustainability. **CABI Agriculture and Bioscience**, v. 4, n. 1, p. 26, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s43170-023-00168-0>. Acesso em: 28 jul. 2025.

FLORENCIO, Camila; BORTOLETTO-SANTOS, Ricardo; FAVARO, Camila; et al. Avanços na produção e formulação de inoculantes microbianos visando uma agricultura mais sustentável. **SciELO Brasil**, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170909>. Acesso em: 4 ago. 2025.

Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAOSTAT. **Production Quantities of Strawberries by country 2021**. Disponível online: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>.

FREITAS, Édipo Silva. **Aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* isolada e em associação à adubação nitrogenada na cultura do milho**, s.d. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/5812>. Acesso em: 8 ago. 2025.

FUKAMI, Josiane; NOGUEIRA, Marco Antonio; ARAUJO, Ricardo Silva; et al. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, n. 1, 2016. Disponível em: <https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/s13568-015-0171-y>. Acesso em: 7 ago. 2025.

FUKAMI, Josiane; OLLERO, Francisco Javier; MEGIAS, Manuel; HUNGRIA, Mariângela. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017. Disponível em:

<https://doi.org/10.1186/s13568-017-0453-7>. Acesso em: 19 jul. 2025.

FUKAMI, Josiane; CERZINI, Paula; HUNGRIA, Mariangela. Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 1, p. 73, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>. Acesso em: 19 jul. 2025.

GANUSOVA, Elena E.; BANERJEE, Ishita; SEATS, Trey; ALEXANDRE, Gladys. Indole-3-acetic acid (IAA) protects Azospirillum brasilense from indole-induced stress. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 91, n. 4, p. e02384-24, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.02384-24>. Acesso em: 27 jul. 2025.

GARCIA, Mayara M.; PEREIRA, Lucas C.; BRACCINI, Alessandro L.; et al. Effects of Azospirillum brasilense on growth and yield compounds of maize grown at nitrogen limiting conditions. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 2, p. 353–362, 2017. Disponível em: https://scielo.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2017000200006. Acesso em: 4 ago. 2025.

GHENOV, Fernanda; GERHARDT, Edileusa Cristina Marques; HUERGO, Luciano Fernandes; PEDROSA, Fabio Oliveira; WASSEM, Roseli; SOUZA, Emanuel Maltempi Characterization of glutamine synthetase from the ammonium-excreting strain HM053 of Azospirillum brasilense. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.235927>. Acesso em: 19 jul. 2025.

GIRI, Bikash Ranjan; CHATTARAJ, Sourav; RATH, Subhashree; PATTNAIK, Mousumi Madhusmita; MITRA, Debasi.; THATOI, Hrudayanath. Unveiling the Molecular Mechanism of Azospirillum in Plant Growth Promotion. **Bacteria**, v.4, n. 3, p. 36, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/bacteria4030036>. Acesso em: 20 jul. 2025.

GUPTA, Shweta; KAUSHAL, Rajesh; SOOD, Gaurav. Impact of plant growth-promoting Rhizobacteria on vegetable crop production. **International Journal of Vegetable Science**, v. 24, n. 3, p. 289-300, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19315260.2017.1407984>. Acesso em: 21 jul. 2025.

GUO, Kaiyan; Yang, Jun.; Yu, Nan; Luo, Li; Wang, Ertao. Biological nitrogen fixation in cereal crops: Progress, strategies, and perspectives. **Plant Communications**, v.4, n. 2, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100499>. Acesso em: 18 jul. 2025.

GUREEVA, Maria V.; GUREEV, Artem P. Molecular Mechanisms Determining the Role of Bacteria from the Genus *Azospirillum* in Plant Adaptation to Damaging Environmental Factors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 11, p. 9122, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms24119122>. Acesso em: 20 jul. 2025.

HEWAVITHARANA, Nalaka; KANNANGARA, Sagarika; SENANAYAKE, Seetha Priyanganie. Isolation, identification and mass production of five *Trichoderma* spp. on solid and liquid carrier media for commercialization. **International Journal of Applied Sciences and Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 285–293, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/330095837_Isolation_Identification_and_Mass_production_of_five_Trichoderma_spp_on_Solid_and_Liquid_Carrier_Media_for_Commercialization. Acesso em: 4 ago. 2025.

HOUSH, A. B.; POWELL, G.; SCOTT, S.; ANSTAETT, A.; GERHEART, A.; BENOIT, M.; WALLER, S.; POWELL, A.; GUTHRIE, J. M.; HIGGINS, B.; WILDER, S. L.; SCHUELLER, M. J.; FERRIERI, R. A. Functional mutants of *Azospirillum brasilense* elicit beneficial physiological and metabolic responses in *Zea mays* contributing to increased host iron assimilation. **The ISME journal**, v. 15, n. 5, p. 1505-1522, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00866-x>. Acesso em: 27 jul. 2025.

HUNGRIA, Mariangela; CAMPO, Rubens J.; SOUZA, Emanuel M.; et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1–2, p. 413–425, 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-009-0262-0>. Acesso em: 4 ago. 2025.

HUNGRIA, Mariangela; MENDES, Iêda Carvalho. Nitrogen fixation with soybean: The perfect symbiosis? **Biological Nitrogen Fixation**, p. 1009–1024, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119053095.ch99>. Acesso em: 4 ago. 2025.

HUNGRIA, Mariangela; NOGUEIRA, Marco Antonio. **Inoculação do milho com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *Azospirillum brasilense*: redução na adubação nitrogenada de cobertura e mitigação na emissão de gases de efeito estufa**, 2022. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1148186/1/Doc-450-OL.pdf>. Acesso em: 6 ago. 2025.

JIAO, Huiying; WANG, Ruizhe; QIN, Wei; YANG, Jiaxin. Screening

of rhizosphere nitrogen fixing, phosphorus and potassium solubilizing bacteria of *Malus sieversii* (Ldb.) Roem. and the effect on apple growth. **Journal of Plant Physiology**, v. 292, p. 154142, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2023.154142>. Acesso em: 21 jul 2025.

KADMIRI, Issam Meftah; MERNISSI, Najib El; AZAROUAL, Salah Eddine; et al. Bioformulation of microbial fertilizer based on clay and alginate encapsulation. **Current Microbiology**, v. 78, n. 1, p. 86–94, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-020-02262-2>. Acesso em: 4 ago. 2025.

KAKU, Hisatoshi. Histopathology of red stripe of rice. **Plant Disease**, v. 88, n. 12, p. 1304–1309, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30795190/>. Acesso em: 7 ago. 2025.

KEJELA, Tekalign. Phytohormone-producing rhizobacteria and their role in plant growth. In: **New insights into phytohormones**. IntechOpen, 2024. Disponível em: DOI: 10.5772/intechopen.1002823. Acesso em: 20 jul. 2025.

KHATOON, Zobia; HUANG, Suiliang; RAFIQUE, Mazhar; FAKHAR, Ali; KAMRAN, Muhammad Aqeel; SANTOYO, Gustavo. Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. **Journal of Environmental Management**, v. 273, p. 111118, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111118>. Acesso em: 16 jul. 2025.

KONG, Zhaoyu; LIU, Hongguang. Modification of rhizosphere microbial communities: A possible mechanism of plant growth promoting rhizobacteria enhancing plant growth and fitness. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 920813, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.920813>. Acesso em: 16 jul. 2025.

LI, Si-Min; ZHENG, Hong-Xiang; ZHANG, Xian-Sheng; SUI, Na. Cytokinins as central regulators during plant growth and stress response. **Plant cell reports**, v. 40, n. 2, p. 271-282, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00299-020-02612-1>. Acesso em: 25 jul. 2025.

LÓPEZ-REYES, Lucía; CARCAÑO-MONTIEL, Moises G.; LILIA, Tapia L.; MEDINA-DE LA ROSA, Guadalupe; ARMANDO, Tapia-Hernandes Refugio. Antifungal and growth-promoting activity of *Azospirillum brasilense* in *Zea mays* L. ssp. mexicana. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 50, n. 13-14, p. 727-743, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03235408.2017.1372247>. Acesso em: 24 jul. 2025.

- MACHADO, H. B.; FUNAYAMA, S.; RIGO, L. U.; PEDROSA, F. D. O. Excretion of ammonium by *Azospirillum brasilense* mutants resistant to ethylenediamine. **Canadian journal of microbiology**, v. 37, n. 7, p. 549-553, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/m91-092>. Acesso em: 15 jul. 2025.
- MARTÍNEZ-DALMAU, Javier; BERBEL, Julio; ORDÓÑEZ-FERNÁNDEZ, Rafaela. Nitrogen fertilization: A review of the risks associated with the inefficiency of its use and policy responses. **Sustainability**, v. 13, n. 10, p. 5625, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/10/5625>. Acesso em: 8 ago. 2025
- MEHNAZ, Samina; WESELOWSKI, Brian; LAZAROVITS, George. *Azospirillum canadense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from corn rhizosphere. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 57, n. 3, p. 620-624, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.64804-0>. Acesso em: 27 jul. 2025.
- MÉNDEZ-GÓMEZ, Manuel; CASTRO-MERCADO, Elda; LÓPEZ-BUCIO, José; GARCÍA-PINEDA, Ernesto. *Azospirillum brasilense* Sp245 triggers cytokinin signaling in root tips and improves biomass accumulation in *Arabidopsis* through canonical cytokinin receptors. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 27, n. 8, p. 1639-1649, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12298-021-01036-9>. Acesso em: 24 jul. 2025.
- MISHRA, Jitendra; ARORA, Naveen Kumar. Bioformulations for plant growth promotion and combating phytopathogens: a sustainable approach. In: **Bioformulations: for sustainable agriculture**. p. 3-33, 2016. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-81-322-2779-3_1. Acesso em: 4 ago. 2025.
- MOHAMED, H. M. E.; SHAIIB, F. M. A.; EL-KOMY, H. M. A. Solubilization of inorganic phosphates by isolated *Azospirillum lipoferum* (H3) as free or alginate immobilized inoculation. **ContROL**, v. 1, p. 1-7, 2017.
- MORAIS, Tâmara Prado de; BRITO, Césio Humberto de; BRANDÃO, Afonso Maria; et al. Inoculation of maize with *Azospirillum brasilense* in the seed furrow. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 2, p. 290-298, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rca/a/hRtrwMkvrMjPq9KLNvhTc3q/>. Acesso em: 8 ago. 2025.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e Bioquímica do solo. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. 2 Ed. **Transformações bioquímicas e**

ciclo dos elementos no solo. Lavras, MG: UFLA, p. 313-404, 2006.

MOUTIA, Jean-Francois Yvan; SAUMTALLY, Salem; SPAEPEN, Stijn; et al. Plant growth promotion by *Azospirillum* sp. in sugarcane is influenced by genotype and drought stress. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 337, n. 1–2, p. 233–242, 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-010-0519-7>. Acesso em: 7 ago. 2025.

MSLIM, Ramle; HAMID, Noor Hisham; WAHID, Mohd Basri; et al. Mass production of *Metarhizium anisopliae* using solid state fermentation and wet harvesting methods. **ResearchGate**, 2005. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/236010090>. Acesso em: 4 ago. 2025.

MUNHOZ, André Thiago. **Técnicas de inoculação com bactérias de fixação de nitrogênio na cultura da soja.** Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/165898>. Acesso em: 6 ago. 2025.

NAM, Jun Haeng; THIBODEAU, Alyssa; QIAN, Yanping L.; QIAN, Michael C.; PARK, Si Hong. Multidisciplinary evaluation of plant growth promoting rhizobacteria on soil microbiome and strawberry quality. **AMB Express**, v. 13, n. 1, p. 18, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13568-023-01524-z>. Acesso em: 24 jul. 2025.

NASCIMENTO, Fernanda Cristina; HENRIQUE, Carlos; KANDASAMY, Saveetha; et al. Efficacy of alginate- and clay-encapsulated microorganisms on the growth of araçá-boi seedlings (*Eugenia stipitata*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 41, n. 1, p. e43936, 2019. Disponível em: <https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/43936>. Acesso em: 4 ago. 2025.

NOSHEEN, Shaista ; AJMAL, Iqra; SONG, Yuanda. Microbes as biofertilizers, a potential approach for sustainable crop production. **Sustainability**, v. 13, n. 4, p. 1868, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su13041868>. Acesso em: 21 jul. 2025.

NWACHUKWU, Blessing Chidinma; BABALOLA, Olubukola Oluranti; HASSEN, Ahmed Idris. Rhizosphere competence and applications of plant growth-promoting rhizobacteria in food production-a review. **Scientific African**, p. e02081, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02081>. Acesso em: 25 jul. 2025.

OLEŃSKA, Ewa; MAŁEK, Wanda; WÓJCIK, Małgorzata; SWIECICKA, Izabela; THIJS, Sofie; VANGRONSVELD, Jaco. Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. **Science of the Total Environment**, v. 743, p. 140682, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140682>. Acesso em: 26 jul. 2025.

OLIVEIRA, Inocencio Junior; FONTES, José Roberto Antonioli; PEREIRA, Bruno Fernando Faria; et al. Inoculation with *Azospirillum brasiliense* increases maize yield. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 5, n. 1, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40538-018-0118-z>. Acesso em: 7 ago. 2025.

PATHANIA, Priyanka; RAJTA, Ankita; SINGH, Poonam C.; BHATIA, Ranjana. Role of plant growth-promoting bacteria in sustainable agriculture. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 30, p. 101842, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101842>. Acesso em: 17 jul. 2025.

PANKIEVICZ, Vânia C.; DO AMARAL, Fernanda P.; SANTOS, Karina F.; AGTUCA, Beverly; XU, Youwen; SCHUELLER, Michael J.; ARISI, Ana Carolina M.; STEFFENS, Maria B. R.; SOUZA, Emanuel M.; PEDROSA, Fabio Oliveira; STACEY, Gary; FERRIERI, Richard A.; Robust biological nitrogen fixation in a model grass–bacterial association. **The Plant Journal**, v. 81, n. 6, p. 907-919, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tpj.12777>. Acesso em: 17 jul. 2025.

PEDRAZA, Raúl O.; BELLONE, Carlos H.; DE BELLONE, Silvia Carrizo; SORTE, Paulo Marcos Fernandes Boa; DOS SANTOS TEIXEIRA, Kátia Regina. *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. **European Journal of soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 36-43, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.09.007>. Acesso em: 19 jul. 2025.

PEDRAZA, Raúl O.; FILIPPONE, María P.; FONTANA, Cecilia; et al. ***Azospirillum***. Elsevier eBooks, p. 73–105, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/342838993_Azospirillum. Acesso em: 4 ago. 2025.

PEDROSA, F. O.; OLIVEIRA, A. L. M.; GUIMARÃES, V. F.; ETTO, R. M.; SOUZA, E. M.; FURMAM, F. G.; GONÇALVES, D. R. P.; SANTOS, O. J. A. P.; GONÇALVES, L. S. A.; A. G. BATTISTUS, A. G.; GALVÃO, C. W. The

ammonium excreting *Azospirillum brasilense* strain HM053: a new alternative inoculant for maize. **Plant and Soil**, v. 451, n. 1, p. 45-56, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04124-8>. Acesso em: 19 jul. 2025.

PEREIRA, Leonardo Costa; TOZONI, Marceli de Lelis. Inoculação de estirpes de *Azospirillum brasilense* associada à fertilização nitrogenada na cultura do milho. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, n. 31, 2017. Disponível em: http://www.faeF.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/KhyNCctt302h9Tk_2018-1-25-14-44-31.pdf. Acesso em: 6 ago. 2025.

PICCININ, Gleberon G.; BRACCINI, Alessandro L.; DAN, Lilian G. M.; et al. Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 393–397, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.052>. Acesso em: 7 ago. 2025.

PII, Y.; GRAF, H.; VALENTINUZZI, F.; CESCO, S.; MIMMO, T. The effects of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on the growth and quality of strawberries. In: **VIII International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops 1217**, p. 231-238, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1217.29>. Acesso em: 18 jul. 2025.

PRASHAR, Pratibha; KAPOOR, Neera; SACHDEVA, Sarita. Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 13, n. 1, p. 63-77, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9317-z>. Acesso em: 18 jul. 2025.

PRINSEN, E.; COSTACURTA, A.; MICHIELS, K.; VANDERLEYDEN, J.; VAN ONCKELEN, H. *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 6, p. 609-609, 1993. Disponível em: https://www.apsnet.org/publications/mpmi/backissues/Documents/1993Articles/Microbe06_609.pdf. Acesso em: 21 jul. 2025.

RAMAKRISHNA, Wusirika; YADAV, Radheshyam; LI, Kefeng. Plant growth promoting bacteria in agriculture: two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 10-18, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.019>. Acesso em: 21 jul. 2025.

RAJESH, Banavathu; MEHERA, Biswarup; KUMAR, Prateek. Effect of Bio-fertilizer and Gibberellic Acid on Growth and Yield of Baby Corn

(*Zea mays*, Poaceae). **International Journal of Environment and Climate Change**, v. 13, n. 7, p. 602-607, 2023. Disponível em: [https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:tIr8dnPK3m0J:scholar.google.com/+RAJESH,+B.%3B+MEHERA,+B.%3B+KUMAR,+P.+Effect+of+Bio-fertilizer+and+Gibberellic+Acid+on+Growth+and+Yield+of+Ba by+Corn+\(Zea+mays,+Poaceae\).+International+Journal+of+Environm ent+and+Climate+Change,+v.+13,+n.+7,+p.+602-607,+2023.&hl=pt-BR&as_sdt=0,5](https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:tIr8dnPK3m0J:scholar.google.com/+RAJESH,+B.%3B+MEHERA,+B.%3B+KUMAR,+P.+Effect+of+Bio-fertilizer+and+Gibberellic+Acid+on+Growth+and+Yield+of+Ba by+Corn+(Zea+mays,+Poaceae).+International+Journal+of+Environm ent+and+Climate+Change,+v.+13,+n.+7,+p.+602-607,+2023.&hl=pt-BR&as_sdt=0,5). Acesso em: 19 jul. 2025.

REIS, V. M.; TEIXEIRA, K. R. dos S. Fixação biológica de nitrogênio-estado da arte. Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, v. 28, p. 350-68, 2005.

RIVERA, Diego; REVALE, Santiago; MOLINA, Romina; GUALPA, José; PUENTE, Mariana; MARONICHE, Guillermo; PARIS, Gaston; BAKER, David; CLAVIJO, Bernardo; McLay, Kirsten; SPAEPEN, Stijn; PERTICARI, Alejandro; VAZQUEZ, Martín; FLORENCE, Wisniewski-Dyé; WATKINS, Chris; MARTÍNEZ-ABARCA, Francisco; VANDERLEYDEN, Jos; CASSÁN, Fabricio. Complete genome sequence of the model rhizosphere strain *Azospirillum brasilense* Az39, successfully applied in agriculture. **Genome announcements**, v. 2, n. 4, p. 10.1128, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/genomea.00683-14>. Acesso em: 19 jul. 2025.

RIVIEZZI, Brailio; CAGIDE, Cécilia; PEREIRA, Agustina; et al. Improved nodulation and seed yield of soybean (*Glycine max*) with a new isoflavone-based inoculant of *Bradyrhizobium elkanii*. **Rhizosphere**, v. 15, p. 100219, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100219>. Acesso em: 8 ago. 2025.

ROJAS-SÁNCHEZ, Blanca; GUZMÁN-GUZMÁN, Paulina; MORALES-CEDENO, Luzmaria R.; et al. Bioencapsulation of microbial inoculants: mechanisms, formulation types and application techniques. **Applied Biosciences**, v. 1, n. 2, p. 198-220, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2813-0464/1/2/13>. Acesso em: 4 ago. 2025.

SAINJU, Upendra M.; GHIMIRE, Rajan; PRADHAN, Gautam P. Nitrogen fertilization I: impact on crop, soil, and environment. In: **Nitrogen fixation**. 2020. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/67454>. Acesso em: 8 ago. 2025.

SANTA, Osmar R. Dalla; HERNÁNDEZ, Ramona Fernández; ALVAREZ, Gergina L. Michelena; et al. *Azospirillum* sp. inoculation in wheat, barley and oats

seeds greenhouse experiments. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 6, p. 843–850, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/wXrhswP7T7RW3NbcLKBCFYs/>. Acesso em: 8 ago. 2025.

SANTOS, K. F. D. N.; MOURE, V. R.; HAUER, V.; SANTOS, A. S.; DONATTI, L.; GALVÃO, C. W.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E. M.; WASSEM, R.; STEFFENS, M. B. R. Wheat colonization by an *Azospirillum brasilense* ammonium-excreting strain reveals upregulation of nitrogenase and superior plant growth promotion. **Plant and Soil**, v. 415, n. 1, p. 245-255, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3140-6>. Acesso em: 18 jul. 2025.

Mariangela. Microbial inoculants: Reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, v. 9, n. 1, 2019. Disponível em: <https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/s13568-019-0932-0>. Acesso em: 6 ago. 2025.

SANTOS, Mariana Sanches; NOGUEIRA, Marco Antonio; HUNGRIA, Mariangela. Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture: lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 45, e0210024, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcs/a/CdtxRfpzKD8Y7DxBmXQfYgf/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

SCUDELETTI, Daniele. **Modos de inoculação de *Azospirillum brasilense* em cana-de-açúcar**. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/54c82471-57c5-4567-a999-b02643e22ede/content>. Acesso em: 6 ago. 2025.

SCUDELETTI, Daniele; CRUSCIOL, Carlos Alexandre Costa; MOMESSO, Letusa; et al. Inoculation with *Azospirillum brasilense* as a strategy to enhance sugarcane biomass production and bioenergy potential. **European Journal of Agronomy**, v. 144, 126749, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1161030123000175>. Acesso em: 7 ago. 2025.

SHARMA, Pooja; BANO, Ambreen; SINGH, Surendra Pratap; et al. **Microbial inoculants: recent progress in formulations and methods of application**. Elsevier eBooks, p. 1–28, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780323990431000177>. Acesso em: 4 ago. 2025.

SHARMA, Ruchi; SINDHU, Satyavir S.; GLICK, Bernard R. Potassium solubilizing microorganisms as potential biofertilizer: a sustainable climate-resilient approach to improve soil fertility and crop production in agriculture.

Journal of Plant Growth Regulation, v. 43, n. 8, p. 2503-2535, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11297-9>. Acesso em: 19 jul. 2025.

SILVA, Leandro Israel da; OLIVEIRA, Indira Pereira de; JESUS, Ederson da Conceição; PEREIRA, Marlon Corrêa; PASQUAL, Moacir; ARAÚJO, Ronilson Carlos de; DÓRIA, Joyce. Fertilizer of the future: Beneficial bacteria promote strawberry growth and yield and may reduce the need for chemical fertilizer. **Agronomy**, v. 12, n. 10, p. 2465, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy12102465>. Acesso em: 18 jul. 2025.

INGH, Vagmi; KUMAR, Birendra. A review of agricultural microbial inoculants and their carriers in bioformulation. **Rhizosphere**, v. 29, p. 100843, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452219823001829>. Acesso em: 4 ago. 2025.

SOUMARE, Abdoulaye ; DIEDHIOU, Abdala G.; THUITA, Moses; HAFIDI, Mohamed; OUHDOUCH, Yedir; GOPALAKRISHNAN, Subramaniam; KOUISNI, Lamfeddal. Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. **Plants**, v. 9, n. 8, p. 1011, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants9081011>. Acesso em: 24 jul. 2025.

SOUZA, Vênia C. de; SILVA, Ricardo A. da; CARDOSO, Gleibson D.; et al. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 612–618, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/ZzvSNNZwxpcvGT5kWFKsV8C/>. Acesso em: 8 ago. 2025.

SOUZA, José Augusto Liberato; TEIXEIRA, Lucas dos Santos; FREITAS, Gabriela da Silva; et al. Azospirillum brasilense in the planting furrow of sugarcane to minimize the use of N fertilizer. **Plants**, v. 14, n. 11, p. 1599, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/14/11/1599>. Acesso em: 7 ago. 2025.

STEPHENS, J. H. G.; RASK, H. M. Inoculant production and formulation. **Field Crops Research**, Amsterdã, v. 65, n. 2–3, p. 249–258, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378429099000908>. Acesso em: 4 ago. 2025.

STRZELCZYK, Edmund; KAMPERT, M.; LI, C. Y. Cytokinin-like substances and ethylene production by Azospirillum in media with different carbon sources. **Microbiological Research**, v. 149, n. 1, p. 55-60, 1994. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(11\)80136-9](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(11)80136-9). Acesso em: 23 jul. 2025.

SUN, enli.; SHAHRAJABIAN, Mohamad Hesam; WANG, Na. A study of the different strains of the genus *Azospirillum* spp. on increasing productivity and stress resilience in plants. **Plants**, v. 14, n. 2, p. 267, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants14020267>. Acesso em: 20 jul. 2025.

SZCZECH, Magdalena; MACIOROWSKI, Robert. Microencapsulation technique with organic additives for biocontrol agents. **Journal of Horticultural Research**, v. 24, n. 1, p. 111–122, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/johr-2016-0013>. Acesso em: 4 ago. 2025.

TARRAND, Jeffrey J.; KRIEG, Noel R.; DÖBEREINER, Johanna. A taxonomic study of the *Spirillum* lipoferum group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian journal of microbiology**, v. 24, n. 8, p. 967-980, 1978. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/m78-160>. Acesso em: 11 jul. 2025.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and environmental microbiology**, v. 37, n. 5, p. 1016-1024, 1979. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.37.5.1016-1024.1979>. Acesso em: 11 jul. 2025.

TIMOFEEVA, Anna M.; GALYAMOVA, Maria R.; SEDYKH, Sergey E. Bacterial siderophores: classification, biosynthesis, perspectives of use in agriculture. **Plants**, v. 11, n. 22, p. 3065, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants11223065>. Acesso em: 14 jul. 2025.

TORTORA, María L.; DÍAZ-RICCI, Juan C.; PEDRAZA, Raúl O. *Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. **Archives of microbiology**, v. 193, n. 4, p. 275-286, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-010-0672-7>. Acesso em: 16 jul. 2025.

Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development | Department of Economic and Social Affairs. **United Nations**. Disponível em: <https://sdgs.un.org/2030agenda>. Acesso em: 8 ago. 2025.

TRUJILLO-ROLDÁN, Mauricio A.; VALDEZ-CRUZ, Norma A.; GONZALEZ-MONTEERRUBIO, César F. et al. Scale-up from shake flasks to pilot-scale production of the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense* for preparing a liquid inoculant formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 22, p. 9665–9674, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-013-0966-5>.

doi.org/10.1007/s00253-013-5199-9. Acesso em: 18 jul. 2025.

VILLAVICENCIO-VÁSQUEZ, Mirian; ESPINOZA-LOZANO, Fernando; ESPINOZA-LOZANO, Lisbeth; et al. Biological control agents: mechanisms of action, selection, formulation and challenges in agriculture. **Frontiers in Agronomy**, v. 7, 2025. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/agronomy/articles/10.3389/fagro.2025.1578915/full>. Acesso em: 8 ago. 2025.

XIE, Cheng-Hui; YOKOTA, Akira. Azospirillum oryzae sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 55, n. 4, p. 1435-1438, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63503-0>. Acesso em: 19 jul. 2025.

ZAIDI, A.; KHAN, M.; AHMAD, M.; OVES, M. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. **Acta microbiologica et immunologica Hungarica**, v. 56, n. 3, p. 263-284, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1556/amicr.56.2009.3.6>. Acesso em: 20 jul. 2025.

ZAHEER, Muhammad Saqlain; ALI, Hafiz Haider; IQBAL, Muhammad Arslan; ERINLE, Kehinde O.; JAVED, Talha; IQBAL, Javaid; HASHMI, Makhdoom Ibad Ullah; MUMTAZ, Muhammad Zahid; SALAMA, Ehab A. A.; KALAJI, Hazem M.; WRÓBEL, Jacek; DESSOKY, Eldessoky S. Cytokinin production by *Azospirillum brasilense* contributes to increase in growth, yield, antioxidant, and physiological systems of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 886041, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.886041>. Acesso em: 18 jul. 2025.

ZHU, Yaxin; WANG, Yu; HE, Xiaolin; LI, Beier; DU, Shaoting. Plant growth-promoting rhizobacteria: A good companion for heavy metal phytoremediation. **Chemosphere**, p. 139475, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139475>. Acesso em: 16 jul. 2025.



Das Bancadas para a História: Uma Homenagem aos Microbiologistas Brasileiros

*Júlia Bastos dos Santos
Sâmela Aldrea Leite de Oliveira
Mariana Machado Fidelis do Nascimento
Juliana Vitória Messias Bittencourt*

CAPÍTULO

08

1. INTRODUÇÃO

Este livro aborda tópicos de microbiologia com o intuito de auxiliar estudantes e pesquisadores que queiram aprofundar-se nos conteúdos aqui presentes. Conhecimento se constrói assim: com árduo trabalho de pesquisa e divulgação. E nada disso se faz sozinho.

Tudo o que sabemos hoje, seja de microbiologia, seja de qualquer outro assunto, é uma estrada pavimentada por outras pessoas. Cientistas que dedicaram horas em suas bancadas, que tiveram seus percalços, que, por meio do sucesso ou da falha, chegaram em respostas. Este livro vem até o caro leitor porque cada autor aqui presente dedicou parte de seu tempo para estudar, escrever, e, principalmente, aprender também.

Este capítulo é um espaço singular para celebrar a história dos que nos precedem. Um pequeno aceno à nomes da ciência brasileira que trilharam Universidades e Institutos na utópica estratégia de conhecer parte de nossos recursos genéticos na esfera micro.

A história brasileira de microbiologia começa desde os anos 1800, com discussões sobre a vacina da varíola, a primeira a ser aplicada aqui. Porém, pesquisas executadas no país só se iniciaram de fato no fim do século XIX. Os avanços feitos por cientistas europeus inspiram brasileiros a estudar a microbiologia. Médicos, professores e pesquisadores tentam replicar a metodologia de Pasteur para desenvolver vacinas brasileiras para doenças de interesse brasileiro, como febre amarela e malária. Nomes conhecidos surgem ao longo dos anos, junto do estabelecimento de importantes centros de pesquisa que temos hoje.

Não só no âmbito da saúde que a microbiologia floresceu, mas também no âmbito agrônomo, como Johanna Döbereiner muito bem representa, na sua revolucionária pesquisa com bactérias fixadoras de nitrogênio que até hoje influencia o mercado brasileiro, tornando-o líder na plantação de soja.

Esses nomes iniciaram uma caminhada que muitos outros pesquisadores percorrem até hoje, impulsionando pesquisas importantíssimas para o entendimento, conservação e aplicação dos recursos genéticos que temos. Numa tentativa simbólica de representar todos os microbiologistas brasileiros, traremos alguns nomes proeminentes pelas próximas páginas, para celebrar seus trabalhos e suas contribuições para a construção do conhecimento microbiológico.

2. A PRIMEIRA ERA DA MICROBIOLOGIA BRASILEIRA

Brasil no fim do século XIX. Este é o cenário que temos para os primeiros passos dos estudos microbiológicos no nosso país. Isso significa resgatar da memória o que sabemos dos grandes eventos históricos brasileiros

da época: Guerra da Tríplice Aliança (1864 - 1870), abolição da escravatura (1888), e a Primeira República (1889 - 1930).

Havia um estigma ao redor dos grandes centros urbanos brasileiros, muito em parte influenciados pelo preconceito e desejo de se igualar aos padrões inalcançáveis europeus. Epidemias de doenças não eram incomuns, especialmente no Rio de Janeiro, uma cidade densamente populada num espaço geográfico limitado por morros e pântanos, com ruas estreitas, calor tropical, e com suas questões sociais da época. Com o fim da escravidão, muitos ex-escravizados viram-se sem destino, e passaram a morar nos conhecidos cortiços ao redor do Rio.

Nesta mesma época, a era de ouro da microbiologia florescia na Europa, com estudos e pesquisas liderados, sobretudo, por Louis Pasteur (1822 - 1895) e Robert Koch (1843 - 1910). A concepção do entendimento de que microrganismos existem, estão em todos os lugares, e são responsáveis por diversos fenômenos em nossas vidas lançam uma nova luz sobre as mais diversas áreas. Tais ideias popularizam-se, e logo muitas questões na medicina se vêem sob renovada perspectiva. Diversos médicos se lançam na microbiologia com a possibilidade de explicar doenças antigas, entendê-las e desenvolverem suas vacinas. Conceitos novos caem na boca do povo, e agora tudo parece ser explicado pelos microrganismos.

Parte dos problemas brasileiros relacionados à epidemias passou a ser explicado pela “teoria dos miasmas”: que doenças são causadas pela má circulação do ar, além do calor e da umidade. Além disso, parte da culpa recaiu sobre os cortiços, acreditando-se que sua “falta de higiene” fosse responsável por proliferar doenças. Reformas sucederam-se pelo Rio, com metas de alargar as ruas, extinguir os cortiços, e, no geral, melhorar a condição sanitária da cidade. Ainda assim, vimos epidemias de varíola, febre amarela, peste bubônica, gripe espanhola, entre outros, alastrando-se pela capital e por cidades vizinhas, como Santos.

É importante notar que já havia a presença de vacinas no Brasil. A primeira vacina trazida foi a da varíola (que também é a primeira vacina inventada, por Edward Jenner (1749 - 1823), ao notar que pessoas em contato com vacas contaminadas tinham mais resistência à doença). Felisberto Caldeira Brant, marquês de Barbacena, foi o primeiro a aplicar tal vacina, em 1804. Ainda assim, faltavam compreensão acerca do funcionamento das doenças, de como eram transmitidas, e como a imunização auxiliaria na erradicação das doenças.

Em meio a um cenário complexo social, político, econômico e sanitário, vemos a medicina pasteuriana ganhando popularidade no Brasil. Com isso, cientistas nascem e nomes se popularizam, marcando os livros de história brasileira.

É difícil traçar precisamente os laboratórios microbiológicos que surgiram no Brasil e fazer jus a todos os nomes que desbravaram esta nova área em seus primórdios. Tentamos trazer pelo menos uma pequena menção a tais, nesta singela tentativa de traçar a história da ciência microbiológica brasileira.

Por volta de 1866 um grupo de médicos fundou um periódico chamado *Gazeta Médica da Bahia* (que durou até 1915), grupo que viria a ser conhecido como a *Escola Tropicalista Baiana*. Eram médicos, dentre brasileiros e estrangeiros, que reuniam-se informalmente para debater e trocar ideias (e até espécimes!), particularmente com certo interesse em doenças causadas por agentes microbianos. Enquanto muitos cientistas (especialmente os do Rio de Janeiro) viam o desenvolvimento da ciência como uma mera cópia do pensamento europeu, este grupo baiano desenvolvia um pensamento crítico em cima das doenças tropicais que investigavam. Queriam entender como as doenças se davam, o que as influenciavam, e se era possível combatê-las com políticas públicas e condutas sanitárias apropriadas. Suas abordagens descartaram a ideia de que o Brasil era um país fadado a ser epidêmico e incapaz de alcançar a civilidade dos padrões europeus. A *Escola Tropicalista Baiana* conseguiu, ao longo de sua trajetória, chegar em respostas para algumas de suas pesquisas, assim como também falharam em outros momentos, como qualquer cientista. Independentemente, talvez o que mais marque sua existência seja a busca pela medicina nacional, quando o normal da época era olhar para o exterior com brilho nos olhos.

Outro nome importante, desta vez vindo do Rio de Janeiro, é o de Domingos José Freire (1842 - 1899), formado médico pela Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, com experiência na Guerra do Paraguai. Numa época em que a ideia firme da sociedade era de que as doenças tropicais eram totalmente causadas pelo clima tropical e pelos miasmas, Domingos estudava, e posteriormente divulgava, que a real causa da febre amarela era, na verdade, causada por microrganismos. O médico, entretanto, equivocou-se ao isolar uma microalga, da qual desenvolveu a “primeira vacina” contra febre amarela. Hoje sabemos que a doença é, na verdade, causada por um vírus. Mesmo assim, sua capacidade de pesquisa o levou a aplicar sua vacina de maneira metodológica (de 1883 a 1894), gerando dados estatísticos coerentes, o que sustentou por muito tempo a aplicação de sua profilaxia. Seu trabalho recebeu notoriedade nacional e estrangeira, recebendo apoio até mesmo de d. Pedro II, e permitindo-lhe enviar sua vacina para outros países como Porto Rico, Jamaica e as Guianas. Primeiramente aplicada em imigrantes e nativos do Rio, estes considerados naturalmente mais resistentes, a vacina ganhou popularidade e começou a ser aplicada em classes sociais mais altas. Isso começou a trazer uma questão acerca da vacina, que já não se mostrava tão eficaz naqueles que naturalmente não eram resistentes à doença. Concomitantemente, outros pesquisadores, brasileiros e estrangeiros, começaram a refutar as pesquisas de Domingos, apontando outros agentes causadores, argumentando que pesquisadores sul-americanos não são capazes de produzir uma vacina eficaz. Domingos, ainda assim, provou-se um grande cientista, e por tal foi-lhe concedido o cargo de diretor do Instituto Bacteriológico Domingos Freire.

Apesar de ter nascido no Brasil, Adolfo Lutz formou-se em medicina na Universidade de Berna em 1879. Sua família, que era de imigrantes, voltou para a Europa para fugir justamente das epidemias de cólera e febre amarela que assolavam a capital à época. Antes de voltar para seu país natal, Lutz trabalhou em diversos países, e chegou a ter aulas até mesmo com o próprio Louis Pasteur. Porém, ao invés de retornar para o Rio, Lutz decide clinicar no interior do estado de São Paulo, mais precisamente na pequena cidade de Limeira. Como médico, vê de tudo um pouco. Concomitantemente com seu trabalho, era também pesquisador, tentando compreender os meandros de doenças, não importando se affligiam humanos ou animais. Notavelmente, observou e relatou qual era o causador da hanseníase, descoberta confirmada por outros cientistas também. Lutz torna-se um grande nome da história brasileira por suas importantes pesquisas acerca da febre tifóide, malária, esquistossomose, hanseníase, entre outras. Como resultado, chegou a tornar-se diretor do Instituto Bacteriológico de São Paulo, onde ficou por 15 anos. Foi quem identificou o mosquito *Aedes aegypti* como o real vetor da febre amarela, contrariando as crenças populares, que responsabilizavam de tudo um pouco, menos um mero mosquito. Por fim, foi chamado por Oswaldo Cruz para chefiar um setor em Manguinhos, hoje atual Fundação Oswaldo Cruz.

Falando nele, Oswaldo Cruz é um dos maiores nomes da ciência brasileira. Ingressou na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro aos 15 anos, formando-se em 1892. Desde já era interessado em microbiologia, estudando e publicando trabalhos sobre, incluindo sua tese de doutorado, que tratava da veiculação microbiana pelas águas. Já cedo em seus anos como profissional foi chamado pelo Instituto Sanitário Federal para auxiliar na investigação de uma epidemia de cólera que ocorria nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo. Foi quando descobriu, num laboratório no porão de sua casa, a bactéria causadora da cólera, a *Vibrio cholerae*. Em 1900, após um surto de peste bubônica em Santos, na qual fez parte dos esforços para combater (junto de outros nomes como Adolfo Lutz, Emílio Ribas e Vital Brazil), o Instituto Soroterápico Federal é criado e Oswaldo Cruz é chamado para sua direção técnica, depois passando a ser diretor geral. Foi onde estudaram a produção de um soro e uma vacina de combate à peste bubônica. Já em 1903, Cruz agora é convocado para ser diretor na Diretoria Geral de Saúde Pública. Posição desafiadora, considerando que o Rio de Janeiro sofria com febre amarela, peste bubônica, cólera, varíola, entre outros. Oswaldo Cruz é capaz de desenhar e aplicar planos de contingência, dentre eles uma bem-sucedida, porém controversa, campanha de combate ao mosquito *Aedes*. Outra medida que tomou, mais famosa, foi a exigência de vacinação obrigatória da população contra a varíola. É desta medida que a famosa Revolta da Vacina se originou, engendrada pela indignação e desconfiança da população. A obrigatoriedade foi derrubada. Não

seria até uma segunda epidemia de varíola, em 1908, que a própria população se preocuparia em vacinar-se contra a doença. Estas reviravoltas, entretanto, não impediram Cruz de continuar seu trabalho. Foi capaz de erradicar a febre amarela no Pará. Promoveu o saneamento básico na Amazônia. Auxiliou no combate da malária. Seus trabalhos, não só de pesquisa, mas também de políticas públicas, criaram um legado ainda muito presente nos dias de hoje.

Um estudioso da mesma geração de Oswaldo Cruz foi Vital Brazil. Mineiro, formou-se na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro em 1891. Até 1897, trabalhou no Serviço Sanitário de São Paulo, passando a trabalhar com Adolfo Lutz no Instituto Bacteriológico após isso. Após o surto de peste bubônica em Santos em 1899, a administração pública estadual decidiu criar um instituto que pudesse continuar os estudos e combates à doenças, com pesquisa e produção de soros, vacinas e afins. Nasce então o Instituto Serumterápico, instalado na Fazenda Butantan. Vital é chamado para dirigir o laboratório que viria a ser o Instituto Butantan, onde vai trabalhar por até 24 anos. Apesar de ser médico e sanitarista com experiência no combate de doenças, tinha grande interesse, também, por animais peçonhentos e no combate de seus venenos. Graças a ele, o Instituto Butantan tem uma grande reputação no desenvolvimento de soros.

Por fim, de uma geração seguinte a estes grandes nomes, tivemos Carlos Chagas. Mineiro assim como Vital Brazil, também estudou e formou-se na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, em 1903. Sua tese de finalização do curso foi sobre a malária, e por isso logo teve contato com Oswaldo Cruz. Recebeu um convite deste para trabalhar em Manguinhos, que recusou em prol de clinicar como médico. De 1904 a 1906, trabalhou em seu consultório particular no Rio de Janeiro, período no qual ele realizou a primeira campanha considerada bem sucedida contra a malária. Então, decidiu enfim juntar-se a Oswaldo Cruz no Instituto Oswaldo Cruz. Em 1907, a trabalho pelo Instituto, viaja para Minas Gerais a fim de combater a malária, mas acaba por se deparar com outro problema: uma doença misteriosa transmitida por um inseto hematófago conhecido como barbeiro. Chagas se propõe a estudar a doença, por fim realizando um feito até então inédito: ao descrever o parasita, o vetor e a doença, se tornou o primeiro pesquisador a descrever todo o ciclo de uma doença. Carlos Chagas descobriu o *Trypanosoma cruzi*, um parasita que nomeou em homenagem a Oswaldo Cruz. Dez anos depois, viria a se tornar o novo diretor do Instituto Oswaldo Cruz. Em 1919 também foi nomeado diretor geral de Saúde Pública. Chagas continuou com suas conquistas de importância nacional, como contenção de epidemias e estruturação de carreiras de saúde.

Porém é extremamente válido notar que estamos tratando da história da microbiologia no Brasil. E a microbiologia não é uma área exclusiva da saúde. Bem pelo contrário. É uma área que não se atém às fronteiras. Microrganismos estão em toda a parte, como Louis Pasteur muito bem provou, e isso significa

que podem influenciar não só a nossa saúde, como também nossos alimentos, nossas indústrias, nossas tecnologias e nossas produções.

A microbiologia é um forte braço da biotecnologia, e Johanna Döbereiner mostrou isso muito bem. Imigrante tcheca, Johanna formou-se em Agronomia em 1950 na Universidade de Munique. Por conta do pós-guerra, seu curso foi inteiramente teórico, o que não foi impedimento para ela. No mesmo ano de sua formatura, mudou-se para o Brasil, país que adotou como seu. Aqui, ela dirige-se para o Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola do Serviço Nacional de Pesquisas Agrônomicas, no Rio de Janeiro. Sua determinação em não só conseguir um emprego, mas principalmente continuar aprendendo, preenchendo as lacunas práticas que seu curso teve, a fizeram ser contratada. Em 1957 torna-se pesquisadora assistente do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Em 1963 consegue seu mestrado em Microbiologia do Solo, pela Universidade de Wisconsin-Madison, e logo após inicia um programa de pesquisa de fixação biológica de nitrogênio. Johanna queria entender porque algumas plantas do Brasil conseguiam permanecer viçosas mesmo sem serem adubadas com fertilizantes minerais, e se isso poderia ser aplicado a outras plantas, como por exemplo a soja. Era um pensamento inovador para a época, pois o modelo adotado por todos era o estadunidense: fertilizar as plantações com nitrogênio, algo bastante custoso, com baixo rendimento e nocivo ao meio ambiente. Mas se Johanna conseguisse compreender o funcionamento das plantas que dispensavam este tratamento, talvez ela pudesse achar um modelo alternativo. E assim o fez. Johanna conseguiu replicar a simbiose que algumas plantas têm com bactérias fixadoras de nitrogênio em plantas desprovidas disso. Em 1964, um programa brasileiro de melhoramento de soja começa, o que influenciou o projeto de Johanna, e lança seus resultados como tecnologia agrônômica brasileira. Johanna tornou-se membro titular da Academia Brasileira de Ciências, e trabalhou na Embrapa até o fim de sua vida, em 2000. Anualmente, o Brasil economiza 2 bilhões de dólares, e é líder mundial na produção de soja graças às pesquisas de Döbereiner.

3. MICROBIOLOGISTAS DA ERA MODERNA

Agora que entendemos um pouco das raízes da microbiologia brasileira, devemos também celebrar os nomes da era moderna. Estes pesquisadores continuam o legado, levando à frente a ciência brasileira passo a passo, a cada dia passado na bancada, a cada aluno orientado, a cada artigo escrito. Graças a estes nomes, o conhecimento brasileiro se torna mais e mais rico, e por tal gostaríamos de homenageá-los aqui.

3.1 JOÃO LÚCIO DE AZEVEDO

João Lúcio é um dos pioneiros no estudo de genética de microrganismos no Brasil. Criou o Setor de Genética de Microrganismos do Instituto de Genética da ESALQ-USP pouco tempo depois de se formar em Engenharia Agrônoma. Foi chefe do setor até 1995, onde pesquisou microrganismos de interesse agrícola e industrial, além de melhoramento genético de espécies com objetivo de controle biológico. Foi responsável por auxiliar na instalação de laboratórios e cursos de genética e biotecnologia em todo o Brasil, além de ajudar a criar os congressos nacionais de genética de microrganismos. É responsável por formar diversos graduandos, mestres e doutores no país inteiro.

Figura 1 – João Lúcio de Azevedo



Fonte: CNPq, 2023.

3.2 MARIANGELA HUNGRIA DA CUNHA

Mariangela é uma importante agrônoma no cenário brasileiro atual. Interessou-se desde a graduação em fixação biológica de nitrogênio, área que recebia pouca credibilidade na época. Mariangela foi convidada pela própria Johanna Döbereiner para ingressar na Embrapa, onde está até hoje e prosseguiu com seus estudos em fixação biológica de nitrogênio. Como membro da Embrapa, é responsável pelo lançamento de mais de 20 tecnologias para a agricultura. Além disso, pesquisa sobre biodiversidade microbiana,

microbiologia do solo, recuperação de pastagens degradadas, entre outros. Como professora e orientadora da pós-graduação de Microbiologia em Biotecnologia na UEL, e no curso de Bioinformática na UTFPR, é responsável pela formação de mais de 100 alunos, dentre mestres e doutores. Seu trabalho é reconhecido internacionalmente, sendo indicada para a Forbes e recebendo o World Food Prize (WFP), conhecido como o “Nobel da Alimentação”.

Figura 2 – Mariangela Hungria da Cunha



Fonte: CNPq, 2025.

3.3 VÂNIA APARECIDA VICENTE

Vania é responsável por diversos estudos importantes atualmente no Brasil. Ex-aluna de João Lúcio de Azevedo, atualmente é professora na UFPR, liderando e participando de projetos que focam em pesquisas microbiológicas. Implementou o Centro de Coleções Microbiológicas da Rede Paranaense Taxonline (CMRP/Taxonline), rede que visa conservar recursos biológicos de interesse biotecnológico e de saúde. Trabalha na pesquisa e monitoramento do SARS-CoV-2 nas redes de esgoto de Curitiba. Integra o Projeto Infecções Fúngicas Emergentes, que dedica atenção no estudo de doenças negligenciadas e/ou emergentes no Brasil, mapeando estrutura e molecularmente os agentes infecciosos, na tentativa de desenvolver respostas eficazes às doenças. Por fim, também trabalha com bioprospecção e diversidade microbiana, focando em

aplicações biotecnológicas como, por exemplo, para ações de biorremediação, para explorar suas capacidades antibacterianas ou para aplicar em áreas de saúde. Sua principal contribuição, no entanto, está sendo a consolidação de uma ampla rede de trabalhos em microbiologia, fortalecendo a cooperação entre instituições, pesquisadores e iniciativas voltadas à conservação, pesquisa e aplicação do conhecimento sobre conservação de recursos genéticos e de estudos epidemiológicos no país.

Figura 3 – Vania Aparecida Vicente



Fonte: CNPq, 2025.

3.4 OSWALDO GONÇALVES DE LIMA

Formado como químico pela hoje conhecida como Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em 1928, Oswaldo trabalhou com fermentação alcoólica no começo de sua carreira, até aproximadamente 1941. Em 1934 começou a lecionar Microbiologia Industrial e Técnicas das Fermentações na Escola de Engenharia de Pernambuco, de onde é natural. Em 1951 viajou para o México, onde isolou amostras de *Zymomonas mobilis*, bactéria conhecida por ter alta capacidade de produção de bioetanol. Tem diversas publicações no âmbito da microbiologia e grande contribuição na pesquisa de antibióticos e antimicrobianos. Encaminhou uma proposta para a Universidade Federal de Pernambuco que resultou na criação do Departamento de Antibióticos da Universidade, que foi renomeado como Departamento de Antibióticos Oswaldo Gonçalves de Lima em sua homenagem.

Figura 4 – Oswaldo Gonçalves de Lima



Fonte: PITTA, 2021.

3.5 FÁBIO DE OLIVEIRA PEDROSA

Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, mestre e doutor em Bioquímica, possui pós doutorado em fisiologia da fixação biológica de nitrogênio. Foi diretor binacional do Centro Brasileiro-Argentino de Biotecnologia, e coordenador de diversos programas paranaenses e nacionais de fixação de nitrogênio, genômica e proteômica. Já foi homenageado pela Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência por suas contribuições à ciência brasileira. Atualmente é membro titular da Academia Brasileira de Ciências. Professor e pesquisador, tem bastante enfoque em fixação biológica de nitrogênio por *Azospirillum spp.*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Bradyrhizobium spp.* e *Rhizobium tropici*. Tenta desvendar os funcionamentos da fixação biológica de nitrogênio por estes microrganismos, e como melhor aplicá-los.

Figura 5 – Fábio de Oliveira Pedrosa

Fonte: CNPq, 2025.

3.6 ZOILO PIRES DE CAMARGO

Zoilo é um pesquisador brasileiro premiado, com mais de 20 mil citações de suas publicações. É graduado em Ciências Biológicas pela Universidade de São Paulo (USP), posteriormente conseguindo mestrado e doutorado em Microbiologia e Imunologia, ambas pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Seu pós-doutorado foi pelo Instituto Pasteur, na França. Atualmente trabalha como professor na UNIFESP, lecionando Microbiologia e Imunologia, além de desenvolver pesquisas nesta mesma área. Tem como principal foco pesquisar doenças fúngicas, com linhas de estudo em doenças emergentes e endêmicas, como a paracoccidioidomicose. Contribuiu para o entendimento da esporotricose, uma micose com alta incidência em países latinos de clima tropical, como é o caso do nosso país, e que reemergiu ao ter novos surtos recentemente. Trabalha, também, como revisor de revistas importantes do meio acadêmico, como o *Brazilian Journal of Microbiology*, o *Medical Mycology* e a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

Figura 6 – Zoilo Pires de Camargo

Fonte: CNPq, 2025.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao rever a história da área da microbiologia no Brasil, nota-se como momentos importantes da história geral brasileira vem à tona.

Estudar e entender microbiologia mudou o rumo do Brasil. Não fosse por isso, epidemias teriam tomado conta do país. Não fosse por isso, não haveria desenvolvimento de vacinas, soros, locais de pesquisa. As ações de pesquisadores no passado abriram caminho para que pesquisadores hoje pudessem também fazer história, não só neste país, como também mundialmente. A recente pandemia de Covid poderia ter sido muito mais trágica se o Brasil não tivesse este histórico com a microbiologia, com a pesquisa e com a ciência.

Não só na área da saúde, não fosse pelo microbiologista propondo-se a entender, a estudar e a ir atrás de suas dúvidas, o Brasil talvez não fosse a potência que é atualmente na agropecuária. Muito se deve aos avanços tecnológicos na área de bioinsumos, que continua a crescer ininterruptamente, com importância igualmente crescente.

Reconhecer os obstáculos e tentar achar soluções para tais é uma questão para todos os cientistas. Os microbiólogos têm a vantagem de ter em suas mãos uma área de pesquisa que ainda tem muito a ser explorada. Há uma vastidão de possibilidades ainda a ser descoberta, seja descobrindo novos microrganismos, seja descobrindo novas alternativas com microrganismos já conhecidos. A microbiologia é uma área de pesquisa que só há de crescer com o futuro.

REFERÊNCIAS

ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS. João Lúcio Azevedo, [entre 2023 e 2025]. Disponível em: <https://www.abc.org.br/membro/joao-lucio-de-azevedo>. Acesso em: 09 fev. 2025.

ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS. Mariangela Hungria, [entre 2022 e 2025]. Disponível em: <https://www.abc.org.br/membro/mariangela-hungria>. Acesso em: 09 fev. 2025.

ANPG. Biografia de Carlos Chagas, [entre 2018 e 2025]. Disponível em: <https://www.anpg.org.br/2019/08/biografia-de-carlos-chagas>. Acesso em: 09 fev. 2025.

BENCHIMOL, Jaime Larry. A instituição da microbiologia e a história da saúde pública no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 5, n. 2, p. 265-292, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232000000200005>. Acesso em: 29 jul. 2025.

BENCHIMOL, J. L. **Dos micróbios aos mosquitos: febre amarela e a revolução pasteuriana no Brasil.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1999. 5000 p.

BONATELLI, Maria Letícia. **João Lúcio Azevedo: o microrganismo é uma ferramenta**, 2018. Disponível em: <https://www.comciencia.br/joao-lucio-de-azevedo-o-brasil-e-um-pais-de-referencia-em-genetica-aplicada-como-no-controle-biologico-de-pragas-na-agricultura-mas-no-desenvolvimento-de-novas-tecnicas-nao-desenvolvemos-ciencia-d>. Acesso em: 09 fev. 2025.

CABRAL, Dilma. **Diretoria-Geral de Saúde Pública**, 2018. Disponível em: <https://mapa.an.gov.br/index.php/dicionario-primeira-republica/567-diretoria-geral-de-saude-publica-2>. Acesso em: 09 fev. 2025.

CAMARGO, I. Mariangela Hungria faz um raio-x da evolução dos bioinsumos no Brasil. **Globo Rural**, 2024. Disponível em: <https://globorural>.

globo.com/entrevista/noticia/2024/09/mariangela-hungria-faz-um-raio-x-da-evolucao-de-bioinsumos-no-brasil.ghtml. Acesso em: 09 fev. 2025.

CNPQ. Vania Aparecida Vicente, 2009. Disponível em: <http://lattes.cnpq.br/424974541253872>. Acesso em: 09 fev. 2025.

CNPQ. Zoilo Pires de Camargo, 2025. Disponível em: <http://lattes.cnpq.br/0632912481397728>. Acesso em: 24 ago. 2025.

COELHO, M. A. O legado de Johanna Döbereiner. **Pesquisa FAPESP**, 2000. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/o-legado-de-johanna-dobereiner>. Acesso em: 09 fev. 2025.

CONFEA. Mariangela Hungria da Cunha, 2019. Disponível em: <https://www.confes.org.br/mariangela-hungria-da-cunha>. Acesso em: 09 fev. 2025.

DEMUNER, Suelm. **O papel da medicina e da engenharia nas transformações urbanas do Rio de Janeiro no início do século XX**, 2022. Disponível em: <https://bndigital.bn.gov.br/dossies/historia-da-ciencia/o-papel-da-medicina-e-da-engenharia-nas-transformacoes-urbanas-do-rio-de-janeiro-no-inicio-do-seculo-xx>. Acesso em: 29 jul. 2025.

DICIONÁRIO HISTÓRICO-BIOGRÁFICO DAS CIÊNCIAS DA SAÚDE NO BRASIL 1832–1970. **Laboratório de Bacteriologia do Estado de São Paulo**, 2025. Disponível em: https://dichistoriasaude.coc.fiocruz.br/wiki_dicionario/index.php?title=LABORAT%C3%93RIO_DE_BACTERIOLOGIA_DO_ESTADO_DE_S%C3%83O_PAULO. Acesso em: 09 fev. 2025.

DICIONÁRIO HISTÓRICO-BIOGRÁFICO DAS CIÊNCIAS DA SAÚDE NO BRASIL 1832–1970. **Laboratório de Higiene da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro**, 2025. Disponível em: https://dichistoriasaude.coc.fiocruz.br/wiki_dicionario/index.php?title=LABORAT%C3%93RIO_DE_HIGIENE_DA_FACULDADE_DE_MEDICINA_E_CIRURGIA_DE_S%C3%83O_PAULO. Acesso em: 09 fev. 2025.

EMBRAPA. História da Embrapa, [entre 2017 e 2025]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/memoria-embrapa/a-embrapa>. Acesso em: 09 fev. 2025.

FIOCRUZ. A trajetória do médico dedicado à ciência, [entre 2017 e 2025]. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/trajetoria-do-medico->

dedicado-ciencia. Acesso em: 09 fev. 2025.

FIOCRUZ PARANÁ. Quem foi Carlos Chagas, [entre 2016 e 2025]. Disponível em: <https://www.icc.fiocruz.br/carlos-chagas-3>. Acesso em: 09 fev. 2025.

FORBES. Mariangela Hungria conquista o Nobel da Alimentação, 2025. Disponível em: <https://forbes.com.br/forbesagro/2025/05/mariangela-hungria-conquista-o-nobel-da-alimentacao>. Acesso em: 24 ago. 2025.

FRANÇA, Bernardo; MAZZOTTO, Camila. Indicada ao Nobel, Johanna Döbereiner revolucionou a agronomia, **Revista Galileu**, 2021. Disponível em: <https://revistagalileu.globo.com/Sociedade/Historia/noticia/2021/10/indicada-ao-nobel-johanna-dobereiner-revolucionou-agronomia.html>. Acesso em: 09 fev. 2025.

HOLLINGHAM, R. Como um experimento com vacas resultou no nascimento da primeira vacina. **BBC News Brasil**, 2020. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/vert-fut-54416626>. Acesso em: 09 fev. 2025.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Apresentação, [entre 2016 e 2025]. Disponível em: <https://www.ial.sp.gov.br/ial/o-ial/apresentacao>. Acesso em: 09 fev. 2025.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Adolpho Lutz, 2000. Disponível em: <https://www.ioc.fiocruz.br/pages/personalidades/AdolphoLutz.html>. Acesso em: 09 fev. 2025.

INSTITUTO VITAL BRAZIL. História do Cientista: Vital Brazil Mineiro da Campanha, [s.d.]. Disponível em: <https://www.rj.gov.br/vitalbrazil/node/128>. Acesso em: 29 jul. 2025.

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR E GENÔMICA. Geneticistas Brasileiros: João Lúcio de Azevedo, 2013. Disponível em: <https://bloglbgm.wordpress.com/2013/05/08/geneticistas-brasileiros-joao-lucio-de-azevedo>. Acesso em: 09 fev. 2025.

MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARASCIULO, Marília. Adolfo Lutz: a história de um pioneiro da epidemiologia brasileira, **Revista Galileu**, 2021. Disponível em: <https://revistagalileu.globo.com/Sociedade/Historia/noticia/2021/10/adolfo-lutz-historia-de-um-pioneiro-da-epidemiologia-brasileira.html>. Acesso em: 09 fev. 2025.

MARCOLIN, Neldson. **Veredicto oficial**, 2007. Disponível em: <https://revistaspesquisa.fapesp.br/veredicto-oficial/>. Acesso em: 09 fev. 2025.

PITTA, Marina Galdino da Rocha et al. Ciência de PE falando para o mundo: Oswaldo Gonçalves de Lima. **Revista Inovação e Desenvolvimento**, Recife, v. 3, n. 07, p. 44-51, abr. 2021. Disponível em: <https://revistainovacao.facepe.br/index.php/revistaFacepe/article/view/78/92>. Acesso em: 24 ago. 2025.

PORTAL DO BUTANTAN. Amigo de Vital Brazil e defensor da vacinação: conheça a história de Oswaldo Cruz, um dos pais da saúde pública brasileira, 2023. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/amigo-de-vital-brazil-e-defensor-da-vacinacao-conheca-a-historia-de-oswaldo-cruz-um-dos-pais-da-saude-publica-brasileira>. Acesso em: 09 fev. 2025.

PORTAL BUTANTAN. Imunização, uma descoberta da ciência que vem salvando vidas desde o século XVIII, 2021. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/imunizacao-uma-descoberta-da-ciencia-que-vem-salvando-vidas-desde-o-seculo-xviii>. Acesso em: 09 fev. 2025.

PORTAL DO BUTANTAN. No aniversário de Vital Brazil, conheça a história do médico sanitário e cientista que fundou o Butantan, 2021. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/no-aniversario-de-vital-brazil-conheca-a-historia-do-medico-sanitarista-e-cientista-que-fundou-o-butantan>. Acesso em: 29 jul. 2025.

PORTAL EMBRAPA. Johanna Döbereiner: a cientista que revolucionou a agricultura, [entre 2020 e 2025]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/johanna-dobereiner/quem-foi>. Acesso em: 09 fev. 2025.

PORTAL EMBRAPA. Linha do Tempo, [entre 2023 e 2025]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/johanna-dobereiner/linha-do-tempo>. Acesso em: 09 fev. 2025.

PORTAL EMBRAPA. Mariangela Hungria da Cunha, [entre 2020 e 2025]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/equipe/-/empregado/208789/mariangela-hungria-da-cunha>. Acesso em: 09 fev. 2025.

SANTIN, Wilhan. Estudando bactérias, Mariangela Hungria se tornou uma das mais influentes pesquisadoras do mundo, **Globo Rural**, 2023. Disponível em: <https://globorural.globo.com/entrevista/noticia/2023/02/>

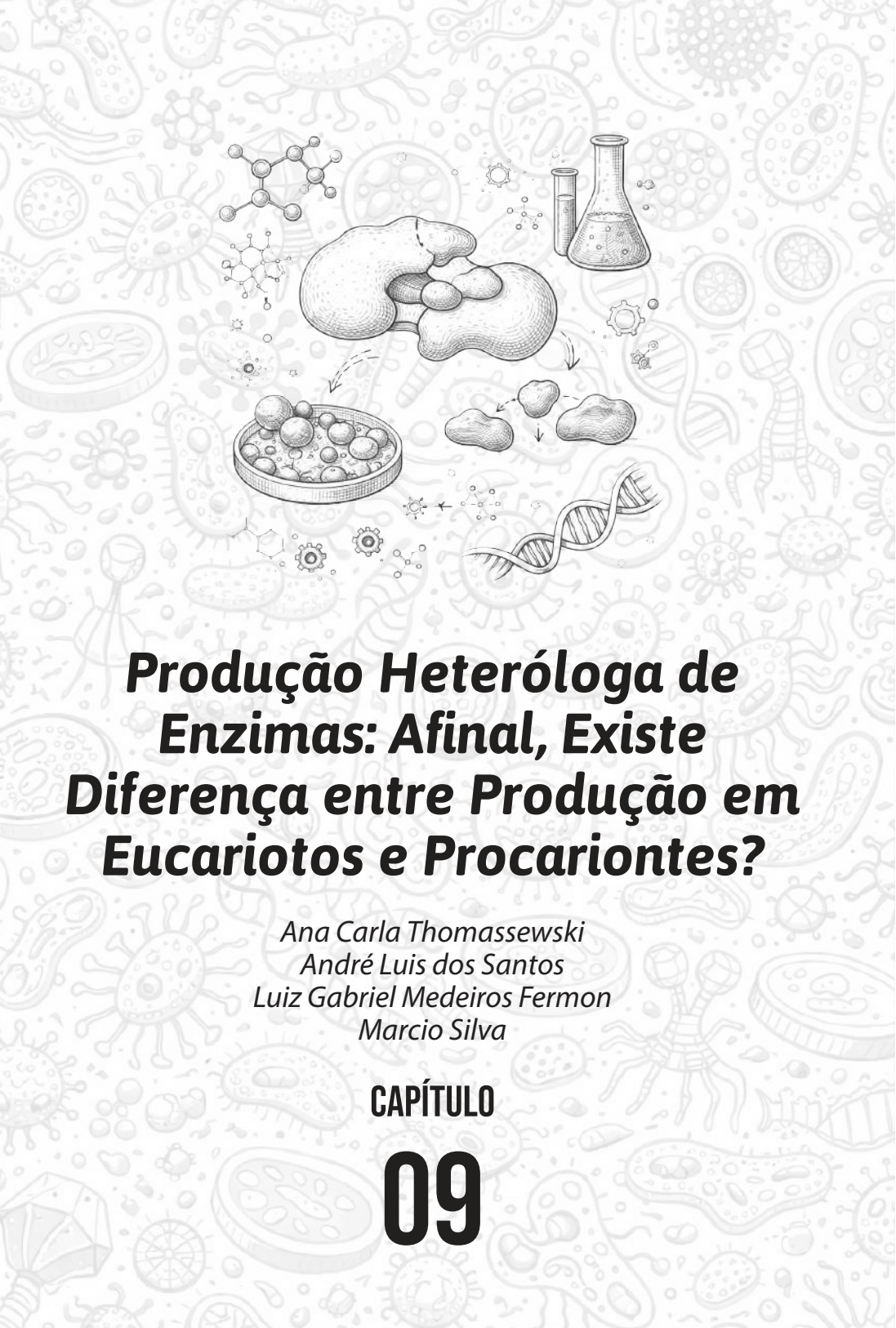
estudando-bacterias-mariangela-hungria-se-tornou-uma-das-mais-influentes-pesquisadoras-do-mundo.ghtml. Acesso em: 09 fev. 2025.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. Mariangela Hungria da Cunha, [entre 2024 e 2025]. Disponível em: <https://www.sbcs.org.br/mariangela-hungria-da-cunha>. Acesso em: 09 fev. 2025.

TEIXEIRA, Luiz Antonio. **Ciência e saúde na terra dos bandeirantes: a trajetória do Instituto Pasteur de São Paulo no período 1903–1916.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1995. p. 13-29. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/rjvkh/pdf/teixeira-9788575412862-03.pdf>. Acesso em: 09 fev. 2025.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia.** 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VEIGA, Edison. Carlos Chagas: há 90 anos morria o único cientista a descrever completamente uma doença, **BBC**, 2024. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/articles/c5yp9re49m8o>. Acesso em: 09 fev. 2025.



Produção Heteróloga de Enzimas: Afinal, Existe Diferença entre Produção em Eucariotos e Procariontes?

*Ana Carla Thomassewski
André Luis dos Santos
Luiz Gabriel Medeiros Fermon
Marcio Silva*

CAPÍTULO

09

1. INTRODUÇÃO

A tecnologia do DNA recombinante, desenvolvida em 1973 por Paul Berg, Herbert Boyer, Annie Chang e Stanley Cohen, tornou possível a modificação controlada do material genético, permitindo a introdução de genes específicos e a produção de proteínas de interesse.

A expressão heteróloga consiste na produção de proteínas em organismos diferentes de sua fonte original, utilizando sistemas hospedeiros que permitem altos níveis de síntese. Aliada à engenharia genética, possibilita ajustar estabilidade, atividade e especificidade enzimática por meio de múltiplas cópias gênicas, promotores fortes e peptídeos sinal eficientes. Quando realizada em microrganismos de cultivo simples, aumenta a produtividade, reduz o tempo de produção e processamento, assim diminuindo custos (PISCITELLI *et al.*, 2010). Um exemplo é a amilase de *Bacillus alcalophilus*, expressa em *Bacillus subtilis* (YANG *et al.*, 2011).

Os sistemas mais utilizados incluem procariotos, como *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*, e eucariotos, como leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*), fungos filamentosos, células de mamíferos, de insetos e de plantas. *Escherichia coli* mantém-se como principal modelo para expressão heteróloga devido ao rápido crescimento, baixo custo de cultivo, facilidade de manipulação genética e eficiência na incorporação de DNA exógeno (GOPAL & KUMAR, 2013; KAUR *et al.*, 2017).

A escolha do hospedeiro envolve avaliar taxa de crescimento, custo, rendimento, facilidade de purificação, dobramento correto, capacidade de modificações pós-traducionais e disponibilidade de vetores compatíveis (GROVES, 2006).

A produção de enzimas recombinantes tem papel central na biotecnologia, abrangendo aplicações na indústria, medicina e meio ambiente. Inclui desde processos industriais, como hidrólise de amido e síntese de biodiesel, até terapias enzimáticas e produção de vacinas. Estratégias como modificação racional e evolução dirigida ampliam o desempenho de enzimas, ajustando estabilidade, tolerância a variações de pH e especificidade de substrato (LI *et al.*, 2020; DE CARVALHO *et al.*, 2023).

Além da viabilidade técnica, a expressão heteróloga contribui para a substituição de catalisadores químicos por biocatalisadores, reduzindo o impacto ambiental e alinhando-se aos princípios de produção sustentável (SINGH *et al.*, 2021).

Este capítulo tem como objetivo apresentar os fundamentos, estratégias e aplicações da expressão heteróloga de proteínas, comparando sistemas de expressão procariotos e eucariotos, discutindo suas vantagens, limitações e casos de aplicação, bem como abordando novas tecnologias, desafios e perspectivas futuras no campo.

2. BASES DA EXPRESSÃO HETERÓLOGA

A tecnologia de manipulação do DNA, desenvolvida a partir da década de 1970, permitiu o isolamento e a caracterização de genes, além da recombinação de segmentos de DNA provenientes de diferentes fontes em novas moléculas híbridas. Essas técnicas são denominadas engenharia genética ou tecnologia de DNA recombinante (GROVES, 2006). Esse processo geralmente envolve o isolamento, a modificação e a reintrodução de sequências gênicas em células receptoras, que passam a sintetizar uma proteína específica. Para a obtenção de uma proteína heteróloga, inicia-se com a identificação e isolamento do gene codificante da proteína desejada, seguida pela construção de um fragmento de DNA recombinante contendo essa sequência e a sua introdução em um organismo hospedeiro adequado. A partir desse momento, a célula manipulada passa a produzir a proteína alvo em larga escala (WALSH, 2007).

2.1 CLONAGEM

A clonagem é a etapa em que moléculas idênticas de DNA são introduzidas e replicadas dentro do organismo hospedeiro (GROVES, 2006). Para clonar um fragmento de interesse, é necessário ligá-lo a uma molécula vetorial, capaz de replicar-se autonomamente na célula receptora. Assim, uma única molécula de DNA recombinante, composta pelo vetor e pelo fragmento inserido, é incorporada na célula, que replica esse material, gerando diversas cópias idênticas (ALBERTS *et al.*, 2007). As enzimas de restrição (ERs) são endonucleases bacterianas que reconhecem sequências específicas de 4 a 8 pares de base, chamadas sítios de restrição, e realizam cortes precisos no DNA. Essas enzimas são fundamentais para a obtenção de fragmentos de DNA para clonagem. Exemplos comuns de ERs incluem BamHI, EcoRI, HindIII, KpnI e PstI. A ligação dos fragmentos de DNA aos vetores é mediada pelas enzimas DNA ligases (ALBERTS *et al.*, 2007). Além disso, o DNA pode ser fragmentado por métodos físicos, como cisalhamento mecânico, ou proveniente de DNA complementar (cDNA) sintetizado a partir de RNA mensageiro, possibilitando a clonagem de sequências transcritas (GROVES, 2006).

2.2 VETORES

Os vetores são responsáveis por transportar o fragmento gênico até a célula hospedeira, permitindo sua replicação e expressão. Um vetor ideal deve ser capaz de auto-replicação na célula-alvo, possuir marcadores seletivos e locais únicos para inserção da sequência de interesse (FERRIER, 2017). Entre os vetores mais utilizados destacam-se plasmídeos, bacteriófagos λ , cosmídeos,

cromossomos artificiais bacterianos (BACs) e cromossomos artificiais de leveduras (YACs) (GROVES, 2006; WALSH, 2007). Alguns exemplos conhecidos de vetores incluem pBR322, pUC8, pEMBL8 e λ gt10 (BROWN, 2013). Os plasmídeos são moléculas circulares de DNA de fita dupla, separadas do DNA cromossômico bacteriano, que se replicam independentemente e carregam frequentemente genes de resistência a antibióticos, facilitando a seleção das células transformadas (ALBERTS et al., 2007; GROVES, 2006). Para a construção do DNA recombinante, o vetor é linearizado com a mesma enzima de restrição que corta o fragmento gênico, seguido pela ligação das extremidades compatíveis e a transferência do DNA recombinante para a célula hospedeira em um processo denominado transformação (WALSH, 2007).

Diversas técnicas são utilizadas para promover a transformação, entre elas destacam-se a eletroporação, que utiliza um pulso elétrico para aumentar a permeabilidade celular (LI; LIN, 2011); a microinjeção, o bombardeamento de partículas (biobalística) (CARNEIRO; CARNEIRO; PAIVA, 2004); e o uso de vetores biológicos, como bactérias e vírus, para a transferência gênica (FELBERBAUM, 2015; STUDART-GUIMARÃES; LACORTE; BRASILEIRO, 2003).

2.3 INSERÇÃO

A inserção do DNA recombinante nas células hospedeiras é uma etapa fundamental para o sucesso da expressão heteróloga. Esse processo, denominado transformação em bactérias ou transfecção em células eucarióticas, consiste em introduzir o material genético externo na célula de modo que ele seja incorporado e expresso.

Em sistemas procarióticos, como a bactéria *Escherichia coli*, a transformação pode ser realizada por diferentes métodos. O método clássico envolve a utilização de células competentes, preparadas para absorver DNA através de tratamentos químicos, como o uso de cloreto de cálcio, que tornam a membrana celular temporariamente permeável ao DNA plasmidial. Uma alternativa eficiente é a eletroporação, na qual as células são submetidas a pulsos elétricos de alta intensidade e curta duração, gerando poros na membrana celular que permitem a entrada do DNA (LI; LIN, 2011).

Em células eucarióticas, a inserção do DNA recombinante pode ser realizada por métodos variados, dependendo do tipo celular e da aplicação desejada. Entre as técnicas mais utilizadas destacam-se a microinjeção, que consiste na introdução direta do DNA no núcleo celular por meio de micropipetas (SAMPATH KUMAR; PUTTARAJU, 2012); o bombardeamento de partículas ou biobalística, em que micropartículas revestidas com DNA são disparadas contra as células (CARNEIRO; CARNEIRO; PAIVA, 2004); e a

transfecção mediada por vetores virais ou bacterianos, que utilizam mecanismos naturais de infecção para entregar o material genético (FELBERBAUM, 2015; STUDART-GUIMARÃES; LACORTE; BRASILEIRO, 2003).

Após a introdução do DNA, as células são cultivadas em meio seletivo que permite a sobrevivência apenas daqueles organismos que incorporaram o vetor, geralmente por meio de genes marcadores de resistência a antibióticos presentes no vetor. Dessa forma, é possível selecionar as células transformadas que passarão a produzir a proteína heteróloga desejada.

2.4 EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO

A etapa seguinte é a expressão da proteína heteróloga na célula hospedeira, seguida pela purificação do produto. Dependendo do sistema, a proteína pode ser retida no citoplasma ou secretada para o meio extracelular. As células são coletadas por centrifugação ou microfiltração e, no caso de proteínas intracelulares, é necessário promover a lise celular para liberar o produto. Os métodos de lise podem ser mecânicos (homogeneização, sonicação) ou químicos (detergentes, solventes, enzimas, agentes caotrópicos) (AHMAD *et al.*, 2014).

Quando expressas em procariotos, proteínas recombinantes podem ser direcionadas ao espaço periplasmático por meio da fusão com peptídeos sinal específicos, como OmpA, PhoE, Lpp e OmpT, que são clivados após a translocação, facilitando o correto dobramento e formação de pontes dissulfeto (CHOI; LEE, 2004; KAUR; KUMAR; KAUR, 2018). Em muitos casos, entretanto, a proteína acumula-se na forma de corpos de inclusão, agregados insolúveis que exigem procedimentos de isolamento, solubilização e renaturação para recuperação da forma ativa.

A purificação de proteínas recombinantes utiliza técnicas cromatográficas tradicionais, como troca iônica, afinidade, imunoafinidade e cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (WALSH, 2007; LABROU, 2014). O processo visa separar a proteína de interesse, preservando sua estrutura e atividade biológica, e representa grande parte dos custos na produção dessas moléculas (SARASWAT *et al.*, 2013). A separação baseia-se na diferença de afinidade das moléculas com a fase estacionária da coluna cromatográfica (FARIA; RODRIGUES, 2015). Diferentes métodos podem ser combinados para alcançar pureza e rendimento desejados (OWCZAREK; GERSZBERG; HNATUSZKO-KONKA, 2019).

Análises como SDS-PAGE, Western blot, espectrometria de massas e ensaios de atividade são essenciais para acompanhar a qualidade da proteína purificada (WALSH, 2007; VEDADI *et al.*, 2010). O produto final pode ser submetido a processos adicionais, como filtragem estéril e liofilização, dependendo da aplicação pretendida.

2.5 DESAFIOS NA EXPRESSÃO HETERÓLOGA

Apesar dos avanços, a expressão heteróloga ainda enfrenta dificuldades. Problemas comuns incluem baixa expressão, insolubilidade e inatividade da proteína recombinante (ROSANO; CECCARELLI, 2014). A baixa expressão pode decorrer da toxicidade da proteína para a célula hospedeira ou da presença de códons raros no gene de interesse (GUSTAFSSON *et al.*, 2004). Já a insolubilidade, frequentemente relacionada à formação incorreta de pontes dissulfeto e ao mau dobramento, leva à agregação em corpos de inclusão (TSUMOTO *et al.*, 2003).

Esses corpos de inclusão são agregados proteicos insolúveis que se acumulam no citoplasma, contendo em sua composição não apenas a proteína alvo, mas também proteínas associadas como IbpA e IbpB, que auxiliam na prevenção da agregação irreversível e direcionam as proteínas para dobramento ou degradação (GOPAL; KUMAR, 2019). Estratégias para minimizar a formação de corpos de inclusão incluem alteração do vetor, promotor, cepa hospedeira, condições de cultivo, co-expressão de chaperonas e modificação da sequência gênica (GOPAL; KUMAR, 2019).

Embora os corpos de inclusão sejam geralmente considerados um problema, eles podem ser úteis como fonte rica em proteína pura, representando até 80-95% da composição total, especialmente para proteínas que podem ser redobradas eficientemente *in vitro* (GOPAL; KUMAR, 2019).

Não existe um protocolo universal para garantir a expressão de proteínas solúveis; portanto, a escolha do sistema de expressão deve considerar a origem do gene e o uso final da proteína recombinante (DEMAIN; VAISHNAV, 2009).

2.6 SISTEMAS PROCARIOTOS DE EXPRESSÃO: *ESCHERICHIA COLI*

Os sistemas procarióticos, principalmente bactérias, são a plataforma mais utilizada para a produção industrial de proteínas recombinantes. *Escherichia coli* destaca-se como organismo modelo há mais de duas décadas, devido a características práticas e econômicas: crescimento rápido, capacidade de atingir altas densidades celulares em biorreatores, custo reduzido dos meios de cultura e um genoma detalhadamente caracterizado, que possibilita o uso de diversas ferramentas genéticas, como vetores de expressão e cepas modificadas, facilitando a clonagem e otimização da expressão proteica (GOPAL; KUMAR, 2013).

No entanto, a expressão heteróloga de genes, principalmente os de origem eucariótica, em *Escherichia coli* apresenta limitações. A formação de corpos de inclusão, agregados insolúveis e inativos da proteína recombinante,

é um dos principais problemas. Isso ocorre devido à sobrecarga da maquinaria celular responsável pelo dobramento correto da proteína e ao ambiente redutor do citoplasma bacteriano, que dificulta a formação de pontes dissulfeto essenciais para a estrutura funcional de muitas enzimas. Outro desafio é a diferença na frequência de códons entre espécies: genes eucarióticos podem conter códons raros em *E. coli*, o que reduz a eficiência da tradução e a expressão proteica. Além disso, a ausência de modificações pós-traducionais complexas, como a glicosilação, limita a funcionalidade e estabilidade de várias proteínas eucarióticas produzidas em sistemas procarióticos (ROSANO; CECCARELLI, 2014; GUSTAFSSON *et al.*, 2004).

Para minimizar os problemas relacionados à expressão heteróloga em *Escherichia coli*, têm sido exploradas estratégias como a otimização de códons, que adapta a sequência gênica à preferência de uso de códons da bactéria e melhora a eficiência da tradução (GUSTAFSSON; GOVINDARAJAN; MINSHULL, 2004). Outra abordagem amplamente utilizada é a coexpressão de chaperonas bacterianas, como GroEL/GroES e DnaK/DnaJ, que auxiliam no dobramento correto das proteínas recombinantes e reduzem a formação de agregados insolúveis, aumentando a solubilidade e a atividade funcional (WU *et al.*, 2009). Adicionalmente, sistemas que direcionam a proteína ao periplasma ou o uso de cepas geneticamente modificadas favorecem a formação de pontes dissulfeto, essenciais para a estabilidade estrutural de muitas proteínas. Nesses casos, a co expressão de componentes do sistema Dsb, como DsbA e DsbC, tem se mostrado eficaz na formação e isomerização de ligações dissulfeto, resultando em maior proporção de proteína ativa (DE MARCO, 2009; CHOI *et al.*, 2016; JUNGENSEN *et al.*, 2019).

Apesar dessas limitações, a engenharia genética e a otimização dos processos permitiram que *E. coli* continuasse como um sistema eficiente para produzir diversas enzimas. Na indústria, lipases recombinantes são produzidas em larga escala para uso em detergentes, síntese farmacêutica e produção de biodiesel (KUMAR *et al.*, 2016). Na área de saúde e alimentos, a produção de β -galactosidase (lactase) é um exemplo clássico, possibilitando produtos para pessoas com intolerância à lactose e para a síntese de prebióticos (VERA *et al.*, 2012). Além disso, *E. coli* é utilizada para produzir enzimas de organismos extremófilos, que possuem alta estabilidade térmica e química, formando biocatalisadores adequados para processos industriais em condições severas (DE LA ROSA *et al.*, 2023). O uso contínuo de *E. coli* mostra que, com estratégias adequadas, os benefícios econômicos e produtivos compensam as limitações biológicas do sistema.

3. SISTEMAS EUCARIOTOS DE EXPRESSÃO

3.1 *Pichia pastoris*

A levedura metilotrófica *Pichia pastoris*, também conhecida como *Komagataella phaffii*, consolidou-se como um dos principais sistemas de expressão celular para a produção de proteínas recombinantes em larga escala. Desde a sua introdução como ferramenta biotecnológica na década de 1980, a *P. pastoris* vem sendo amplamente explorada devido a capacidade de atingir altas densidades celulares em biorreatores, resultando em altos rendimentos volumétricos de proteína e por seus promotores fortes e induzíveis. Dessa forma, sua robustez permite vantagens significativas quando comparada a outros sistemas de expressão (PAN, 2022). Além disso, a capacidade de *Pichia* de realizar modificações pós-traducionais, como a glicosilação, é crucial para a funcionalidade e estabilidade de muitas proteínas, embora o tipo de glicosilação possa ser manipulado geneticamente para se assemelhar ao de mamíferos, superando uma limitação comum, conforme discutido por Mastropietro, Aw e Polizzi (2021, p. 53).

Uma das maiores vantagens da produção em *P. pastoris* é a secreção da proteína recombinante para o meio de cultura. Esse processo reduz os custos e simplifica significativamente as etapas de purificação, pois elimina a necessidade da lise celular e diminui os riscos de degradação da proteína por proteases intracelulares (AHMAD *et al.*, 2014). Apesar dessa sua eficiência, o dobramento incorreto de proteínas no retículo endoplasmático pode ser um gargalo. Pois, conforme descrito por AHMAD *et al.*, (2014), a produção de proteínas em alta quantidade pode gerar estresse celular e um acúmulo de proteínas mal dobradas no RE. Dessa forma, a levedura responde a isso ativando a via de Resposta a Proteína Desdobrada (UPR). A UPR regula diretamente a expressão de chaperonas como resposta ao acúmulo de proteínas mal dobradas no retículo endoplasmático (RE), atuando como um mecanismo natural de “restauração” do RE. (ZHANG *et al.*, 2006).

3.2 *Saccharomyces cerevisiae*

A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, também conhecida como levedura de pão, é um microrganismo robusto e seguro para a expressão de proteínas heterólogas. Tudo isso se dá devido a *S. cerevisiae* possuir o estatuto GRAS (*Generally Recognized as Safe*), extenso histórico genético conhecido, facilidade de manipulação genética e uma boa tolerância a ambientes industriais (SO *et al.*, 2023). Um dos maiores diferenciais da *S. cerevisiae* é sua capacidade de realizar modificações pós-traducionais (PTMs) complexas, como acilação, formação de pontes dissulfeto, hidrólise de peptídeos sinalizadores e, especialmente, glicosilação. Essas modificações são fundamentais para a

atividade, estabilidade e estrutura tridimensional de muitas proteínas e permite que a levedura atue como uma alternativa interessante aos sistemas de expressão de células de mamíferos. Além disso, a possibilidade de secreção das proteínas diretamente para o meio extracelular, assim como *Pichia pastoris*, simplifica significativamente a recuperação e purificação dos produtos, otimizando o processo industrial e reduzindo custos (ZHAO *et al.*, 2024).

No entanto, a maioria dos sistemas ainda depende da construção prévia de vetores em *E. coli*, o que dificulta a aplicação em larga escala, especialmente quando se trata de expressar grandes quantidades de genes codificadores de proteínas. Dessa forma, algumas estratégias já estão sendo desenvolvidas para contornar essa limitação. Em *S. cerevisiae*, por exemplo, há o aproveitamento de sua alta taxa de recombinação homóloga, o que permite a inserção direta do gene de interesse (GOI) no genoma ou em plasmídeos replicativos por meio de amplificação via PCR (GONZÁLEZ *et al.*, 2019, p. 1140). Uma estratégia semelhante também foi desenvolvida para *P. pastoris*, contudo a utilização de vetores integrativos tende a produzir maiores quantidades de proteína.

3.3 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger é um fungo filamentosos e também um dos principais meios industriais para produção de proteínas recombinantes. Tudo isso também devido a esse microrganismo possuir alta eficiência de secreção de proteínas, segurança e baixos custos de produção. Além disso, o *A. niger* apresenta o status de segurança GRAS (*Generally Recognized as Safe*) (GOU *et al.*, 2025, p. 160). O *A. niger* tem sido amplamente empregado na indústria para produzir enzimas, como amilases e xilanases, e também proteínas heterólogas, como a lisozima, quimosina e lactoferrina humana (SHENG; QIU; DENG; ZENG, 2025, p. 534). O *A. niger* também é conhecido por sua impressionante resistência a condições ambientais extremas e pela estabilidade que mantém durante a fermentação. Ele possui um genoma rico em genes que produzem diversas enzimas, o que o torna um excelente candidato para gerar biocatalisadores. Com os avanços da biologia sintética, essa espécie tem ganhado notoriedade como um chassi versátil para produzir proteínas de outros organismos e criar compostos naturais valiosos, como terpenoides e policetídeos (GOU *et al.*, 2025).

Apesar de suas vantagens como microrganismo produtor, o *Aspergillus niger* apresenta alguns desafios significativos, que podem limitar seu uso como plataforma de expressão de proteínas heterólogas. Um dos principais desafios é a presença de proteínas nativas de alta secreção, como a alfa-amilase e a alfa-glicosidase, que competem com a proteína expressa de interesse e reduzem a pureza do produto final, aumentando os custos de purificação (ZHANG *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2023; LI *et al.*, 2019). Para contornar essa limitação, algumas

pesquisas têm focado no controle da expressão dessas proteínas no nível transcricional, identificando fatores regulatórios como o AmyR, um ativador transcricional que reconhece sequências específicas nos promotores de genes amilolíticos como alvos para modulação genética (ZHANG *et al.*, 2016, p. 68). Além disso, como o *A. niger* é um organismo aeróbico, ele está sujeito ao estresse oxidativo, decorrente da formação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) durante a respiração celular. Esse desafio se intensifica em linhagens que produzem grandes quantidades de proteína, pois o dobramento proteico no retículo endoplasmático (RE) também gera EROs. De acordo com CHEN *et al.* (2024, p. 91) quando o RE é sobrecarregado, ocorre o chamado estresse do RE, que agrava o estresse oxidativo e pode danificar componentes essenciais da célula, como DNA, proteínas e lipídios. Dessa forma, necessita-se estratégias para redução da carga de dobramento proteico e controle dos níveis de EROs.

3.4 *Trichoderma reesei*

O fungo filamentosso *Trichoderma reesei* é um dos principais microrganismos de uso industrial, é conhecido por sua capacidade de sintetizar e secretar enormes quantidades de proteínas. Apresenta status de segurança (GRAS) e facilidade de fermentação em larga escala, o que o torna uma plataforma poderosa, especialmente para a produção de enzimas destinadas às indústrias de bioetanol, papel, celulose e têxteis (JORGENSEN *et al.*, 2014). Apesar de ser um microrganismo promissor para a produção de enzimas nativas, sua eficácia na produção de proteínas heterólogas (provenientes de outras espécies) é limitada. Dentre os desafios industriais que ele apresenta, alguns dos principais são a baixa produtividade, a contaminação do produto final por grandes quantidades de proteínas nativas secretadas, e as dificuldades de purificação (CHAI *et al.*, 2021). De acordo com ARAI *et al.* (2023), a expressão de genes em *T. reesei* é impulsionada pelo forte promotor *cbh1*, que é ativado pela celulose. No entanto, essa estratégia induz a expressão de genes nativos de celulase e proteases, que competem com a proteína de interesse e contaminam o produto.

Contudo, há estudos explorando novas abordagens de engenharia genética. Uma delas é a integração de múltiplas cópias do gene de interesse, é uma estratégia comum em leveduras, mas ainda inicial em fungos filamentosos (MATHIS *et al.*, 2024). Outra inovação é o desenvolvimento de promotores constitutivos, que permitem a produção de proteínas sem a necessidade de indutores, evitando a expressão indesejada de outras enzimas e proteases, resultando em um produto mais puro (LI *et al.*, 2012). Dessa forma, a busca por soluções para aumentar a eficiência na produção de proteínas heterólogas em *T. reesei* é contínua e essencial para expandir sua aplicação nas diversas áreas da biotecnologia.

4. CÉLULAS DE INSETO E MAMÍFEROS

Os sistemas de expressão em células de mamíferos e insetos são essenciais para a produção de proteínas recombinantes, especialmente as de membrana, que desempenham papéis críticos em processos fisiológicos e patológicos (KAIPA *et al.*, 2023). A escolha do sistema mais adequado depende da natureza da proteína, das modificações pós-traducionais necessárias e da quantidade de proteína requerida (BELJELARSKAYA, 2011).

4.1 CÉLULAS DE MAMÍFEROS

Linhagens como CHO (ovário de hamster chinês) e HEK293 (rim embrionário humano) são amplamente empregadas para produzir proteínas de membrana, principalmente porque oferecem uma maquinaria celular capaz de dobrar corretamente as proteínas e realizar modificações pós-traducionais complexas, como a glicosilação, muito semelhantes ao ambiente nativo (KAIPA *et al.*, 2023). Ademais, essas células fornecem um ambiente lipídico quase natural, sendo crucial para a formação funcional de proteínas de membrana.

Entretanto, a superexpressão pode gerar glicosilação incompleta ou heterogênea, um problema que ainda vem sendo resolvido, aos poucos, com linhagens modificadas, como a Expi293 GntI-. Ainda assim, para alguns estudos de estrutura e função, a glicosilação nativa completa é indispensável (KAIPA *et al.*, 2023). Outros obstáculos envolvem o alto custo e os rendimentos baixos, o que limita a aplicação em larga escala para descoberta de fármacos e análises estruturais (MCKENZIE & ABBOTT, 2018). A introdução do gene pode ser feita por métodos como a transdução com lentivírus ou a infecção por BacMam, ambos são bastante eficientes, mas exigem processos mais trabalhosos (KAIPA *et al.*, 2023; MCKENZIE & ABBOTT, 2018).

4.2 CÉLULAS DE INSETO

O sistema baculovírus de expressão (BEVS), com células como Sf9/Sf21 e High Five, é uma alternativa bem estudada e eficiente para produção de proteínas recombinantes (KAIPA *et al.*, 2023; MCKENZIE & ABBOTT, 2018). Estudos recentes possibilitam a expressão simultânea de múltiplos genes em uma única célula, permitindo a formação de complexos proteicos funcionalmente similares aos naturais (BELJELARSKAYA, 2011). Os baculovírus utilizam promotores virais fortes, como os das proteínas poliedrina e P10, garantindo altos níveis de expressão (KAIPA *et al.*, 2023; MCKENZIE & ABBOTT, 2018). Dessa maneira, o BEVS é conhecido como um “cavalo de batalha” biotecnológico, por possuir características como rapidez, eficiência e custo relativamente baixos.

No entanto, de acordo com Kaipa *et al.*, (2023) este sistema apresenta

limitações: para proteínas integrais de membrana, a produção pode ser reduzida por conta da desregulação da maquinaria secretora durante a infecção viral. Além de que, a glicosilação em células de inseto é menos elaborada que em mamíferos, consistindo principalmente em manose simples (MCKENZIE & ABBOTT, 2018; GEISSE *et al.*, 1996). Para superar essa problemática, linhagens geneticamente modificadas, como SfSWT-5, foram desenvolvidas para produzir proteínas com glicosilação mais complexa, incluindo sialilação completa (MCKENZIE & ABBOTT, 2018). Ademais, para acelerar a expressão e evitar o tempo consumido na geração de baculovírus, também foram criados sistemas de expressão gênica transitória (TGE) sem vírus em células de inseto. Esses sistemas utilizam vetores plasmidiais com promotores fortes, como o pOpIE2, permitindo uma produção interessante de proteínas tanto intracelulares quanto secretadas (KAIPA *et al.*, 2023).

Quadro 1 - Comparativo entre Sistemas de Expressão Celular

Propriedades	<i>Escherichia coli</i>	Leveduras	Células de inseto	Células de mamífero
Tempo de expressão	2 a 3 dias	4 a 6 dias	Mínimo de 2 semanas	Alguns dias a 2 semanas
Tempo de preparo	1 dia	3 a 5 dias	2 a 4 semanas	Vários dias a semanas
Facilidade de manipulação	Muito fácil	Fácil	Difícil	Difícil
Rendimento relativo	Alto	Alto	Médio	Baixo
Custo médio (£/L)	<10	<10	8 a 95	5 a 105
Quantidade de resíduos	40 – 750 Até 1850	250 – 900 Até 1500	350 a 600 Até 2300	300 – 1900 Até 2900
PTMs eucariótico	Nenhum	Simples	Melhor	Melhor
Dobramento de proteínas	Redobramento geralmente necessário	Pode ser necessário redobrar	Dobramento adequado	Dobramento adequado
Custo de armazenamento	Baixo (Glicerol; - 80 °C)	Baixo (Glicerol; - 80 °C)	Alto (Nitrogênio líquido)	Alto (Nitrogênio líquido)
Sustentabilidade ecológica (uso de utensílios plásticos, consumíveis)	Bom	Bom	Médio	Ruim

Vantagens	Baixo custo, crescimento rápido	Baixo custo, PTMs eucarióticas	A maioria das PTMs eucarióticas, manutenção mais simples do que células de mamíferos	Todas as PTMs, ambiente celular nativo de mamíferos
Desvantagens	Ausência de PTMs eucarióticas	Hiperglicosilação	Alto custo, crescimento lento, glicosilação limitada	Alto custo, crescimento lento
Exemplos de aplicações	Produção de Insulina Humana e Pequenos Fragmentos de Anticorpos	Produção de Insulina Humana e Outros Biofármacos	Vacinas e Glicoproteínas Virais	Biofármacos e Proteínas Terapêuticas

Fonte: Adaptado de Kesidis *et al.* (2020).

5. PRINCIPAIS ENZIMAS PRODUZIDAS POR EXPRESSÃO HETERÓLOGA

Enzimas de origem microbiana dominam o mercado industrial por combinarem alta disponibilidade, baixo custo de cultivo, crescimento rápido e grande maleabilidade genética. Para aplicações em bioindústrias, as enzimas de fonte microbianas são preferidas em relação às de fontes vegetais e animais, pois os microrganismos estão prontamente disponíveis e fáceis de cultivar em meios de crescimento de baixo custo. A tecnologia de DNA recombinante permite adaptar cepas para produzir biocatalisadores com desempenho otimizado em condições de processo, o que explica sua ampla aplicação em alimentos e bebidas, ração, biorrefinarias, remediação, fármacos e outras cadeias produtivas (GURUNG *et al.*, 2013). As enzimas têm amplo uso industrial devido à sua aplicabilidade em setores como alimentos, bebidas, agricultura, pesquisa científica, indústria farmacêutica, tratamento de resíduos e biorrefinarias. Nesse contexto, o emprego de microrganismos como produtores de enzimas representa uma alternativa eficiente, permitindo a produção em larga escala de biocatalisadores como amilases e lipases. Além disso, microrganismos podem ser facilmente manipulados geneticamente para otimizar a síntese das enzimas desejadas, aumentando o rendimento e a especificidade da produção (OKPARA, 2022).

A amilase é uma enzima significativa para o processo de conversão industrial de amido, oligossacarídeos e polissacarídeos relacionados. As enzimas amilolíticas são classificadas como hidrolases glicosídicas e é possível produzir enzima amilase

por uma grande gama de microrganismos e substratos (SIVARAMAKRISHNAN *et al.*, 2000; NIGAN, 2013). As amplas aplicações de amilases na indústria alimentícia incluem panificação, fabricação de cerveja, liquefação de amido, bem como uma ajuda digestiva e também como agente de glâcê para a produção de bolos de arroz e alimentos em pó. Também é uma enzima muito utilizada na fabricação de dextrinas ramificadas de alta massa molecular. Para a utilização da enzima em muitas indústrias é preciso realizar a conversão enzimática do amido, que envolve três etapas: gelatinização, liquefação e sacarificação. A gelatinização envolve a formação de uma suspensão viscosa pela dissolução de grânulos de amido assim é acompanhado do processo de liquefação, que reduz a viscosidade e envolve hidrólise parcial, já a glicose e a maltose são formadas por sacarificação, para isso é necessárias enzimas altamente termoestáveis e a maior parte da sacarificação do amido é realizada com amilases de *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pasteurianus* (RAVEENDRAN *et al.*, 2018). Algumas bactérias do gênero *Bacillus spp.* tal como *Bacillus amyloliquefaciens*, *Geobacillus thermoleovorans* e *Bacillus licheniformis* são bastante utilizadas na produção de amilase industrial e por serem altamente termoestável e com um tempo de duplicação menor, implica em uma produção muito maior de amilase (SUDÃO *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2018).

5.1 LIPASE

A lipase é a enzima que consegue degradar lipídios derivados de uma variedade de microrganismos, plantas e animais, e realizam a hidrólise de acilgliceróis de cadeia longa em glicerol e ácidos graxos. As lipases são enzimas que apresentam particularidades de substrato muito mais amplas do que as esterases, porém ambas possuem regioquímica e enantiosseletividade, são estáveis em solventes orgânicos, ou seja, os dois tipos de enzimas são bastantes utilizados em processos industriais realizados em solventes orgânicos. A lipase é muito importante para a produção de compostos regiões específicas que são utilizados na indústria farmacêutica, além disso tem muitas aplicações potenciais na indústria química, na fabricação de detergentes, cosméticos e fabricação de papel (Sharma; Sharma; Shukla, 2011; Joseph *et al.*, 2006). De acordo com autores a produção de lipase por microrganismos se dá a partir de diferentes rizobactérias e fungos, como: *Bacillus subtilis* (LP2), *Pseudomonas aeruginosa* (JCM5962(T)), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus caprae* (NCUS6), *Serratia marcescens*, *Burkholderia glumae*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas mendocina*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus simulans* (PMRS35), *Rhodothermus marinus* (SARKAR *et al.*, 2012; SACHAN; SINGH, 2017; MEMARPOOR-YAZDI *et al.*, 2017; MOHANASRINIVASAN *et al.*, 2018; RIOS *et al.*, 2018; KANJAN; SAKPETCH, 2020; YASAR *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2021; ZHAO *et al.*, 2021).

5.2 PROTEASE

As proteases fazem parte do grupo de enzimas que hidrolisam ligações peptídicas em meio aquoso e as sintetizam em meio não aquoso, é uma enzima que é classificada em dois grupos: 1- Exopeptidases (proteases que clivam aminoácidos das extremidades da proteína) e 2- Endopeptidases (proteases que clivam ligações peptídicas dentro da proteína) (BEENA; GEEVARGHESE, 2010). A enzima protease pode ser produzida a partir de plantas, animais e alguns microrganismos, sendo os fungos e as bactérias considerados as melhores fontes para a produção da enzima que vai ser utilizada na indústria alimentícia, na produção de detergentes e até ração para animais (OKPARA, 2022). Na indústria de alimentos e rações, é uma enzima usada para degradar proteínas complexas, é bastante utilizada na fabricação de queijos, na indústria de fabricação de detergentes onde as proteases são usadas como aditivos em detergentes para roupas domésticas para tirar manchas proteicas. Além disso, as proteases têm sido empregadas para a produção de dipeptídeo e dentro da indústria farmacêutica, para diferentes tipos de medicamentos, logo é uma enzima versátil na sua utilidade e por isso atualmente é importante no mercado global de enzimas (GOGLIETTINO *et al.*, 2014). Alguns dos fungos mais conhecidos na produção de protease são: *Aspergillus usarii* e *Aspergillus flavus* (DENG *et al.*, 2016; OKPARA; BAMIDELE; AJELE, 2019). Já as proteases bacterianas podem ser produzidas por tais bactérias como a *Bacillus subtilis* (SMDFS) e *Chryseobacterium sp.* (MAGESWARI *et al.*, 2017; MAMO *et al.*, 2020).

5.3 PECTINASE

As pectinases são enzimas consideradas onipresentes, mas a produção de pectinases para aplicações industriais é alcançada principalmente através do uso de microrganismos. As pectinases é um grupo de enzimas que catalisam diferentes reações em substâncias pecticas encontradas nas paredes celulares das plantas, essas reações incluem a hidrólise de α -1,4-ligações glicosídicas catalisadas por poligalacturonase, clivagem transeliminativa de α éster metílico de -1,4-D-galacturonan catalisado por pectoliase, desacetilação e desmetoxilação de pectina por pectina esterase (NIGAN, 2013). As pectinases são produzidas principalmente por fungos, incluindo *Penicillium spp.*, *Moniliella SB9*, *Streptomyces spp.*, *Aspergillus spp.*, *Gm*, *Fusarium spp.*, *C.*, *Aspergillus fumigatus* (OKONJI *et al.*, 2019; SUDEEP *et al.*, 2020; SUHAIMI *et al.*, 2021). Entre bactérias a espécie *Bacillus subtilis* (ABDR01) é conhecida por conseguir produzir altos rendimentos da enzima (YADAV *et al.*, 2020c).

5.4 XILANASE

A xilanase é uma enzima utilizada principalmente na degradação do xilano que é o principal componente da hemicelulose, é uma molécula heterogênea com

uma cadeia principal composta por resíduos de xilose ligados por ligações β -1,4-glicosídicas. A madeira é a matéria-prima para a produção de papel, sendo composta por celulose (40–45), hemicelulose (20–30%) e lignina (15–25%), na produção de papel a xilanase é usada como enzima termoestável de degradação de xilano, já que nas etapas da produção de papel são realizadas em temperaturas elevadas, esse tipo de enzima é importante nesse processo (WANG *et al.*, 2016). A importância da xilanase aumentou pela sua aplicação biotecnológica para produção de pentoses, clarificação de sucos de frutas, melhoria da digestão ruminal e bioconversão de resíduos agrícolas lignocelulósicos em combustíveis e produtos químicos. Para além disso também é uma enzima muito usada nas indústrias de alimentos, têxtil, aproveitamento de resíduos agroindustriais, produção de etanol e a produção de ração animal (PANDEY; SOCCOL; NIGAM, 2000). As xilanases são fabricadas em escala industrial por bactérias e fungos, alguns exemplos de bactérias produtoras de xilanase: *Pediococcus acidilactici* CG25 e *Bacillus pumilus*. Já os fungos produtores de xilanase são geralmente *Aspergillus japonicus* e *Penicillium occitanis* Pol6 (DRISS *et al.*, 2012; CHAKDAR *et al.*, 2016; GHOSH *et al.*, 2019; ADIGUZEL *et al.*, 2019).

5.5 CATALASE

A catalase é uma enzima que catalisa a redução do peróxido de hidrogênio a água e oxigênio. É possível encontrar a catalase em todos os organismos vivos aeróbicos sujeitos ao oxigênio, logo a enzima pode ser produzida por plantas, animais e microrganismos. A catalase é usada em empresas de vinificação no processo de ajuda para prolongar ainda mais a vida útil do vinho e reduzindo o álcool nos vinhos, já que a catalase consegue remover o oxigênio do vinho. Também é usada na indústria de laticínios, e na embalagem de alimentos para evitar oxidação de itens alimentícios, aumentando assim o tempo de vida útil de diversos alimentos (ANBU *et al.*, 2017; ABADA, 2019). Alguns autores citam algumas fontes microbianas produtoras de catalase: *Enterococcus faecalis* (Quadro 1), *Micrococcus luteus*, *Bacillus maroccanus*, *Pyrobaculum calidifontis*, *Rhizobium radiobacter* 2-1 (*Agrobacterium tumefaciens*), *Ureibacillus thermosphaericus* FZSF03 (FRANKENBERG *et al.*, 2002; GOMAA, 2006; NAKAYAMA *et al.*, 2008; JIA *et al.*, 2017).

5.6 LACTASE

Lactase, também conhecida como β -galactosidase, é uma enzima que catalisa a clivagem hidrolítica do dissacarídeo lactose do leite em açúcares monoméricos mais simples, como galactose e glicose. A lactase pode ser obtida a partir de uma vasta gama de biosistemas como microrganismos, plantas e animais. É uma enzima com grande importância em vários setores industriais, como na área alimentícia e farmacêutica. Na indústria de laticínios, a lactase geralmente é adicionada a produtos para que possa refinar sua digestibilidade da lactose, principalmente para pessoas

que tem intolerância a lactose, é usada no processo de impedir a cristalização da lactose e assim fazendo-o que o produto lácteo seja mais solúvel, também é usada para hidrolisar a lactose em sorvetes deixando-o mais cremoso (SOARES *et al.*, 2012; QURESHI; KHARE; PERVEZ, 2015). A enzima β -galactosidase que é produzida por microrganismos (fungos, bactérias e leveduras) é geralmente a mais utilizada pois apresenta um maior rendimento e possui o custo relativamente baixo da enzima (OKPARA, 2022). Contudo a escolha da fonte de produção da enzima depende de onde será a aplicação final da β -galactosidase, a enzima produzida por leveduras com pH de 6,5-7,0 é adequada e geralmente usada para a hidrólise da lactose no leite de soro de leite, já para a hidrólise ácida de soro de leite, o mais adequado é utilização de β -galactosidase produzida por fungos com pH de 3,0-5,0. Algumas fontes bacterianas na produção de lactase são: *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* (HAMED; KHEDR; ABDELRAOF, 2020; HUANG *et al.*, 2020).

6. DESAFIOS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A expressão de proteínas complexas envolve não apenas o tamanho das moléculas, mas também modificações pós-traducionais, correto dobramento e formação de pontes dissulfeto. Para superar essas limitações, a biologia sintética tem desempenhado papel central, aplicando ferramentas como engenharia metabólica, mutagênese e clonagem de alto rendimento para gerar enzimas termoestáveis e com maior eficiência catalítica (SHUKLA, 2019; ŠIURKUS *et al.*, 2010).

A escolha e customização de sistemas hospedeiros é outro ponto decisivo. A otimização de vetores e linhagens, aliada a elementos regulatórios como a sequência de Kozak, permite maior eficiência na expressão heteróloga (ZHANG *et al.*, 2024; RASCHMANOVÁ *et al.*, 2018). Enquanto bactérias oferecem rapidez e baixo custo, leveduras e células de mamíferos são preferidas para proteínas que exigem modificações pós-traducionais complexas (KASTBERG *et al.*, 2022; ROSANO; CECCARELLI, 2014). Tecnologias como a EnBase e a engenharia de células CHO exemplificam estratégias de personalização (ŠIURKUS *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2024).

Entre os principais desafios técnicos e econômicos estão a purificação de múltiplas proteínas, a formação de corpos de inclusão e o viés de códons, que podem comprometer a síntese adequada (SHIM *et al.*, 2021; KASTBERG *et al.*, 2022). Esses fatores elevam os custos de produção, principalmente em células de mamíferos, devido a meios de cultivo complexos e à purificação rigorosa (ZHANG *et al.*, 2024; ROSANO; CECCARELLI, 2014). Além disso, o uso de antibióticos como marcadores de seleção levanta preocupações sobre resistência bacteriana (RASCHMANOVÁ *et al.*, 2018; KASTBERG *et al.*, 2022).

Do ponto de vista regulatório, a aprovação de biofármacos é lenta e

rigorosa, sendo dificultada pela presença de genes de resistência (KASTBERG *et al.*, 2022). Por outro lado, organismos com status GRAS, como leveduras, favorecem a autorização de uso (ROSANO; CECCARELLI, 2014). Tecnologias de alto rendimento, biorreatores descartáveis, bioprocessamento contínuo e a expressão gênica transitória (TGE) surgem como alternativas para reduzir custos e acelerar a produção (ŠIURKUS *et al.*, 2010; HACKER; DE JESUS; WURM, 2009; TRIPATHI; SHRIVASTAVA, 2019).

A sustentabilidade também é foco de atenção. Estratégias como engenharia metabólica, uso de *Komagataella phaffii* e desenvolvimento de enzimas mais estáveis contribuem para maior eficiência e menor impacto ambiental (ROSANO; CECCARELLI, 2014; TRIPATHI; SHRIVASTAVA, 2019; NDOCHINDWA *et al.*, 2024). Em biossegurança, destaca-se o risco de disseminação de resistência por vetores com genes de antibióticos, sendo a produção em plantas transgênicas considerada alternativa mais segura em relação a animais (KASTBERG *et al.*, 2022; RASCHMANOVÁ *et al.*, 2018; TRIPATHI; SHRIVASTAVA, 2019).

As perspectivas futuras envolvem a integração de ferramentas como CRISPR-Cas, evolução dirigida e design racional, possibilitando o desenvolvimento de enzimas com maior estabilidade e desempenho (ZHANG *et al.*, 2024; RASCHMANOVÁ *et al.*, 2018; NDOCHINDWA *et al.*, 2024). Tecnologias como nanotecnologia, simulações computacionais e inteligência artificial devem ampliar a capacidade de previsão estrutural e otimização metabólica (SHUKLA, 2019; TRIPATHI; SHRIVASTAVA, 2019). A exploração de novos hospedeiros e a criação de redes proteicas inteligentes seguem como caminhos promissores para aplicações biomédicas e industriais (SHIM *et al.*, 2021; NDOCHINDWA *et al.*, 2024).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A expressão heteróloga de proteínas constitui um pilar da biotecnologia moderna, permitindo a produção controlada de biocatalisadores, biofármacos e outros produtos de alto valor agregado em diferentes sistemas celulares. A escolha entre hospedeiros procariotos e eucariotos deve considerar múltiplos parâmetros, incluindo rendimento esperado, necessidade de modificações pós-traducionais, custo de produção, tempo de obtenção e complexidade do processo de purificação.

De forma geral, sistemas procariotos, como *Escherichia coli*, oferecem crescimento rápido, custos reduzidos e elevada produtividade, sendo ideais para proteínas simples e estáveis que não dependem de modificações pós-traducionais complexas. Entretanto, apresentam limitações como a ausência de glicosilação e a propensão à formação de corpos de inclusão. Já os sistemas eucariotos — leveduras, fungos filamentosos, células de insetos e de mamíferos — viabilizam o dobramento adequado e a glicosilação, além de

possibilitarem secreção eficiente, mas comumente demandam maior tempo de cultivo, condições mais complexas e custos mais elevados.

A compreensão das características de cada sistema de expressão, associada a ferramentas de engenharia genética e biologia sintética, possibilita desenvolver estratégias mais eficientes para atender a demandas específicas da indústria, da saúde e do meio ambiente. Ao mesmo tempo, inovações tecnológicas, como otimização de códons, coexpressão de chaperonas, vetores aprimorados e customização de linhagens hospedeiras, ampliam o leque de possibilidades e ajudam a superar barreiras técnicas históricas.

Portanto, a produção heteróloga de proteínas não apenas representa uma solução viável para obtenção de moléculas de interesse em larga escala, como também desempenha papel estratégico no avanço de áreas emergentes, como bioeconomia, terapias personalizadas e processos industriais sustentáveis. A integração entre ciência básica e inovação aplicada seguirá sendo determinante para explorar plenamente o potencial desses sistemas e consolidar a expressão heteróloga como uma ferramenta indispensável da biotecnologia contemporânea.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M. et al. Protein expression in *Pichia pastoris*: recent achievements and perspectives for heterologous protein production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, p. 5301–5317, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5732-5>. Acesso em: 10 ago. 2025.
- ARAI, T. et al. Inducer-free recombinant protein production in *Trichoderma reesei*: secretory production of endogenous enzymes and heterologous nanobodies using glucose as the sole carbon source. **Microbial Cell Factories**, v. 22, p. 103, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02109-y>. Acesso em: 10 ago. 2025.
- BELJELARSKAYA, S. N. Baculovirus expression systems for production of recombinant proteins in insect and mammalian cells. **Molecular Biology**, v. 45, n. 1, p. 123–138, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S002689331101002X>. Acesso em: 7 ago. 2025.
- CHAI, S. et al. Building a versatile protein production platform using engineered *Trichoderma reesei*. **ACS Synthetic Biology**, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acssynbio.1c00570>. Acesso em: 11 ago. 2025.
- CHEN, X. et al. Enhancement of protein production in *Aspergillus niger* by engineering the antioxidant defense metabolism. **Biotechnology for**

Biofuels, v. 17, p. 91, 2024. DOI: 10.1186/s13068-024-02542-0.

CHOI, B. et al. Use of combinatorial genetic libraries to humanize N-linked glycosylation in the yeast *Pichia pastoris*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 9, p. 5022–5027, 2003. DOI: 10.1073/pnas.0931263100.

CHOI, H. J. et al. Enhancing the production of disulfide-bonded proteins in *Escherichia coli* by co-expression with sulfhydryl oxidase and protein disulfide isomerase. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 9361–9370, 2016.

ÇELIK, E.; ÇALIK, P. Production of recombinant proteins by yeast cells. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 5, p. 1108–1118, 2012. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.09.011.

DE LA ROSA, A. *et al.* Advances in the discovery and engineering of extremophilic enzymes for industrial applications. **Biotechnology Advances**, v. 65, p. 108151, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108151>. Acesso em: 10 ago. 2025.

DE MARCO, A. Strategies for successful recombinant expression of disulfide bond-dependent proteins in *Escherichia coli*. **Microbial Cell Factories**, Londres, v. 8, p. 26, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-26>. Acesso em: 4 ago. 2025.

GEISSE, S. et al. Eukaryotic expression systems: a comparison. **Protein Expression and Purification**, v. 8, n. 3, p. 271–282, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/prep.1996.0101>. Acesso em: 5 ago. 2025.

GONZÁLEZ, M. et al. High-throughput expression of fungal secretory proteins in *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia pastoris*. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n. 6, p. 1139–1153, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13322>. Acesso em: 12 ago. 2025.

GOPAL, G. J.; KUMAR, A. Strategies for the production of recombinant proteins in *Escherichia coli*. **The Protein Journal**, v. 32, n. 6, p. 419–425, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10930-013-9502-5>. Acesso em: 10 ago. 2025.

GOU, F. et al. Efficient heterologous protein expression platform in *Aspergillus niger*. **Microbial Cell Factories**, v. 24, p. 160, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12934-025-02786-x>. Acesso em: 13 ago. 2025.

GUSTAFSSON, C.; GOVINDARAJAN, S.; MINSHULL, J. Codon bias and heterologous protein expression. **Trends in Biotechnology**, v. 22, n. 7, p. 346–353, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.04.006>. Acesso em: 10 ago. 2025.

JARVIS, D. L. Baculovirus–insect cell expression systems. **Methods in Enzymology**, v. 463, p. 191–222, 2009. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(09\)63014-7](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(09)63014-7). Acesso em: 12 ago. 2025.

JØRGENSEN, M. S.; SKOVLUND, D. A.; JOHANNESSEN, P. F.; MORTENSEN, U. H. Heterologous gene expression in *Trichoderma reesei*. **Microbial Cell Factories**, v. 13, p. 33, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-33>. Acesso em: 13 ago. 2025.

KAIPA, J. M.; KRASNOSIELSKA, G.; OWENS, R. J.; VAN DEN HEUVEL, J. Screening of membrane protein production by comparison of transient expression in insect and mammalian cells. **Biomolecules**, v. 13, n. 5, p. 817, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biom13050817>. Acesso em: 15 ago. 2025.

KASTBERG, L. L. B.; ARD, R.; JENSEN, M. K.; WORKMAN, C. T. Burden Imposed by Heterologous Protein Production in Two Major Industrial Yeast Cell Factories: Identifying Sources and Mitigation Strategies. **Frontiers in Fungal Biology**, v. 3, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.827704>. Acesso em: 4 ago. 2025.

KESIDIS, A. et al. Expression of eukaryotic membrane proteins in eukaryotic and prokaryotic hosts. **Methods**, v. 180, p. 3–18, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.06.006>. Acesso em: 9 ago. 2025.

KUMAR, S. *et al.* Production of recombinant bacterial lipases: a review. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 63, n. 2, p. 196–213, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bab.1370>. Acesso em: 10 ago. 2025.

LI, J. et al. Achieving efficient protein expression in *Trichoderma reesei* by using strong constitutive promoters. **Microbial Cell Factories**, v. 11, p. 84, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-84>. Acesso em: 7 ago. 2025.

MASTROPIETRO, G.; AW, R.; POLIZZI, K. M. Expression of proteins in *Pichia pastoris*. In: O'DELL, W. B.; KELMAN, Z. (Eds.). **Methods in Enzymology**. Academic Press, v. 660, p. 53–80, 2021. ISBN 9780323907378. DOI: 10.1016/bs.mie.2021.07.004.

MATHIS, H. et al. Enhanced heterologous gene expression in *Trichoderma reesei* by promoting multicopy integration. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 108, p. 470, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13308-x>. Acesso em: 14 ago. 2025.

NDOKHINWA, O. G. et al. Current status and emerging frontiers in enzyme engineering: An industrial perspective. **Heliyon**, v. 10, n. 11, e32673, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32673>. Acesso em: 9 ago. 2025.

RASCHMANOVÁ, H. et al. Implementing CRISPR-Cas technologies in conventional and non-conventional yeasts: current state and future prospects. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 3, p. 641–665, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.006>. Acesso em: 12 ago. 2025.

ROSANO, G. L.; CECCARELLI, E. A. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 172, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00172>. Acesso em: 10 ago. 2025.

SHENG, Y.; QIU, S.; DENG, Y.; ZENG, B. Recent advances in heterologous protein expression and natural product synthesis by *Aspergillus*. **Journal of Fungi, Basel**, v. 11, n. 7, p. 534, jul. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof11070534>. Acesso em: 5 ago. 2025.

SHIM, J. et al. Building protein networks in synthetic systems from the bottom-up. **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v. 49, art. 107753, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107753>. Acesso em: 8 ago. 2025.

SHIM, J. et al. Building protein networks in synthetic systems from the bottom-up. **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v. 49, art. 107753, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107753>. Acesso em: 8 ago. 2025.

SHUKLA, P. Synthetic biology perspectives of microbial enzymes and their innovative applications. **Indian Journal of Microbiology**, New Delhi, v. 59, n. 4, p. 401–409, dez. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00819-9>. Acesso em: 11 ago. 2025.

SO, K. K. et al. Improving expression and assembly of difficult-to-express heterologous proteins in *Saccharomyces cerevisiae* by culturing at a sub-physiological temperature. **Microbial Cell Factories**, Londres, v. 22, p. 55, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02065-7>. Acesso em: 9 ago. 2025.

TRIPATHI, N. K.; SHRIVASTAVA, A. Recent developments in bioprocessing

of recombinant proteins: expression hosts and process development. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, Lausanne, v. 7, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00420>. Acesso em: 8 ago. 2025.

WURM, D. L.; HACKER, D. L.; DE JESUS, M.; WURM, F. M. 25 years of recombinant proteins from reactor-grown cells — where do we go from here? **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v. 27, n. 6, p. 1023–1027, nov. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.05.008>. Acesso em: 4 ago. 2025.

WU, Z. L. et al. Enhanced bacterial expression of several mammalian cytochrome P450s by codon optimization and chaperone coexpression. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 31, p. 1589–1593, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10529-009-0048-1>. Acesso em: 14 ago. 2025.

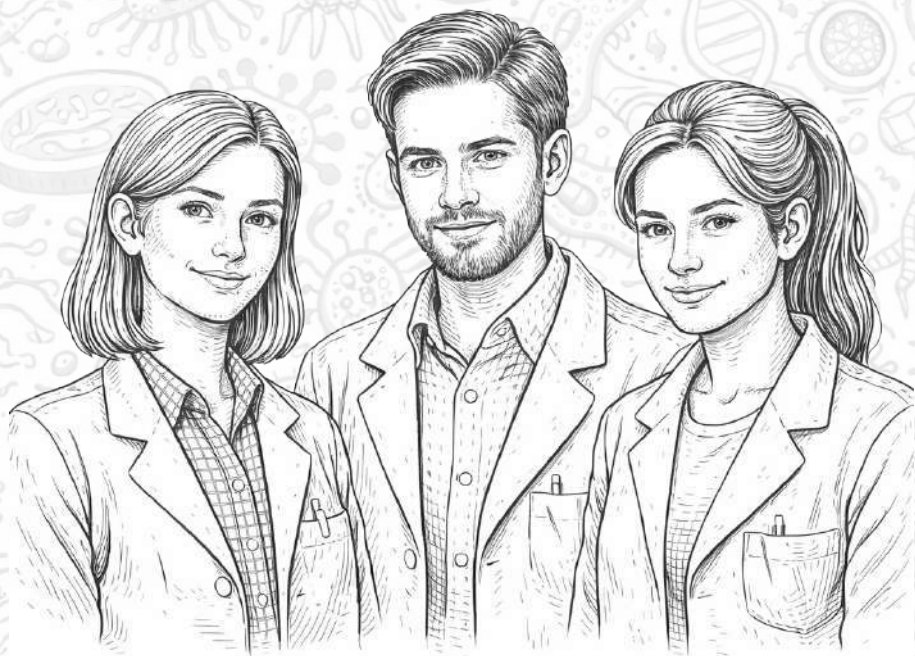
XU, Y.; WANG, Y. H.; LIU, T. Q.; ZHANG, H.; ZHANG, H.; LI, J. The GlaA signal peptide substantially increases the expression and secretion of α -galactosidase in *Aspergillus niger*. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 40, n. 6, p. 949–955, jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10529-018-2540-5>. Acesso em: 10 ago. 2025.

ZHANG, H. et al. The amyR-deletion strain of *Aspergillus niger* CICC2462 is a suitable host strain to express secreted protein with a low background. **Microbial Cell Factories**, Londres, v. 15, p. 68, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0463-1>. Acesso em: 15 ago. 2025.

ZHANG, J. et al. Optimization of a novel expression system for recombinant protein production in CHO cells. **Scientific Reports**, Londres, v. 14, art. 24913, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-76995-6>. Acesso em: 15 ago. 2025.

ZHANG, W. et al. Enhanced secretion of heterologous proteins in *Pichia pastoris* following overexpression of *Saccharomyces cerevisiae* chaperone proteins. **Biotechnology Progress**, Hoboken, v. 22, n. 4, p. 1090–1095, jul./ago. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bp060019r>. Acesso em: 4 ago. 2025.

ZHAO, M. et al. Engineering strategies for enhanced heterologous protein production by *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbial Cell Factories**, Londres, v. 23, p. 32, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02299-z>. Acesso em: 10 ago. 2025.



**Conheça o Perfil dos Autores
desta Obra**

Ana Carla Thomassewski

<http://lattes.cnpq.br/0898414583053334>

André Luis dos Santos

<https://lattes.cnpq.br/2050143464680155>

Breno Cecere Vaz

<http://lattes.cnpq.br/1692347374386289>

Bruna Cristina dos Santos

<http://lattes.cnpq.br/5220997150730659>

Daniele Hneda

<https://lattes.cnpq.br/6406205113551322>

Dorival Valentim

<http://lattes.cnpq.br/7045445565319884>

Gabriel Superti Maia

<https://lattes.cnpq.br/0106096783941466>

Gabriel Virgínio Pereira

<http://lattes.cnpq.br/8966308611120098>

Helyemari Valentim Althaus

<http://lattes.cnpq.br/4929561200075402>

Júlia Bastos dos Santos

<https://lattes.cnpq.br/9151814683733058>

Juliana Vitoria Messias Bittencourt

<http://lattes.cnpq.br/5844979052853050>

Isabelle Satie Gomes Otani

<http://lattes.cnpq.br/2967979365454448>

Luiz Gabriel Medeiros Fermon

<http://lattes.cnpq.br/4808159696306520>

Marcio Silva

<http://lattes.cnpq.br/0053558163139317>

Mariana Machado Fidelis do Nascimento

<http://lattes.cnpq.br/9365624613317071>

Renata Micketen

<http://lattes.cnpq.br/8808247553040118>

Ricardo Antonio Ayub

<http://lattes.cnpq.br/1389825754483128>

Sâmela Aldrea Leite de Oliveira

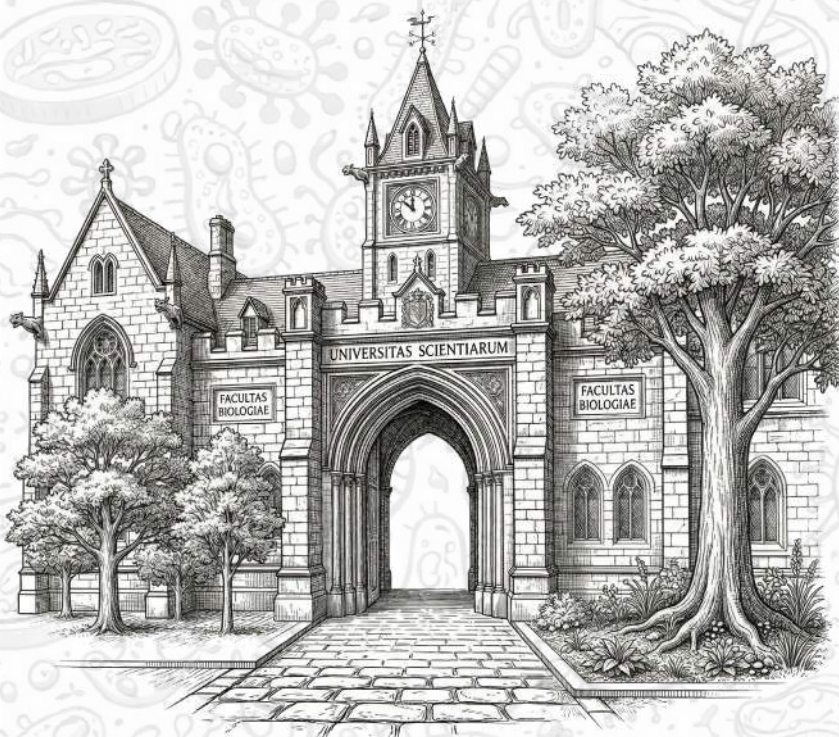
<http://lattes.cnpq.br/5220997150730659>

Suzana Struiving

<https://lattes.cnpq.br/3055924197241088>

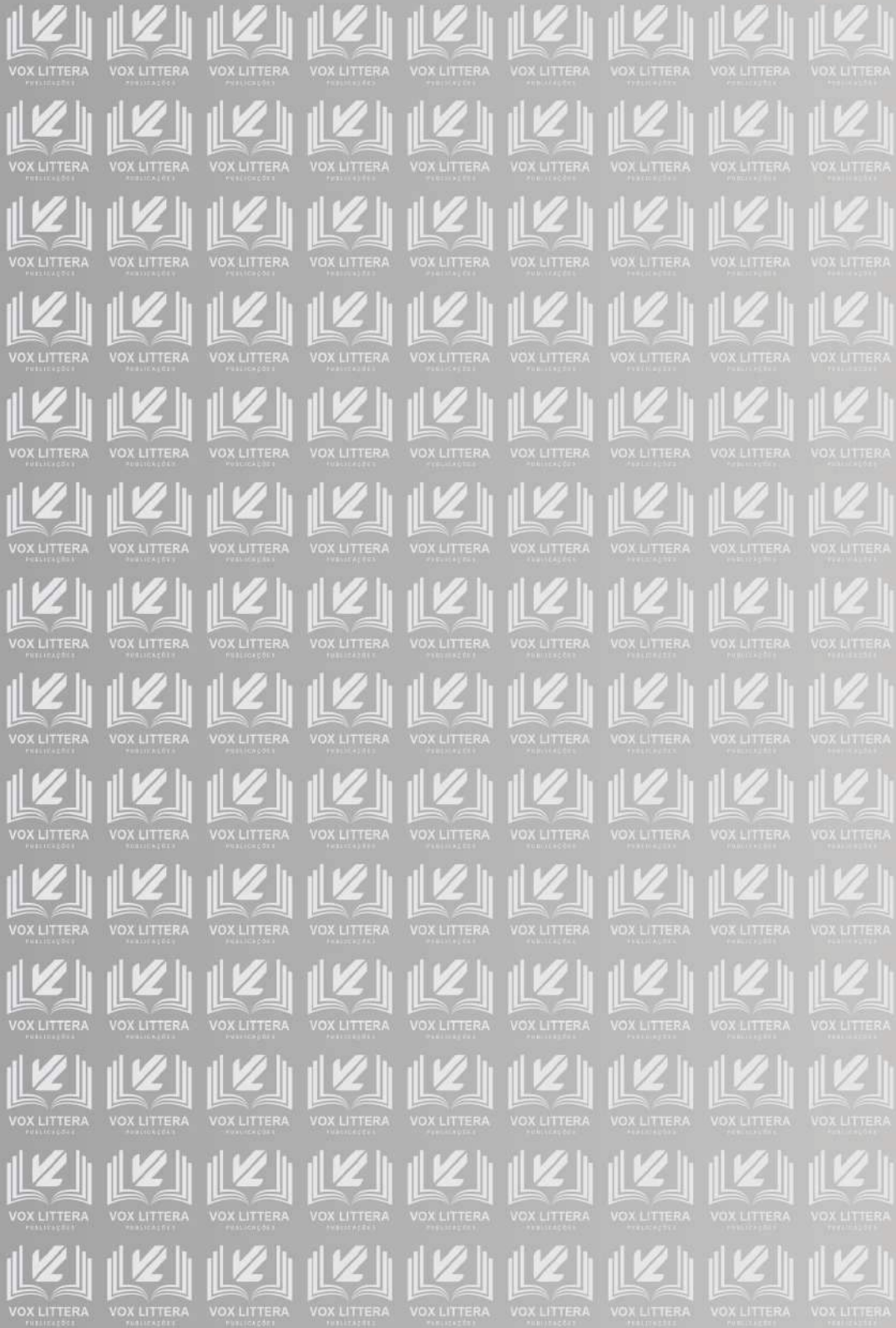
Vanessa Vaz Leonel

<http://lattes.cnpq.br/6706911572305402>



Parceria e Colaboração





ENCONTRE-NOS



/editoravoxlittera



@editoravoxlittera



contato@voxlittera.com.br



Editora Vox Littera

Rua Botafogo, 409 – Sala 404B – Vila Marumby – CEP.: 87005-190 – Maringá - PR

Tel.: (44) 3367-8483 – e-mail: contato@voxlittera.com.br

www.voxlittera.com.br