

Elementos da Natureza e Propriedades do Solo 4

Alan Mario Zuffo
Fábio Steiner
(Organizadores)

 **Atena** Editora

Ano 2018

Alan Mario Zuffo
Fábio Steiner
(Organizadores)

Elementos da Natureza e Propriedades do Solo 4

Atena Editora
2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Edição de Arte e Capa: Geraldo Alves

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall'Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

E38 Elementos da natureza e propriedades do solo – Vol. 4 [recurso eletrônico] / Organizadores Alan Mario Zuffo, Fábio Steiner. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018.
7.638 kbytes – (Elementos da Natureza; v.4)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-85107-03-1

DOI 10.22533/at.ed.031182507

1. Agricultura. 2. Ciências agrárias. 3. Solos. 4. Sustentabilidade.
I. Zuffo, Alan Mario. II. Steiner, Fábio. III. Título. IV. Série.

CDD 631.44

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo do livro e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

E-mail: contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “Elementos da Natureza e Propriedades do Solo” aborda uma série de livros de publicação da Atena Editora, em seu volume IV, apresenta, em seus 21 capítulos, os novos conhecimentos tecnológicos para Ciências do solo nas áreas de biologia do solo, física do solo, química do solo, morfologia e classificação do solo.

O solo é um recurso natural abundante na superfície terrestre, sendo composto por propriedades biológicas, físicas e químicas. Por outro lado, a água também é essencial os organismos vivos e, para a agricultura. Nas plantas, a água é responsável por todo o sistema fisiológico. Ambos os elementos, juntamente com os nutrientes são imprescindíveis para os cultivos agrícolas, portanto, os avanços tecnológicos na área das Ciências do solo são necessários para assegurar a sustentabilidade da agricultura, por meio do manejo, conservação e da gestão do solo, da água e dos nutrientes.

Apesar da agricultura ser uma ciência milenar diversas técnicas de manejo são criadas constantemente. No tocante, ao manejo e conservação da água e do solo, uma das maiores descobertas foi o sistema de plantio direto (SPD), criado na década de 80. Esse sistema é baseado em três princípios fundamentais: o não revolvimento do solo, a rotação de culturas e a formação de palhada por meio do uso de plantas de cobertura. Tais conhecimentos, juntamente com a descoberta da correção do solo (calagem) propiciaram o avanço da agricultura para áreas no Bioma Cerrado, que na sua maior parte é formado por Latossolo, que são solos caracterizados por apresentar o pH ácido, baixa teor de matéria orgânica e de fertilidade natural. Portanto, as tecnologias das Ciências do solo têm gerado melhorias para a agricultura.

Aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e tecnológicos nas Ciências Agrárias, os agradecimentos dos Organizadores e da Atena Editora.

Por fim, esperamos que este livro possa colaborar e instigar mais pesquisadores na constante busca de novas tecnologias para as áreas de biologia do solo, física do solo, química do solo, morfologia e classificação do solo e, assim, garantir incremento quantitativos e qualitativos na produção de alimentos para as futuras gerações de forma sustentável.

Alan Mario Zuffo

Fábio Steiner

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
AVALIAÇÃO DOS COMPONENTES DE RENDIMENTO DO MILHO (<i>Zea mays</i> L.) EM SISTEMAS DE CULTIVO COM UTILIZAÇÃO DE ADUBAÇÃO BIOLÓGICA E BIOESTIMULANTE	
<i>Elston Kraft</i>	
<i>Carolina Riviera Duarte Maluche Baretta</i>	
<i>Leandro do Prado Wildner</i>	
<i>André Junior Ogliari</i>	
<i>Patrícia Nogueira</i>	
<i>Matheus Santin Padilha</i>	
CAPÍTULO 2	19
BIODIVERSIDADE DE RIZOBACTÉRIAS PRESENTES NO EXOESQUELETO DE FORMIGAS CORTADEIRAS DO GÊNERO ATTA SPP	
<i>Guilherme Peixoto de Freitas</i>	
<i>Lucas Mateus Hass</i>	
<i>Luana Patrícia Pinto</i>	
<i>Alexandre Daniel Schneider</i>	
<i>Marco Antônio Bacellar Barreiros</i>	
<i>Luciana Grange</i>	
CAPÍTULO 3	30
BIOMASSA MICROBIANA EM SOLOS DE DIFERENTES ESTADOS DE CONSERVAÇÃO NA SUB-REGIÃO DO PARAGUAI, PANTANAL SUL MATO-GROSSENSE	
<i>Mayara Santana Zanella</i>	
<i>Romário Crisóstomo de Oliveira</i>	
<i>Sebastião Ferreira de Lima</i>	
<i>Marivaine da Silva Brasil</i>	
<i>Hellen Elaine Gomes Pelissaro</i>	
CAPÍTULO 4	37
COMPOSIÇÃO DE ESPÉCIES DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (GLOMEROMYCOTINA) EM ÁREAS DE CERRADO SOB DIFERENTES ESTÁGIOS DE REGENERAÇÃO	
<i>Bruna Iohanna Santos Oliveira</i>	
<i>Khadija Jobim</i>	
<i>Florisvalda da Silva Santos</i>	
<i>Bruno Tomio Goto</i>	
CAPÍTULO 5	52
DENSIDADE E DIVERSIDADE DE RIZOBACTÉRIAS SOB APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTE	
<i>Luana Patrícia Pinto</i>	
<i>Diego Silva dos Santos</i>	
<i>Jhonatan Rafael Wendling</i>	
<i>Elisandro Pires Frigo</i>	
<i>Marco Antônio Barcellar Barreiros</i>	
<i>Luciana Grange</i>	
CAPÍTULO 6	61
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE MILHO UTILIZANDO <i>Trichoderma</i> sp. ASSOCIADO OU NÃO A UM REGULADOR DE CRESCIMENTO VEGETAL COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO	
<i>Sônia Cristina Jacomini Dias</i>	
<i>Rafael Fernandes de Oliveira</i>	
<i>Warley Batista da Silva</i>	

CAPÍTULO 7 74

ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS DE UM LATOSSOLO SOB O CULTIVO DE CITRUS

Amanda Silva Barcelos
Athos Alves Vieira
Kleber Ramon Rodrigues
Leopoldo Concepción Loreto Charmelo
Alessandro Saraiva Loreto
João Luiz Lani

CAPÍTULO 8 79

CARACTERIZAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-HÍDRICAS DO SOLO EM DIFERENTES TEMPOS DE ADOÇÃO DO SISTEMA PLANTIO DIRETO

Matheus de Sousa
Helton Aparecido Rosa
Silene Tais Brondani
Leonardo Saviatto
Guilherme Mascarello

CAPÍTULO 9 89

CARACTERIZAÇÃO MICROMORFOLÓGICA E SUA RELAÇÃO COM ATRIBUTOS FÍSICOS EM CAMBISSOLOS DA ILHA DA TRINDADE – SUBSÍDIOS A RECUPERAÇÃO AMBIENTAL

Eliane de Paula Clemente
Fábio Soares de Oliveira
Mariana de Resende Machado

CAPÍTULO 10 104

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, ESPECTROSCÓPICAS E TÉRMICAS DE SOLO DA BACIA DO RIO CATORZE

Elisete Guimarães
Leila Salmória
Julio Caetano Tomazoni
Nathalia Toller Marcon

CAPÍTULO 11 115

EVALUATION OF CROP MANAGEMENT THROUGH SOIL PHYSICAL ATTRIBUTES UNDERSUGARCANE ON SYSTEMS: NO-TILLAGE AND CONVENTIONAL TILLAGE

Oswaldo Julio Vischi Filho
Ingrid Nehmi de Oliveira
Camila Viana Vieira Farhate
Lenon Henrique Lovera
Zigomar Menezes de Souza

CAPÍTULO 12 120

QUALIDADE FÍSICA DO SOLO EM SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO LOCALIZADA

Carlos Levi Anastacio dos Santos
Antonio Mauricélio Duarte da Rocha
Raimundo Nonato de Assis Júnior
Jaedson Cláudio Anunciato Mota

CAPÍTULO 13 129

AMOSTRA INFINITAMENTE ESPESSE DE SOLO E DE PLANTA PARA ANÁLISE POR ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X

Elton Eduardo Novais Alves
Pablo de Azevedo Rocha
Mariana Gonçalves dos Reis
Liovando Marciano da Costa

CAPÍTULO 14..... 140

ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO EM SISTEMA AGROFLORESTAL COM USO DE PLANTAS DE COBERTURA

Bruna Bandeira Do Nascimento
Everton Martins Arruda
Leonardo Santos Collier
Rilner Alves Flores
Leonardo Rodrigues Barros
Vanderli Luciano Silva

CAPÍTULO 15..... 149

AValiação DA FERTILIDADE DO SOLO PARA A CULTURA DO COQUEIRO NO VALE DO JURUÁ, ACRE

Rita de Kássia do Nascimento Costa
Edson Alves de Araújo
Maria Antônia da Cruz Félix
Sílvia Maria Silva da Costa
Hugo Ferreira Motta Leite
Genilson Rodrigues Maia

CAPÍTULO 16..... 166

CAPACIDADE MÁXIMA DE ADSORÇÃO DE FÓSFORO EM SOLOS DO TERRITÓRIO SERTÃO PRODUTIVO

Symone Costa de Castro
Elcivan Pereira Oliveira
Priscila Alves de Lima
Felizarda Viana Bebé

CAPÍTULO 17 178

DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES EM LATOSSOLO VERMELHO APÓS O USO DE SORGO E CROTALÁRIA NA ADUBAÇÃO VERDE

Cláudia Fabiana Alves Rezende
Thiago Rodrigues Ramos Faria
Simone Janaina da Silva Moraes
Luciana Francisca Crispim
Kamilla Menezes Gomides
Karla Cristina Silva

CAPÍTULO 18..... 190

EFEITO DO BIOSSÓLIDO SOBRE A FERTILIDADE DO SOLO DE PEQUENAS PROPRIEDADES RURAIS DO MUNICÍPIO DE SEROPÉDICA - RJ

Nágila Maria Guimarães de Lima Santos
Oclizio Medeiros das Chagas Silva
Ernandes Silva Barbosa
Fernando Ramos de Souza
Gean Correa Teles
Lucas Santos Santana

CAPÍTULO 19..... 199

RENEWAL OF THE ADSORPTIVE POWER OF PHOSPHORUS IN OXISOL

Gustavo Franco de Castro
Jader Alves Ferreira
Denise Eulálio
Allan Robledo Fialho e Moraes
Jairo Tronto
Roberto Ferreira Novais

CAPÍTULO 20 215

ANÁLISE DE SOLOS EM TOPOSSEQUÊNCIA NA FAZENDA EXPERIMENTAL DO CENTRO UNIVERSITÁRIO DE CARATINGA-MG

Athos Alves Vieira

Kleber Ramon Rodrigues

Leopoldo Concepción Loreto Charmelo

Alessandro Saraiva Loreto

João Luiz Lani

CAPÍTULO 21 224

ENSAIOS DE CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA E DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA DE SOLOS EM ÁREA DEGRADADA POR EROÇÃO LINEAR

Alyson Bueno Francisco

SOBRE OS ORGANIZADORES 233

SOBRE OS AUTORES 234

BIODIVERSIDADE DE RIZOBACTÉRIAS PRESENTES NO EXOESQUELETO DE FORMIGAS CORTADEIRAS DO GÊNERO ATTA SPP

Guilherme Peixoto de Freitas

Universidade Federal do Paraná – UFPR,
Palotina – Paraná.

Lucas Mateus Hass

Universidade Federal do Paraná – UFPR,
Palotina – Paraná.

Luana Patrícia Pinto

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
UNIOESTE, Cascavel – Paraná.

Alexandre Daniel Schneider

Universidade Federal do Paraná – UFPR,
Palotina – Paraná.

Marco Antônio Bacellar Barreiros

Universidade Federal do Paraná – UFPR,
Departamento de Biociências - DBC, Palotina –
Paraná.

Luciana Grange

Universidade Federal do Paraná – UFPR,
Departamento de Ciências Agrônômicas - DCA,
Palotina – Paraná.

RESUMO: As formigas cortadeiras desenvolveram a capacidade de cultivar o próprio alimento e, esta estratégia de sobrevivência se estabeleceu por interações co-evolutivas específicas, envolvendo fungos e bactérias. Enquanto o fungo mutualista serve de alimento, as bactérias do sistema controlam o crescimento e a qualidade do mesmo garantindo a longevidade da comunidade do inseto. Neste contexto, este trabalho pretende ser

um projeto piloto na avaliação da diversidade de bactérias presentes no exoesqueleto das formigas cortadeiras, com o objetivo de selecionar isolados representantes para estudos de bioprospecção. Para obtenção das amostras, foram utilizados de três formigueiros localizados em dois municípios da região oeste do Paraná. Os indivíduos foram desagregados em solução salina em agitador. As soluções obtidas, foram diluídas até a concentração 10^{-3} , plaqueadas em meio sólido tipo Dygs e submetidas a BOD por 72 horas a 27°C . Os isolados foram caracterizados e agrupados morfológicamente e destes, representantes foram selecionados para crescimento em meios seletivos para actinomicetos, bactérias celulolíticas e proteolíticas. Os dados revelaram a formação de dois grandes grupos que derivaram de um ancestral comum. Destes agrupamentos, foram escolhidos 4 representantes para serem submetidas aos meios seletivos. Através de avaliação visual, uma nota de 0 a 10 foi atribuída quanto ao crescimento dos isolados e, os resultados revelaram diferentes padrões de resposta da diversidade e da densidade dos gêneros avaliados. Este estudo preliminar apontou a necessidade do aumento da amostragem e de estudos mais avançados nos campos da genética e bioquímica, a fim de identificar estirpes com potencial biotecnológico.

PALAVRAS-CHAVE: Formigas Cortadeiras;
Bactérias; Exoesqueleto.

ABSTRACT: The ants leaf-cutter developed the ability to cultivated their own food, and that survival strategy was established from interactions specific that co-evolutionary by specific co-evolutionary interactions involving fungi and bacteria. While the fungus serves as food, the system's bacteria control the growth and quality of the fungus ensuring the longevity of the insect community. In this context, this work intend to be a pilot project in the evaluation of the diversity of bacteria present in the exoskeleton of leaf-cutting ants, with the objective of selecting bacterial isolates representatives for bioprospecting studies. To obtain the samples, were used three anthills located in two different municipalities of the western region of Paraná. The individuals were disaggregated in saline solution on shaker. The obtained solutions were diluted to the concentration 10⁻³, plated in Dygs-type solid medium and submitted to B.O.D for 72 hours at 27 ° C. The isolates were characterized and grouped morphologically and of these, representatives were selected for growth in selective medium for actinomycetes, cellulolytic bacteria and proteolytic. The data revealed the formation of two large groups that derived from a common ancestor. Of these groupings, 4 representatives were chosen to be submitted to the selective medium. Through visual evaluation, a score from 0 to 10 was attributed to the growth of the isolates, and the results revealed different response patterns of the diversity and density of the evaluated genera. This preliminary study pointed to the need for increased sampling and more advanced studies in the fields of genetics and biochemistry in order to identify strains with biotechnological potential.

KEYWORDS: ant leaf-cutter, bacteria, exoskeleton.

1 | INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras desenvolveram, a mais de 50 milhões de anos, a capacidade de cultivar fungos como alimento através de interações altamente específicas e complexas envolvendo estes e outros microrganismos. Numa relação mutualística, a formiga fornece substratos à base de vegetais frescos para o crescimento do fungo Basidiomycota (*Leucoagaricus gongylophorus*) nas câmaras subterrâneas de seus ninhos e, de forma predatória e/ou competitiva, algumas bactérias edáficas e/ou de exoesqueleto são empregadas pelo inseto, de forma planejada, no controle e proteção do crescimento do que é para ela alimento (DÂNGELO et al., 2016)

O cultivo do fungo tornou-se possível devido às diversas especialidades desenvolvidas pelas formigas cortadeiras como a rigorosa limpeza do material vegetal a ser fornecido, retirando microrganismos que podem causar danos potenciais ao crescimento do fungo; a utilização de secreções glandulares que possuem compostos antifúngicos e; principalmente, através das interações com outros microrganismos que inibem o desenvolvimento de parasitas e entomopatógenos provenientes do solo, das folhagens ou do meio externo (CAFARO et al., 2010; KOUIJ et al., 2014).

A interação com microrganismos presentes no exoesqueleto consiste em uma das principais estratégias evolutiva das formigas cortadeiras para inibir ou controlar o desenvolvimento de parasitas que possam prejudicar o desenvolvimento do fungo alimentar.

Algumas bactérias envolvidas nesta interação predatória formiga-parasitas, principalmente as filamentosas, como é o caso da *Pseudonocardia* e *Streptomyces*, são produtoras de substâncias específicas que inibem o desenvolvimento de fungos patogênicos como o *Trichoderma*, o *Fusarium* e os do gênero *Escovopsis* (DE FREITAS et al., 2016; PAGNOCCA; RODRIGUES; BACCI JUNIOR, 2011.).

Por outro lado, bactérias com características não filamentosas como *Bacillus*, *Klebsiella* e *Staphylococcus*, também podem ser encontradas no sistema auxiliando, principalmente, na degradação do substrato através de enzimas que podem facilitar a disponibilização de compostos e/ou competir de forma prejudicial com o estabelecimento da simbiose alimentar (SCOTT et al., 2010; PAGNOCCA; RODRIGUES; BACCI JUNIOR, 2011).

A diversidade de microrganismos no interior dos formigueiros ou sobre o exoesqueleto das formigas cortadeiras podem variar de acordo com as condições físicas e químicas dos solos ou características geográficas e vegetativas de determinada região (PAGNOCCA; RODRIGUES; BACCI JUNIOR, 2011; BERENDSEN et al., 2012). Muitos trabalhos sobre interações insetos-microrganismos têm encontrado bactérias exercendo diferentes papéis biológicos que podem ser investigados para serem utilizados para bioprospecção.

Utilizando ferramentas moleculares, Marsh et al. (2013), realizaram a identificação de actinobactérias presente na cutícula das formigas do gênero *Atta* spp. destacando principalmente a presença de *Pseudonocardia*, *Streptomyces* e *Nocardioles*, podendo estarem relacionadas com a produção de antibióticos contra agentes patogênicos.

Trabalhos como os de Andersen et al. (2013), demonstraram que a diversidade de bactérias presentes no exoesqueleto de formigas do gênero *Acromyrmex*, é mais baixa predominando apenas uma cepa de *Pseudonocardia* sendo responsável pela produção de compostos antifúngicos. Já outras actinobactérias, como *Streptomyces*, que são responsáveis pela complementação da produção de antibióticos, são adquiridas horizontalmente e/ou aumentadas de acordo com a atividade das operárias externamente ao ninho (MARCHIORI, 2013).

Neste contexto, estudos que possam identificar a diversidade dos indivíduos presentes neste sistema associativo em cada região e/ou solo, seja este produtivo ou natural, podem auxiliar no entendimento desta complexidade de interações quanto ao papel das formigas na manutenção da biodiversidade microbiana de um solo; quanto aos tipos de bioativos que podem estar envolvidos tanto no controle biológico da formiga cortadeira quanto de fungos patogênicos pelas bactérias presentes no sistema e; quanto estes insetos podem servir como bioindicadores da fertilidade e saúde dos solos e regiões onde se encontram presentes (PARRON, 2015; FERNÁNDEZ-MARÍN, 2017).

Quando o assunto é formiga cortadeira, salienta-se principalmente os danos e prejuízos relacionados ao corte de folhas, ramos, flores e etc. Porém pouco é ressaltado sobre o potencial biotecnológico e o papel ecológico envolvido na manutenção da fertilidade, da física e da microbiota dos solos por estes insetos. As formigas cortadeiras realizam indiretamente a incorporação de matéria orgânica no perfil de um solo, principalmente através do descarte dos resíduos de material vegetal utilizados pelo fungo mutualista no

interior do ninho. Nos locais de baixa diversidade vegetal as formigas assumem papel fundamental na incorporação da matéria orgânica nos solos, influenciando diretamente na distribuição da microbiota edáfica (FERNÁNDEZ; FARJI-BRENER; SATTI, 2014).

Estudos de bioprospecção tem revelado o grande potencial tecnológico que pode ser desenvolvido a partir de rizobactérias com capacidade para agentes de biocontrole (CONTI; GUIMARÃES; PUPO, 2012). Estes microrganismos produzem compostos de baixo molecular, como por exemplo, sideróforos, β -1,3 glucanase, quitinases, antibióticos e ácidos cianídricos que, por competição por espaço e nutrientes e/ou por indução de resistência nas plantas, reduzem a população dos fitopatógenos promovendo o crescimento das plantas cultivadas e melhorando a saúde dos solos produtivos (GLICK, 2012; EGAMBERDIEVA et al., 2015).

Portanto, o presente trabalho avaliou a diversidade de bactérias presentes no exoesqueleto de formigas cortadeiras, através da tipagem morfológica e da avaliação de crescimento em meios específicos, com objetivo de obter isolados a serem submetidos a estudos genéticos e bioquímicos para identificar estirpes com potencial biotecnológico agrícola.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras: As formigas cortadeiras do gênero *Atta* foram coletadas a partir de formigueiros presentes na zona rural das cidades de Assis Chateaubriand e Palotina, localizadas na região oeste do Paraná. Os formigueiros encontravam-se dispostos nas mediações de lavouras de mandioca (*Manihot esculenta*) e soja (*Glycine max*). O delineamento experimental foi realizado inteiramente ao acaso utilizando três tratamentos (formigueiros) das diferentes cidades e com repetições em triplicata para cada amostra coletada.

Obtenção dos isolados: Em fluxo laminar, 10 formigas de cada formigueiro foram emergidas em 9 mL de solução salina esterilizada a 0,85% para a desagregação de isolados bacterianos presentes no exoesqueleto. O procedimento de desagregação foi realizado por agitação em Vórtex por 1 minuto e posterior decantação por mais 5 minutos de acordo com protocolo adaptado de Zucchi, Guidolin e Cònsoli (2011). Do sobrenadante da solução contendo as formigas, foi coletado um volume de 1000 μ L para realização da diluição seriada até a obtenção da concentração de trabalho de 10^{-3} , segundo protocolo adaptado de Vincent (1970).

Tipagem morfológica: Da diluição de trabalho (10^{-3}), 100 μ L foram inoculados pelo método spread plate em placas de petri contendo meio de cultura generalista tipo Dygs, em pH 6,5, segundo protocolo adaptado de Rodriguez Neto et al. (1986). As placas foram submetidas a B.O.D a 27°C (Celsius) por 72 horas. A partir das unidades isoladas (colônias puras), a caracterização morfológica foi realizada utilizando uma metodologia adaptada de Yano et al. (1993) levando em consideração os seguintes aspectos: tamanho (< 1; 1-2; > 2 milímetros); coloração (homogênea ou heterogênea); cor (Branco, creme, amarelo e alaranjado); forma (circular ou irregular); borda (lisa, anelada e ondulada) e elevação

(chata, convexa, levantada e protuberante). Um agrupamento foi estabelecido utilizando o programa BioNumerics e o dendograma definido pelo algoritmo UPGMA.

Teste seletivo: A partir do agrupamento morfológico, 4 representantes, com aspectos contrastantes e presentes nos diferentes locais de coleta, foram escolhidos para serem submetidos a crescimento em meios de cultura seletivos para as seguintes grupos microbianos: Proteolíticos (PONTECORVO et al., 1953 modificado), Celulolíticos (WOOD, 1980), Actinomicetos (KÜSTER; WILLIAMS, 1964). Após o período de 72 horas de crescimento em B.O.D a 27°C, as placas contendo os isolados foram avaliadas e atribuídas notas de acordo com a visualização das características do crescimento nos meios distintos. As notas foram constituídas de 7 a 10 crescimento alto; de 4 a 7 crescimento mdio; de 1 a 4 crescimento baixo; e sem crescimento.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das caracterizações morfológicas, avaliando as células puras pelo meio generalista Dygs, foi possível identificar 17 diferentes estirpes bacterianas obtidas do exoesqueleto das formigas cortadeiras isoladas de formigueiros sob áreas da zona rural das cidades de Assis Chateaubriand (formigueiro 1 – A1 e formigueiro 2 – A2) e Palotina (formigueiro 3 – A3), localizadas na região oeste do Paraná. Os resultados foram gerados pela construção de uma árvore a partir de agrupamentos estabelecidos para os distintos tratamentos (formigas) e pelo uso de índices de verossimilhança acima de 70% de similaridade (Figura 1).

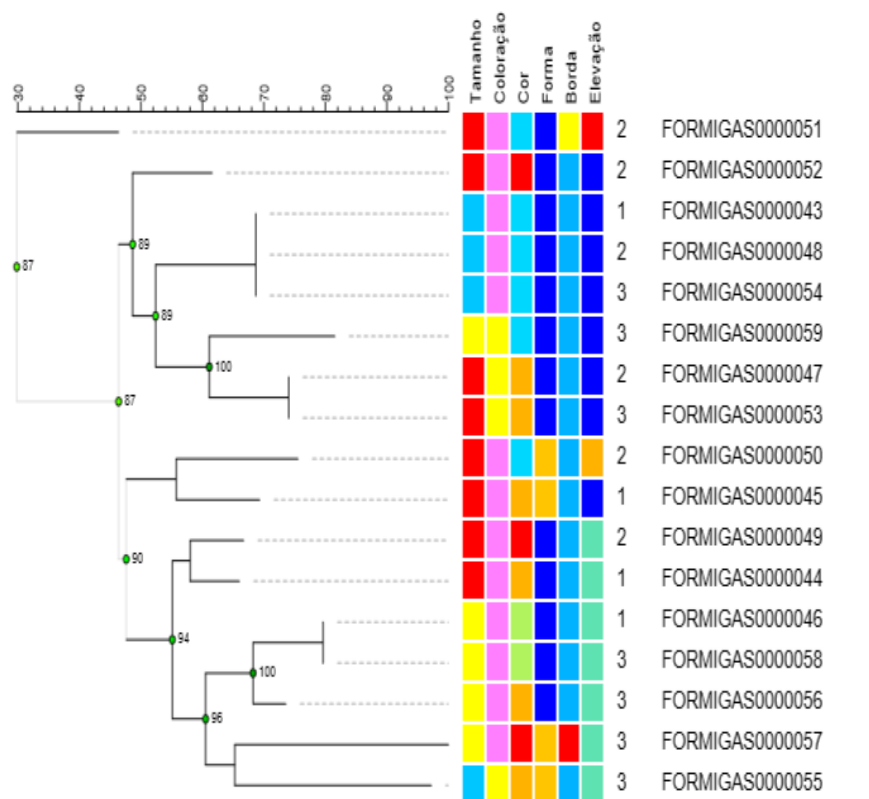


Figura 1 - Dendrograma obtido a partir de agrupamentos estabelecidos por similaridade morfológica dos isolados bacterianos presentes no exoesqueleto das formigas cortadeiras adquiridas de três diferentes locais (formigueiros) de coleta Assis Chateaubriand (A1 e A2) e Palotina (A3).

De maneira geral, foi possível observar uma baixa diversidade morfológica dos isolados presentes nos diferentes formigueiros. Analisando as ramas formadas a partir dos pontos de abertura para o primeiro grupo, observou-se um distanciamento fenotípico gradativo originando um único indivíduo como representante de uma rama e a formação de mais dois subgrupos (SG1 e SG2). O subgrupo SG1 apresentou semelhança entre as características obtidas dos isolados, formando um conjunto mais homogêneo, já no subgrupo SG2 ocorreu variação para características como tamanho, coloração e cor. Os isolados 043, 048 e 054 presentes em SG1, possuem a mesma morfologia e são providos de locais de coletas distintos.

Em parte, a ausência de respostas morfológicas mais distintas, pode ser um primeiro sinal de reflexo dos fatores antrópicos presentes nas imediações do local de coleta das formigas. De acordo com Mattoso (2012), às formigas cortadeiras podem ser beneficiadas pela ação antrópica no ambiente, no qual a modificação deste, pode reduzir a população de predadores e/ou parasitas, além de aumentar a proliferação de vegetais mais palatáveis, diminuindo a necessidade da busca por alimento a longas distâncias. Logo, esse benefício antrópico, pode afetar diretamente a diversidade de microrganismos presentes na cutícula das formigas, pois a diminuição dos potenciais riscos de ataque e/ou contaminação com parasitas, leva a diminuição de bactérias que atuam como produtoras de antibióticos no exoesqueleto destes insetos (SAMUELS; MATTOSO; MOREIRA, 2013).

Outro fator a ser considerado, é a teoria do mutualismo *Partner Choice* entre hospedeiros e simbioses, no qual, o hospedeiro promove a seleção de microrganismos benéficos de um conjunto de possíveis simbioses que podem ser adquiridos do ambiente (solo), preconizando apenas, o crescimento dos organismos de interesse para a evolução (BULL, 1991). Logo, as formigas cortadeiras podem ter adquirido bactérias específicas do ambiente para atuarem como seus simbioses, resultando em uma seleção direta de microrganismos que são regulados de acordo com as necessidades impostas pelo ambiente para proteção ou defesa contra parasitas (POULSEN et al., 2005; BOOMSMA; AANEN, 2009; MARCHIORI, 2013).

Bactérias comumente encontradas em solos e de grande ação comprovada na decomposição da matéria orgânica e nas relações antagônicas com patógenos agrícolas como, por exemplo do gênero *Bacillus*, também podem ser isoladas do interior de formigueiros. Normalmente estas estirpes se encontram na forma latente, mas passam a serem visualizadas quando são semeadas em meio de cultivo, pois os esporos passam para o estágio vegetativo. Outro fato a ser analisado é que durante a atividade de forrageamento e devido ao tamanho corporal das operárias de *Atta sp.*, algumas bactérias como *Burkholderia sp.* e *Propionibacteriaceae*, podem ser adquiridas do ambiente e também estarem presentes no exoesqueleto das formigas (SANTOS et al, 2004; PAGNOCCA, RODRIGUES, BACCI JUNIOR, 2011).

Sendo assim, a baixa diversidade encontrada neste trabalho deve estar refletindo a realidade presente nas imediações do local de coleta das formigas, tendo em vista a

proximidade com áreas de cultivo de mandioca e soja, que são constantemente submetidas à ação antrópica, para a obtenção de maiores rendimentos (OTSUBO et al., 2008; SOUZA et al., 2010; SILVA et al., 2012). Fatores ocasionados pelo monocultivo de culturas, proporcionam redução direta na diversidade de predadores e parasitas, promovendo ambientes favoráveis para a proliferação e o desenvolvimento das formigas, que dentro de suas interações, regulam a densidade de microrganismos benéficos presentes em seu exoesqueleto para a própria proteção de acordo com as necessidades impostas pelo meio (BULL, 1991; MATTOSO, 2012; MARCHIORI, 2013).

Dos agrupamentos encontrados, 4 isolados foram escolhidos como representantes de cada grupo morfológico a serem submetidos ao crescimento nos diferentes meios de cultivo seletivo em busca de um levantamento inicial quanto aos gêneros de bactérias presentes nas amostras (Formiga 048, Formiga 053, Formiga 057 e Formiga 046).

Através de uma avaliação visual, uma nota de 0 a 10 foi atribuída quanto ao crescimento dos isolados obtidos dos exoesqueletos das amostras (formigas) selecionadas. Para o crescimento dos isolados da Formiga 048 foi atribuído nota 5 (crescimento médio) para todos os meios testados, demonstrando o potencial enzimático para degradação dos compostos presentes nos mesmos; aos isolados obtidos da Formiga 053, foi atribuído nota 9 (alto crescimento) para os meios de seleção para bactérias proteolíticas e actinomicetos, mas não sendo observado crescimento no meio para celulolíticas. Os isolados da Formiga 046 receberam nota 9 (alto crescimento) para o crescimento no meio para actinomicetos e não foi observado crescimento para os meios para proteolíticos e celulolíticos. Por fim, para a Formiga 047 não foi observado crescimento para nenhum dos meios testados.

Habitantes dos solos e da rizosfera de plantas cultivadas, os actinomicetos, são presentes na cutícula de formigas cortadeiras realizando interações que possam influenciar diretamente na simbiose com o fungo mutualista (DE SOUZA et al., 2013). Os actinomicetos além de serem responsáveis pela produção de antibióticos, sintetização de vitaminas e degradação de compostos, também são capazes de produzirem enzimas como amilase, pectinase, protease e celulase (NASCIMENTO et al., 2014; TANIGUCHI et al., 2014). Os isolados obtidos a partir do exoesqueleto de formigas cortadeiras selecionados pelo meio para bactérias celulolíticas, pode estar atuando na degradação da celulose presente nas folhas que são carregadas para o interior do ninho, podendo beneficiar o desenvolvimento do fungo mutualista com geração de compostos que facilitam a colonização de suas hifas e/ou competir pelo substrato a ser utilizado pelo mesmo (PAGNOCCA; RODRIGUES; BACCI JUNIOR, 2011).

As bactérias proteolíticas podem ser encontradas em diversos tipos de ambiente, atuando principalmente na degradação de proteínas presentes na matéria orgânica (LOZADA et al., 2017). Algumas bactérias com atividade proteolítica podem estar presentes em ninhos de *Atta* sp., desempenhando função na degradação de proteínas presentes no material vegetal fornecido ao fungo mutualista (SCOTT et al., 2010; PAGNOCCA; RODRIGUES; BACCI JUNIOR, 2011).

4 | CONCLUSÃO

1. Foi possível demonstrar que formigas cortadeiras do gênero *Atta* possuem bactérias atreladas ao seu exoesqueleto sendo modificadas de acordo com as condições impostas pelo ambiente, apontando para alterações na diversidade;
2. Este projeto piloto, foi importante para demonstrar a necessidade da realização de uma maior amostragem para comparação dos isolados obtidos;
3. As bactérias presentes nos exoesqueletos das formigas cortadeiras dos dois municípios do oeste do Paraná possuem um ancestral comum pela tipagem morfológica;
4. A tipagem morfológica possibilitou um primeiro screening para seleção de estirpes a serem investigadas quanto ao potencial para o biocontrole mas não permitiu diferenciar os isolados em gênero ou espécies apontando para a necessidade de investigações em nível molecular para o desenvolvimento de trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, S. B.; Hansen, L. H., SAPOUNTZIS, P.; SØRENSEN, S. J.; BOOMSMA, J. J. Specificity and stability of the *Acromyrmex*–*Pseudonocardia* symbiosis. **Molecular Ecology**, [s.l.], v. 22, n. 16, p.4307-4321, ago. 2013
- BERENDSEN, R.L.; PIETERSE, C.M.J.; BAKKER, P.A.H.M. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, Oxford, v.8, p.478-486, 2012.
- BULL, J. J.; RICE, W. R. Distinguishing mechanisms for the evolution of cooperation. **Journal of Theoretical Biology**, v. 149, n. 1, p. 63-74, 1991.
- BOOMSMA J. J.; AANEN D. K. (2009) Rethinking crop-disease management in fungus-growing ants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, 106: 17611-17612.
- CAFARO, M. J.; POULSEN, M.; LITTLE, A. E. F.; PRICE, S L.; GERARDO, N. M.; WONG, B.; STUART, A. E.; LARGET, B.; ABBOT, P.; CURRIE, C. R. Specificity in the symbiotic association between fungus-growing ants and protective *Pseudonocardia* bacteria. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 278, n. 1713, p.1814-1822, 24 nov. 2010. The Royal Society.
- CONTI, R.; GUIMARÃES, O. D.; PUPO, M. T. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 3, p. 43-47, 2012.
- DÂNGELO, R. A. C.; DE SOUZA, D. J.; MENDES, T. D.; COUCEIRO, J. D. C.; DELLA LUCIA, T. M. C. Actinomycetes inhibit filamentous fungi from the cuticle of *Acromyrmex* leaf-cutter ants. **Journal Of Basic Microbiology**, [s.l.], v. 56, n. 3, p.229-237, 25 jan. 2016. Wiley-Blackwell.
- DE FREITAS, A. D. G.; DE SOUZA, A. Q. L.; MAKI, C. S.; PEREIRA, J. O.; SILVA, N. M. Atividade antagonista de bactérias endofíticas de plantas da amazônia contra o fungo simbiote *L. gongylophorus*, e dos fungos associados presentes nos ninhos de *Atta sexdens*. **Scientia**

Amazonia, [s.i], v. 5, n. 1, p.1-14, abr. 2016.

DE SOUZA, D. J.; LENOIR, A.; KASUYA, M. C. M.; RIBEIRO, M. M. R.; DEVERS, S.; COUCEIRO, J. C.; DELLA LUCIA, T. M. C. Ectosymbionts and immunity in the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. **Brain, Behavior, And Immunity**, [s.l.], v. 28, p.182-187, fev. 2013.

EGAMBERDIEVA, D.; SHRIVASTAVA, S.; VARMA, A. **Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants**. *Soil Biology*, v 42, 2015.

FERNÁNDEZ, A.; FARJI-BRENER, A. G.; SATTI, P. Factores que influyen sobre la actividad microbiana en basureros de hormigas cortadoras de hojas. **Ecología Austral**, Córdoba, v. 24, n. 1, p.103-110, abr. 2014.

FERNÁNDEZ-MARÍN, H.; MEJÍA, L. C.; SPADAFORA, C.; DORRESTEIN, P. C.; GUTIÉRREZ, M. Imaging mass spectrometry and MS/MS molecular networking reveals chemical interactions among cuticular bacteria and pathogenic fungi associated with fungus-growing ants. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 5604, 2017.

GLICK, B. R. Plant Growth - Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientific**, p.1-16, 2012

KOOIJ, P. W.; ROGOWSKA-WRZESINSKA, A., HOFFMANN, D.; ROEPSTORFF, P.; BOOMSMA, J. J.; Schiøtt, M. *Leucoagaricus gongylophorus* uses leaf-cutting ants to vector proteolytic enzymes towards new plant substrate. **The ISME Journal**, [s.l.], v. 8, n. 5, p.1032-1040, 9 jan. 2014. Springer Nature.

KÜSTER, E.; WILLIAMS, S.T. **Selection of media for isolation of streptomycetes**. *Nature*, London, v.202, p.928-929, 1964.

LOZADA, J. A. R.; SILVEIRA, K. C.; DA SILVA, L. J.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Prospecting for sludge bacteria from a poultry slaughterhouse, with potential for degrading organic substances. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 3, p.1209-1216, 13 jun. 2017.

MARCHIORI, A. C. **Diversidade e Evolução na Simbiose entre Bactérias e Formigas Attini**. 2013. 94 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Curso de Biologia Celular e Molecular, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2013.

MARSH, S. E. et al. Association between *Pseudonocardia* symbionts and *Atta* leaf-cutting ants suggested by improved isolation methods. **International Microbiology**, [s.i], v. 16, n. 01, p.17-25, fev. 2013.

MATTOSO, T. C. **Papel de Bactérias Ecto-simbiontes em *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Forel, 1901) na Proteção contra Fungos Entomopatogênicos**. 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2012.

NASCIMENTO, T. P.; PORTO, C. S.; TEIXEIRA, M. F. S.; PORTO, T. S.; PORTO, A. L. F. Produção de biocompostos com atividade antimicrobiana de *Streptomyces* sp. ante isolados de mastite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 1, p.101-108, fev. 2014.

OTSUBO, A. A.; MERCANTE, F. M.; DA SILVA, R. F.; BORGES, C. D. Sistemas de preparo do solo, plantas de cobertura e produtividade da cultura da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,

v. 43, n. 3, p. 327-332, 2008.

PAGNOCCA, F. C.; RODRIGUES, A.; BACCI JÚNIOR, M.. Microrganismos associados às formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. **Formigas-Cortadeiras da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: Ufv, 2011. Cap. 16. p. 263-283.

PARRON, L. M.; GARCIA, J. R.; DE OLIVEIRA, E. B.; BROWN, G. G.; PRADO, R. B. Serviços ambientais em sistemas agrícolas e florestais do Bioma Mata Atlântica. **Embrapa Florestas-Livro científico (ALICE)**, 2015.

PONTECORVO, G. et al. **The genetics of Aspergillus nidulans**. *Advances in Genetics*, v.5, p.141-238, 1953.

POULSEN M.; CAFARO M.; BOOMSMA J.J.; CURRIE C.R. (2005) Specificity of the mutualistic association between actinomycete bacteria and two sympatric species of Acromyrmex leaf-cutting ants. **Mol. Ecol.** 14: 3597-3604.

POULSEN, M.; CURRIE, C. R. Complexity of insect-fungal associations: exploring the influence of microorganisms on the attine ant-fungus symbiosis. In: BOURTZIS, Kostas; MILLER, Thomas A.. **Insect Symbiosis**. 2. ed. New York: Taylor & Francis, 2006. Cap. 4. p. 57-73.

SAMUELS, R. I.; MATTOSO, T. C.; MOREIRA, D. DO. Chemical warfare: Leaf-cutting ants defend themselves and their gardens against parasite attack by deploying antibiotic secreting bacteria. **Communicative & integrative biology**, v. 6, n. 2, p. e23095, 2013.

SANTOS, A. V.; DILLON, R. J.; REYNOLDS, S. E.; SAMUELS, R. I. Occurrence of the antibiotic producing bacterium Burkholderia sp. in colonies of the leaf-cutting ant Atta sexdens rubropilosa. **Fems Microbiology Letters**, [s.l.], v. 239, n. 2, p.319-323, out. 2004.

SCOTT, J. J.; BUDSBERG, K. J.; SUEN, G.; WIXON, D. L.; BALSER, T. C.; CURRIE, C. R. Microbial community structure of leaf-cutter ant fungus gardens and refuse dumps. **PloS one**, v. 5, n. 3, p. e9922, 2010.

SILVA, A. A.; SEDIYAMA, T.; SANTOS, J. B.; SILVA, D. V.; FRANÇA, A. C.; FERREIRA, E. A. Manejo de plantas daninhas na cultura da mandioca. **Planta daninha**, 2012.

SOUZA, F. R.; ROSA JUNIOR, E. J.; FIETZ, C. R.; BERGAMIN, A. C.; VENTUROSU, L. D. R.; ROSA, Y. B. C. J. Atributos físicos e desempenho agrônômico da cultura da soja em um latossolo vermelho distroférico submetido a dois sistemas de manejos. **Embrapa Agropecuária Oeste-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2010.

TANIGUCHI, J. G.; KAWAGUTI, H. Y.; SILVA, W. F. D.; SIMON J. W.; DELGADO, C. H. O.; FLEURI, L. F. Produção de moléculas bioativas por fermentação em estado sólido utilizando novos actinomicetos e caracterização parcial dos principais compostos. **Trends in Bioscience and Biotechnology**, p. 4-7, 2014.

VINCENT, J. M. Manual for the practical study of root nodule bacteria, Oxford: Blackwell,164p, 1970.

WOOD, P.J. **Specify in the interactions of direct dyes of polysaccharydes**. *Carbohydrate Research*, 85: 271-287. 1980.

YANO, D. M. Y. Técnicas assépticas e semeadura de microrganismos. In: YANO, D. M. Y.; FARRIS, M. G.; UMINO, C. Y.; COUTINHO, H. L. C.; CANHOS, V. P. **Técnicas para cultivo, identificação e preservação de bactérias**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1993. p.1-9.

ZUCCHI, T.; GUIDOLIN, A. S.; CÔNSOLI, F. L.. Isolation and characterization of actinobacteria ectosymbionts from *Acromyrmex subterraneus brunneus* (Hymenoptera, Formicidae). **Microbiological Research**, [s.l.], v. 166, n. 1, p.68-76, jan. 2011.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-85107-03-1

