

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENSINO
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

REGIANE SILVA LIMA

**BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS ASSOCIADO A PLANTAS
CARNÍVORAS: IDENTIFICANDO POTENCIAL BIOLÓGICO PARA USO
AGRÍCOLA**

PONTA GROSSA

2025

REGIANE SILVA LIMA

**BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS ASSOCIADO À PLANTAS
CARNÍVORAS: IDENTIFICANDO POTENCIAL BIOLÓGICO PARA USO
AGRÍCOLA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Rosilene Aparecida Prestes.

Coorientador(a): Ranyelly Leão Coutrim (Mestre).

PONTA GROSSA

2025



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

REGIANE SILVA LIMA

**BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS ASSOCIADO A PLANTAS
CARNÍVORAS: IDENTIFICANDO POTENCIAL BIOLÓGICO PARA USO
AGRÍCOLA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Licenciada em Ciências Biológicas da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 19 de fevereiro de 2025.

Rosilene Aparecida Prestes (Orientadora)
Doutorado em Ciências (Química Analítica)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - campus Ponta Grossa

Danislei Bertoni
Doutorado em Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - campus Ponta Grossa

Carolina Weigert Galvão
Doutorado em Ciências (Bioquímica)
Universidade Estadual de Ponta Grossa

PONTA GROSSA

2025

RESUMO

A agricultura desempenha um papel fundamental na economia brasileira, contribuindo com 24,4% do Produto Interno Bruto (PIB) em 2022. Entretanto, é um setor que tem utilizado, cada vez, agrotóxicos causando uma série de impactos negativos, tanto para o meio ambiente quanto para a saúde humana. Conforme o Instituto Nacional do Câncer (INCA) são produtos químicos que têm como função proteger as culturas contra pragas, doenças e plantas daninhas e indiretamente criando condições favoráveis para o desenvolvimento da planta. Mediante a isto, o presente trabalho teve como objetivo explorar o potencial biotecnológico de microrganismos associados à planta carnívora *Dionaea muscipula*, com foco no desenvolvimento de alternativas sustentáveis e com ação antifúngica, para o controle do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, causador do mofo-branco. Por meio de uma metodologia hipotética-dedutiva, foram realizados extratos de quatro partes distintas da *Dionaea muscipula* (planta completa, folhas, raízes e vênus) Esses extratos passaram por processos de diluição seriada e foram inoculados em diferentes meios de cultura, visando à caracterização do perfil da microbiota normal da planta. A análise microbiana revelou a presença de espécies promissoras para o controle da doença agrícola, confirmando a hipótese de que os microrganismos isolados da planta possuem uma ação inibitória. Entre os resultados, destacou-se o fungo M3, que apresentou esporulação abundante e rápido crescimento, características que reforçam o potencial dos produtos biológicos como alternativa sustentável e eficiente no manejo de doenças de plantas como uma alternativa sustentável.

Palavras-chave: *Dionaea muscipula*; *Sclerotinia sclerotiorum*; Biocontrole.

ABSTRACT

Agriculture plays a fundamental role in the Brazilian economy, contributing 24.4% to the Gross Domestic Product (GDP) in 2022. However, it is a sector that increasingly relies on pesticides, causing a series of negative impacts on both the environment and human health. According to the National Cancer Institute (INCA), pesticides are chemicals designed to protect crops from pests, diseases, and weeds, indirectly creating favorable conditions for plant development. In light of this, the aim of the present study was to explore the biotechnological potential of microorganisms associated with the carnivorous plant *Dionaea muscipula*, focusing on the development of sustainable alternatives with antifungal action for the control of the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*, which causes white mold. Through a hypothetico-deductive methodology, extracts were made from four distinct parts of *Dionaea muscipula* (whole plant, leaves, roots, and Venus flytrap). These extracts underwent serial dilution processes and were inoculated into different culture media to characterize the plant's normal microbiota profile. Microbial analysis revealed the presence of promising species for controlling agricultural diseases, confirming the hypothesis that microorganisms isolated from the plant have inhibitory action. Among the results, the fungus M3 stood out, showing abundant sporulation and rapid growth, characteristics that highlight the potential of biological products as a sustainable and efficient alternative in managing plant diseases as a sustainable option.

Keywords: *Dionaea muscipula*; *Sclerotinia sclerotiorum*; Biocontrol.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Variável da área plantada, área colhida, quantidade produzida e rendimento médio do feijão.....5
- Figura 2 - Variável área colhida, quantidade produzida e rendimento do feijão.....6
- Figura 3 - Valor do rendimento médio da produção de feijão.....6
- Figura 4 - Variação da quantidade produzida em toneladas.....7
- Figura 5 - Ciclo de vida do mofo-branco causado pelo patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* no feijão.....9
- Figura 6 - Aparição do mofo-branco em plantio de feijão.....10
- Figura 7 - Planta carnívora espécie *Dionaea muscipula*, comprada no mercado de Ponta Grossa.....18
- Figura 8 - Divisão das partes da planta *Dionaea muscipula*: (a) vênus, (b) folha, (c) raiz d e (d) toda a planta.....19
- Figura 9 - Incubadora B.O.D. contendo placas de Petri submetidas ao teste de pareamento direto.....21
- Figura 10 - Placas de Petri no terceiro dia de inoculação em meio de cultura 25
- Figura 11 - Microrganismos isolados da planta *Dionaea muscipula*.....26
- Quadro 1 - Dados dos microrganismos e locais da planta onde foram encontrados juntamente com os respectivos meios de cultura em que cresceram..... 26

Quadro 2 - Apresentação das características morfológicas dos fungos analisados, como formato, textura, relevo e pigmentação. Essas

informações auxiliam na identificação e diferenciação entre os isolados.....29

Figura 12 - Fungos encontrados com base na extração de extratos feito da planta carnívora *Dionaea muscipula* a partir do meio de cultura sólido.....29

Figura 13 - Bactérias isoladas para caracterização em meio BHI e BDA30

Quadro 3 - Apresentação das características morfológicas das bactérias encontradas.....30

Figura 14 - Visão das lâminas no microscópio óptico, aumento 400x vezes: coloração de gram realizado com as bactérias encontradas na planta *Dionaea muscipula*31

Figura 15 - Crescimento micelial (mm) dos fungos (A) e bactérias (B) isolados das partes aéreas da espécie *Dionaea muscipula*32

Figura 16 - Crescimento micelial (mm) do fungo F3 isolado.....33

Figura 17 - Banda de DNA total.....36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidade de feijão produzida em toneladas por ano.
.....**5**

Tabela 2 - Crescimento dos fungos e bactérias (B) isolados das partes aéreas da espécie *Dionaea muscipula* comparando com o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum in vitro* do primeiro ao sétimo dia de incubação.....**34**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Feijão	4
2.2 Pragas, doenças agrícolas e controle do feijão	7
2.2.2 Controle do <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	10
2.3 Plantas carnívoras	11
2.4 Bioprospecção de bactérias e fungos	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Procedimentos da Pesquisa	17
3.1.1 Aquisição de plantas carnívoras e preparação	18
3.1.2 Isolamento de microrganismos	20
3.1.3 Pareamento direto	20
<u>3.1.5.1 Teste de pareamento de culturas entre <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e os fungos isolados <i>Dionaea muscipula</i> em cultivo pareado</u>	<u>20</u>
3.1.7 Extração de DNA de fungos	21
3.1.2 Análise de dados	22
3.1.3 Aproximações com o ensino de biologia na educação básica	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1.1 Caracterização dos microrganismos presente nas plantas	25
4.1.2 Características morfológicas dos microrganismos isolados	27
<u>4.1.2.1 Morfologia colonial dos fungos</u>	<u>27</u>
<u>4.1.2.2 Morfologia colonial das Bactérias</u>	<u>29</u>
<u>4.2.2.3 Coloração de Gram</u>	<u>30</u>
4.3.1 Crescimento micelial dos isolados	31
4.4 Extração de DNA	35
CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38
APÊNDICE B - PARECER PARA AVALIAÇÃO DE PRODUTO EDUCACIONAL	59

1. INTRODUÇÃO

A agricultura é caracterizada por ser uma das atividades com maior expressão econômica no Brasil, contribuindo para 24,4 % do Produto Interno Bruto (PIB) do país. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2022 o PIB chegou a R\$9,9 trilhões, no qual a agricultura cooperou com R\$1.791.247 do valor total (CEPEA, 2022). Por meio da produção de mantimentos a agricultura garante abastecimento de casas com alimentos básicos para nutrição e sustento de famílias, além disso, auxilia como matéria prima às indústrias.

Para assegurar um abastecimento de alimentos contínuo e em larga escala, é fundamental lidar com desafios como a segurança alimentar, perdas econômicas, pragas, doenças, plantas daninhas e o crescimento populacional. Nesse contexto, os agrotóxicos se tornam amplamente utilizados para otimizar a produção, tornando o cultivo mais eficiente uma vez que auxilia na redução das perdas ao longo do processo. Com isso, é possível assegurar que os alimentos cheguem ao mercado em quantidade adequada, atendendo à crescente demanda populacional (Karam *et al.*, 2014).

O agrotóxico proporciona vantagens para a agricultura, mas também causa sérias consequências como alteração na macro e microbiota do solo reduzindo a diversidade de microrganismos benéficos, conseqüentemente, ocasionando o aumento populacional de fitopatógenos como nematóides, artrópodes e outros organismos acarretando no baixo índice de desenvolvimento da planta, propagação de doenças secundárias, danos às raízes e em caso severos a perda total do cultivo, causando danos econômicos nas lavouras, motivo pelo qual são alvo de controle (Machado, 2024).

Os defensivos agrícolas são classificados em cinco categorias: fungicidas, inseticidas, bactericidas e herbicidas. Além disso, sua toxicidade é avaliada com base na Dose Letal Média (DL50), que indica a quantidade do ingrediente ativo (mg/kg de peso corporal) necessária para causar a morte de 1/2 dos animais de teste. Com essas informações, são estabelecidas medidas de segurança para que minimizem os impactos à saúde humana. Com base na toxicidade, os produtos são classificados em quatro categorias: extremamente tóxico (vermelho), altamente

tóxico (amarelo), medianamente tóxico (verde) e pouco tóxico (azul) (EMBRAPA, 2021).

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2021), os pesticidas, inseticidas, fungicidas são produtos químicos que têm como função eliminar pragas, protegendo as culturas e favorecendo para o desenvolvimento das plantas. A problemática em questão é o malefício que este material sintético pode causar a longo prazo, tais como “intoxicação alimentar, ambiental e ocupacional” (Oliveira *et al.*, 2021, p. 3). Rachel Carson foi uma precursora na luta contra a utilização dos *Diclorodifeniltricloroetano* (DDT), em seu livro “Primavera Silenciosa” trazendo grandes críticas a utilização deste insumo caracterizando-a como uma das principais obras que auxiliou na regulamentação da utilização do *DDT* (Nunes *et al.*, 2021).

Desse modo, investigou-se alternativas como espécies de microrganismos que minimizem os malefícios causados pelo uso exagerado e errôneo dos pesticidas, que tragam menos prejuízo à saúde e ao meio ambiente. Assim sendo, buscou-se no decorrer da pesquisa resposta para o seguinte questionamento: Como amenizar o uso de agrotóxicos no combate às doenças do feijão? Para responder a esta pergunta foi utilizada a planta carnívora bem como, bactérias e/ ou fungos que as compõem, para auxiliar no combate à doença, considerando os poucos estudos com aplicação na área da agricultura.

Portanto, os bioinsumos, conhecidos por serem produzidos à base de microrganismos, bactérias, vírus e extratos, surgem como forma inovadora, natural, tecnológica e sustentável (EMBRAPA, 2021). Por serem produtos naturais, pretendem garantir um produto eficaz e econômico à sociedade, bem como, uma produção menor de resíduos ao meio ambiente. Para o desenvolvimento destes produtos, a EMBRAPA (2022, p.508) destaca que “[...] inicia-se pelas etapas de confirmação da identidade taxonômica, preservação adequada do microrganismo, produção *in vitro* ou *in vivo*, estabilização e armazenamento e terminando pelos testes para confirmação de sua eficácia”.

Outrossim, verificou-se que a utilização de plantas carnívoras como ferramenta para elaboração de fungicidas e ou inseticidas se apresenta como uma interessante alternativa para um manejo integrado de pragas e doenças. Essas plantas possuem forte potencial biológico, fomentando, desta maneira, o avanço tecnológico e tornando os produtos mais acessíveis e sustentáveis para os produtores. Além disso, os conhecimentos gerados poderão subsidiar um avanço na

abordagem do conhecimento na formação de estudantes da educação profissional da área agrícola e inspirar a educação básica.

Perante o exposto, teve-se como objetivo geral de pesquisa: Explorar o potencial biotecnológico dos microrganismos associados à planta carnívora com ação antifúngica a fim de agir no combate a doença *Sclerotinia sclerotiorum*. Para tanto pretendeu-se cumprir o mesmo seguindo os objetivos específicos a seguir:

1. Utilizar plantas carnívoras pertencentes à família Droseraceae como potencial bio-inovador no combate de pragas na agricultura;
2. Analisar o perfil da microbiota da planta carnívora do gênero *Dionaea*.
3. Elaborar uma sequência didática para o ensino de microbiologia.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo teórico, atento ao exposto do referencial teórico, foram trabalhados conceitos como: feijão, contextualizando sobre sua importância na alimentação e economia brasileira; pragas e doenças agrícolas e o seu controle para a cultura do feijoeiro; plantas carnívoras e bioprospecção de plantas conforme categorizado abaixo para melhor compreensão do assunto.

2.1 Feijão

O feijão conhecido popularmente como carioca ou feijão-comum, é considerado um vegetal, pertence à família das Fabaceae, na qual uma vagem se abre em duas partes com sementes presas. Seus grãos são conhecidos por fornecerem principalmente proteína (21,4%), carboidratos (62,6%) e ferro (5,07%) necessários à alimentação (Gonzaga, 2014 a). Para uma alimentação balanceada, o ser humano necessita consumir em média 1500 calorias por dia possuindo como parâmetro 60g de proteína, 310 g de carboidrato, 60 g de gordura, 25 g de fibra e 7,6 g de ferro. Por dia, o feijão proporciona a quantidade diária 4,5 g de proteína e o total de 70 calorias quando ingerido em duas refeições.

Esta leguminosa apresenta dois grupos, sendo o grupo I caracterizado pela presença do feijão-comum pertencente à espécie *Phaseolus vulgaris* L, e grupo II caracterizada pelo feijão-caupi da espécie *Vigna unguiculata* (Gonzaga, 2014 b).

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence ao gênero *Phaseolus*, uma planta herbácea, ou seja, plantas que apresentam caule mais flexível com espécies geralmente mais sensíveis a mudanças no ambiente, tais como variações na temperatura e ou umidade do solo. Possui folhas simples ou primárias que são opostas uma à outra, e folhas compostas formadas por três folíolos. Seu desenvolvimento é dividido em duas fases, a vegetativa onde ocorre a germinação, emergência, folhas primárias (local em que boa parte das folhas estão abertas), primeira trifoliolada e terceira trifoliolada. A outra fase é reprodutiva na qual, ocorre a pré-floração, floração, formação de vagens, enchimento das vagens e maturação (De Castro, 2018).

Em 2021 o Brasil ocupou o terceiro lugar entre os maiores produtores de feijão no mundo, com 2.899.864 toneladas, atrás apenas da Índia (Coelho, 2021).

No Brasil, os principais Estados produtores são Paraná, Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás e Bahia, produzindo um total de 904,2 mil toneladas de feijão em 2023 (Coêlho, 2023).

TABELA 1 - Quantidade de feijão produzida em toneladas por ano

Pais/ produção	Ano 2020	Ano 2021	Ano 2022	Ano 2023
Brasil	3.036.254	2.900.805	2.842.395	2.899.043
Valor da produção (mil reais)	10.780.677	12.051.858	12.374.460	11.710.972

Fonte: IBGE - Produção Agrícola Municipal

Na tabela 1 estão apresentados dados disponibilizados pelo IBGE sobre a quantidade produzida em toneladas entre os anos de 2020, 2021, 2022 e 2023 no Brasil, considerando a primeira, segunda e terceira safra de cada ano. Analisando os dados revelados acima, observa-se um crescimento contínuo na produção até o período de 2023.

Com base nas figuras 1, 2 e 3, que destacam os estados com maior produção de feijão, foi possível realizar uma análise comparativa da área plantada (em hectares), da quantidade produzida (em toneladas) e do rendimento médio por hectare. Dessa forma, constata-se que o estado do Paraná é o maior produtor de feijão no Brasil, destacando-se pela produção anual quanto pela área plantada, com um crescimento considerável entre 2020 e 2022.

Variável - Área plantada (Hectares)			
Produto das lavouras temporárias - Total			
Brasil e Unidade da Federação	Ano		
	2020	2021	2022
Brasil	2.769.885	2.766.276	2.714.611
Bahia	355.306	340.963	324.909
Minas Gerais	324.062	311.020	292.344
São Paulo	90.144	82.840	84.109
Paraná	382.677	429.534	475.234
Mato Grosso	215.761	241.336	177.522
Goiás	137.681	139.194	127.597

Fonte: IBGE - Produção Agrícola Municipal

Figura 1- Figura com variável da área plantada, área colhida, quantidade produzida e rendimento médio do feijão.

Fonte: IBGE- Produção Agrícola Municipal – PAM - (2023)

Verificando os dados estatísticos da Figura 1, observa-se que o Estado do Paraná em 2022 obteve o melhor resultado em área plantada por hectare. A figura 3 indica que apesar dos resultados positivos, quando se considera o rendimento em quilo pela área plantada, o Paraná esteve abaixo de São Paulo, Goiás e Minas Gerais. Na figura 4 é possível concluir que o Paraná continua se destacando na quantidade produzida de feijão em toneladas, indicando a grande importância deste Estado para a manutenção do PIB brasileiro.

Variável - Área colhida (Hectares)			
Produto das lavouras temporárias - Total			
Brasil e Unidade da Federação	Ano		
	2020	2021	2022
Brasil	2.687.605	2.613.638	2.607.616
Bahia	336.117	326.544	306.080
Minas Gerais	314.730	306.420	287.949
São Paulo	90.124	82.723	84.079
Paraná	382.631	409.879	474.665
Mato Grosso	215.761	241.336	177.522
Goiás	134.379	139.194	127.527

Fonte: IBGE - Produção Agrícola Municipal

Figura 2 - Figura com variável área colhida, quantidade produzida e rendimento médio do feijão.

Fonte: IBGE- Produção Agrícola Municipal – PAM - (2023)

Variável - Rendimento médio da produção (Quilogramas por Hectare)			
Produto das lavouras temporárias - Total			
Brasil e Unidade da Federação	Ano		
	2020	2021	2022
Brasil	1.130	1.110	1.090
Bahia	576	502	460
Minas Gerais	1.757	1.752	1.651
São Paulo	2.835	2.776	2.793
Paraná	1.633	1.540	1.545
Mato Grosso	1.554	1.473	1.533
Goiás	2.630	2.451	2.683

Fonte: IBGE - Produção Agrícola Municipal

Figura 3 - Valor do rendimento médio da produção de feijão.

Fonte: IBGE- Produção Agrícola Municipal – PAM - (2023)

Variável - Quantidade produzida (Toneladas)			
Produto das lavouras temporárias - Total			
Brasil e Unidade da Federação	Ano		
	2020	2021	2022
Brasil	3.036.254	2.900.805	2.842.395
Bahia	193.630	164.055	140.837
Minas Gerais	553.065	536.826	475.364
São Paulo	255.490	229.660	234.837
Paraná	624.801	631.397	733.319
Mato Grosso	335.345	355.501	272.056
Goiás	353.457	341.189	342.170
Fonte: IBGE - Produção Agrícola Municipal			

Figura 4 - Variação da quantidade produzida em toneladas
Fonte: IBGE- Produção Agrícola Municipal – PAM - (2023)

Este cenário destaca a importância da atual produção de feijão, que está diretamente ligada à comercialização e movimentação de grande parte significativa da economia. O Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) informou que nos primeiros quatro meses do ano de 2023 o país exportou cerca de 37 mil toneladas de feijão, gerando aproximadamente cerca de R\$144,5 milhões em receita. Além da quantidade produzida e do valor de mercado, esse grão possui grande relevância para a saúde, devido à alta concentração do aminoácido lisina. A lisina é essencial na formação de colágeno, crucial para a saúde da pele, ossos e tecido conjuntivo. Além disso, desempenha um papel vital no combate a infecções, fortalecendo o sistema imunológico e a robustez dos ossos (Rachid, 2023).

2.2 Pragas, doenças agrícolas e controle do feijão

Pragas em cultivos na lavoura podem ocorrer em todas as fases de crescimento das plantas. No feijão, por exemplo, podem afetar o sistema radicular, brotos e grãos. Além disso, as pragas carregam vetores que podem auxiliar na transmissão de viroses e de fitopatógenos, comprometendo a produção na lavoura (EPAGRI, 2020).

Quintela (2001), definiu os tipos de pragas que podem estar associados a diferentes espécies de feijão as quais são agrupadas em quatro categorias: pragas do solo, pragas das folhas, pragas das vagens e pragas de grãos e /ou sementes armazenadas. Alguns agentes relacionados às pragas da lavoura podem ser artrópodes (insetos e ácaros) tais como: Largata-elasma (*Elasmopalpus lignosellus*),

Vaquinha-verde (*Diabrotica speciosa*), Cigarrinha-verde (*Empoasca kraemeri*), Largata-do-velho-mundo (*Helicoverpa armigera*), (Caruncho-mexicano-do-feijão (*Zabrotes subfasciatus*) e doenças como Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), Mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) e Mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) (EPAGRI, 2020).

O principal problema no combate às pragas e doenças na agricultura está nas medidas de controle adotadas, que ainda dependem amplamente do uso de agrotóxicos e/ou carecem de parâmetros eficientes para um manejo sustentável. Essa problemática é particularmente relevante para culturas de importância econômica, como o feijão, que desempenha um papel central na nutrição básica para a população brasileira.

Segundo o Instituto Brasileiro de Feijão e Pulses (IBRAF), em 2021, o Brasil exportou mais de 200 mil toneladas de feijão. Apesar desse volume expressivo, o potencial da cultura se revelou ainda maior em 2024, quando as exportações alcançaram 247 mil toneladas, gerando uma receita de US\$259 milhões. Esses valores ressaltam a relevância econômica do feijão para o PIB brasileiro e reforçam a necessidade de desenvolver práticas de manejo e controle mais eficazes e sustentáveis (IBRAF, 2024), com destaque para o uso de produtos de base biológica.

2.2.1 Mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) no feijoeiro

Sclerotinia sclerotiorum, conhecido popularmente como mofo branco, é uma das mais graves doenças que afetam a produção do feijão, sendo notória pelo seu difícil controle. Este patógeno ataca mais de 400 espécies de hospedeiros entre as quais se destacam as leguminosas e oleaginosas como feijão, algodão, soja e girassol (Gorgen, 2009). Esse microrganismo infecta os plantios de feijão no outono-inverno, período em que as temperaturas são mais amenas. Nessa época, a alta umidade e as oscilações térmicas favorecem o desenvolvimento do mofo (Fernandes *et al.*, 2013).

De acordo com Smolínska e Kowalska (2018), a *Sclerotinia sclerotiorum* pode se reproduzir tanto sexuada quanto assexuadamente. Durante seu ciclo de vida, há formação de um micélio branco, a partir do qual se desenvolvem os escleródios. Esses, por sua vez, originam hifas que produzem apotécios, responsáveis pela

liberação dos ascósporos, estruturas reprodutivas típicas dos fungos da classe Ascomycetos. Os ascósporos são gerados dentro de uma estrutura denominada asco (saco). A Figura (5) ilustra o ciclo de vida do mofo-branco no plantio de feijão.

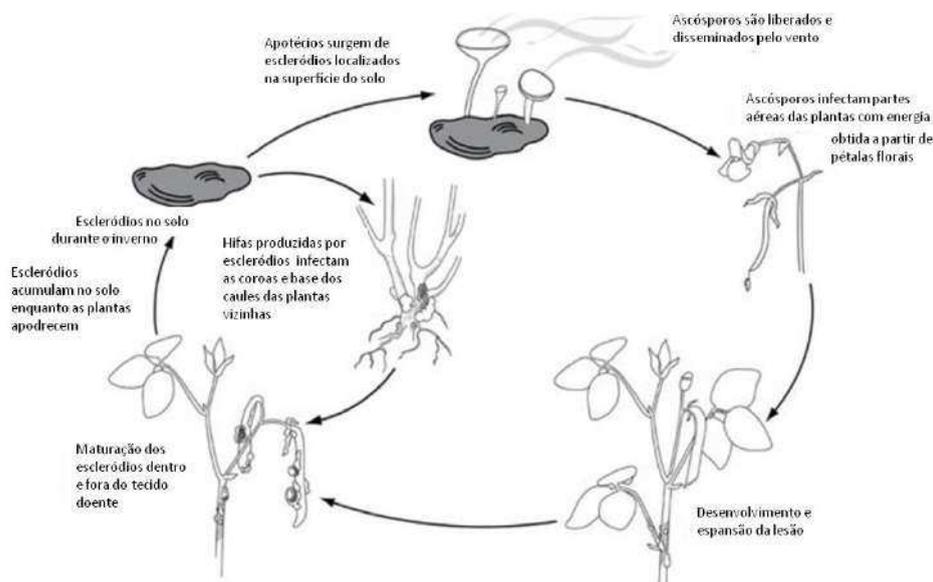


Figura 5 - Ciclo de vida do mofo-branco causado pelo patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* no feijão.

Fonte: Link e Johnson, 2019.

Os primeiros sinais da manifestação do mofo ocorrem com a germinação dos ascósporos, que dependem da umidade e da presença de tecidos necróticos, como folhas caídas. A infecção também pode ocorrer quando folhas contaminadas com ascósporos entram em contato com o solo úmido ou com folhas que contêm escleródios (Bolton, 2006). Com o avanço da doença, surgem lesões encharcadas, acompanhadas de branqueamento e degradação dos tecidos vegetais (Smolínska & Kowalska, 2018). Demonstrado na figura 6, a manifestação da doença na vagem da planta.



Figura 6: Aparição do mofo-branco em plantio de feijão
Fonte: Rehagro,com,br

Os escleródios possuem uma estrutura resistente, caracterizada por um anel externo de melanina preta que envolve a parede celular (Smolínska; Kowalska, 2018). Esse mecanismo resulta no surgimento de pequenas lesões no pecíolo das plantas, que gradualmente se expandem para o caule, apresentando coloração escura (Bolton). A melanina, responsável por essa coloração, forma um composto escuro e resistente à degradação química, atua protegendo o fungo contra diversas condições ambientais adversas, como a ação de microrganismos antagonistas, metais pesados e enzimas degradativas (Smolínska; Kowalska, 2018). Além disso, o micélio presente pode impactar negativamente as plantas vizinhas aos escleródios, comprometendo seriamente todo o cultivo.

2.2.2 Controle do *Sclerotinia sclerotiorum*

De acordo com a Embrapa (2021), o consumo global de agrotóxicos atingiu aproximadamente 2,5 milhões de toneladas por ano. No Brasil, o consumo é de cerca de 300 mil toneladas, sendo mais concentrado nas regiões Sudeste, que representa 38% do total, e Sul, com 31%. Entre os estados, São Paulo lidera com 25% do consumo, seguido pelo Paraná, com 16%. No cultivo de feijão, o controle do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (mofo-branco) frequentemente utiliza pesticidas como Carbendazim, Fluazinam, Procimidona e Procloraz. No entanto, mesmo com o uso

desses produtos, a eficiência do controle é limitada. Isso ocorre devido ao custo elevado do manejo e à complexidade biológica do mofo-branco, que apresenta diferentes fases de desenvolvimento ao longo do ciclo da cultura, dificultando sua erradicação completa (Zhu et al., 2022). Diante da baixa eficácia dos produtos químicos, algumas empresas têm desenvolvido biocontroles, que se mostram mais eficientes no combate a patógenos do solo (Abdullah et al., 2008a). Para aprimorar o controle dessas ameaças, os biocontroles reduzem a poluição ambiental e preservam os recursos naturais, elevando a qualidade dos produtos agrícolas.

A manipulação de *Bacillus spp.*, por exemplo, apresenta-se como uma estratégia eficaz, com um alto potencial da taxa inibitória do mofo-branco correspondendo a 46% a 76%. Dentre as espécies, destaca-se *Bacillus* 100% (Zhu et al., 2022). O *Bacillus amyloliquefaciens* VB7 foi capaz de inibir a atividade fúngica por meio da produção de proteína α -1,3-glucanase, colonizando a rizosfera e raiz da planta, no entanto, em casos mais agravado da doença, as medidas de controle com VB7 não obteve resultados eficazes no feijão (Abdullah et al.; 2008b). Além disso, bactérias com ação antagonista também são capazes de inibir a germinação de ascósporos, na qual atuam na ação antimicrobianas, por compostos como pioluteorina, fenazinas, cianeto e enzimas que podem lisar a celulose, quitinase proteases e beta-glucanase (Smolínska, Kowalska; 2018a).

Diferentes fungos como *Alternaria alternata*, *Coniothyrium minitans*, *Drechslera sp*, *Fusarium oxysporum*, *Microsphaeropsis ochracea*, *Penicillium pallidum*, *Trichoderma asperellum* e *Trichoderma virens*, possuem ação de micoparasitismo contra o *S. sclerotiorum* atuando diretamente no fitopatógeno por meio da infecção, penetração e degradação enzimática destes organismos (Smolínska; Kowalska, 2018b). Dentre os citados, as espécies do gênero *Trichoderma* se destacam como fortes aliadas no controle que vem sendo forte aliado ao controle de doenças agrícolas, com capacidade multifuncional a plantas tais como a competição e parasitismo de patógenos e aumento na disponibilidade de nutrientes (EMBRAPA, 2023).

2.3 Plantas carnívoras

As plantas carnívoras são conhecidas por capturar suas presas e obter delas a nutrição adequada para sua sobrevivência. Habitam em solo pobre de nutrientes,

com presença de sol pleno, estando presente principalmente na vegetação campestre bem como em ambientes pantanosos. Originam-se das angiospermas, ou seja, descendem de ancestrais não carnívoros e podem ser encontradas nas quatro principais linhagens de angiospermas como Asterids, Core Eudicots, Monocotiledôneas e Rosids (Ellison; Gotelli, 2009a).

Por sua vez, algumas espécies de plantas carnívoras não apresentam raízes verdadeiras, deste modo, modificações ocorrem em suas folhas para melhor desenvolver a função de suas armadilhas, sendo diferenciadas por armadilhas passivas e ativas (Hedrich; Fukishina, 2021a).

Charles Darwin foi o precursor no campo das plantas carnívoras, tornando-se a primeira pessoa a publicar um livro sobre elas denominado de “*Plantas Insetívoras*” (Hedrich; Fukishina, 2021b). Observou que a *Drosera* possui folhas com presença de tricomas glandulares que secretam mucilagem para a digestão de suas presas, uma vez que passaram por uma adaptação para se nutrir de insetos, pois se desenvolvem em solos pobres de nutrientes, como o nitrogênio (Martins, 2019).

Por meio de experimentos bem delimitados, entendeu-se que essas plantas dissolvem a proteína animal por meio de enzimas que possuem ação semelhante à pepsina e proteases (Ellison; Gotelli, 2009b). Apresentam atividade biológica diversificada indicando grande potencial biológico para diferentes trabalhos e aplicações, não somente na medicina, bem como atividades antibacterianas (Wójciak *et al.*, 2023a).

As plantas carnívoras geralmente se desenvolvem em ambientes onde o solo é de baixa disponibilidade de nutrientes, principalmente, nitrogênio, fósforo e potássio. No entanto, para suprir a demanda nutricional, a carnivoría é um mecanismo adaptativo que evoluiu ao longo dos anos (Adamec, 1997). Desse modo, plantas como as *Droseras* desenvolvem terminações de suas folhas em armadilhas, na qual muitas reconhecem os animais herbívoros que se aproximam quando os pelos entram em contato com a armadilha, fazendo-a fechar rapidamente. Neste processo, inicia-se a digestão onde os nutrientes da presa são absorvidos, só se abrindo novamente com o término de sua reserva (Hedrich; Fukishina, 2021c).

O naturalista francês Auguste de Saint-Hilaire, foi o primeiro pesquisador a investigar as espécies de *Drosera* no Brasil, sendo o responsável por publicar ao todo treze táxons sendo: *D. ascendens*, *D. communis*, *D. graminifolia*, *D. hirtella*, *D. hirtella var. lutescens*, *D. marítima*, *D. montana*, *D. parvifolia*, *D. sessilifolia*, *D.*

spiralis, *D. tomentosa*, *D. tomentosa* var. *glabrata* e *D. villosa*. Com o decorrer do tempo algumas modificações foram realizadas, nas quais até a presente busca observa-se a atualização para quatorze táxons realizada por Correa e Silva em 2005.

Cordeiro (2001), afirma que o Brasil é o segundo país do mundo que possui o maior número de espécies de plantas carnívoras, havendo mais de 80 delas, descritas em seis gêneros: *Brocchinia*, *Catopsis*, *Drosera*, *Genlisea*, *Heliophora* e *Utricularia*.

As plantas pertencentes à família Droseraceae representam as insetívoras nativas do Brasil, sendo representada pelo gênero *Drosera* L. em que alguns são monotípicos, como é o caso das *Dionaea muscipula*. As Droseras apresentam características raramente aquáticas, folhas simples, lâmina foliar modificada em armadilha que facilitam na captura de suas presas. Apresentam caule curto ou alongado, raramente modificado, folhas alternadas, ou raramente verticiladas. Além disso, este gênero possui distribuição em quase todo território brasileiro (Silva; Giulietti, 1997). Plantas como Droseraceae e Nepenthaceae tem sido utilizada na medicina e cultura popular a muito tempo na qual trata diferentes distúrbios, possuindo potencial antiinflamatório e antimicrobiano, tudo isto indica grande capacidade biológica para diferentes trabalhos e aplicações (Wójciak *et al.*, 2023b).

Brandon (2024) destaca que as plantas carnívoras abrigam uma diversidade de microrganismos endofíticos, especialmente no gênero *Drosera*. Isso sugere que esses microrganismos estão presentes tanto nas partes aéreas quanto subterrâneas das plantas, desempenhando diferentes funções nos tecidos vegetais. Dentre os endófitos fúngicos identificados, destacam-se *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium allacinum* e *Didymocyrtis cladoniicola*. Além disso, há indícios de que esses microrganismos desempenham um papel importante no processo de carnivorismo das plantas, reforçando a necessidade de mais estudos para ampliar o conhecimento sobre as interações entre plantas carnívoras e seus microrganismos associados.

Segundo Wójciak (2023), as plantas carnívoras possuem cerca de 170 metabólitos secundários, são compostos naturais produzidos pelas plantas contra estresses bióticos e abióticos. Os metabólitos secundários desempenham um papel crucial na atração, digestão e captura dos nutrientes das presas, na qual, protege e atua contra polinizadores ou herbívoros. Os compostos encontrados foram ácidos

fenólicos e derivados, flavonóides (incluindo antocianinas), naftoquinonas (incluindo tetralonas acetogênicas), compostos orgânicos voláteis e fenólicos vegetais (Tienaho *et al.*, 2021). Estes fenólicos são sintetizados a partir de carboidratos no decorrer do crescimento da planta bem como, na defesa contra condições de estresse (Wójciak, *et al.*, 2023c).

Diante disso, observou-se que espécies como *Di muscipula* e plantas do gênero *Drosera* são fáceis de propagar e induzir em cultivo *in vitro*, indicando como são valiosas para investigações biológicas e fitoquímicas. Os metabólitos identificados nestas foram: gálico, clorogênico, protocatecuico, ferúlico, hidroxibenzoico, salicílico, cafeico, sinápico vanilina, cianidina e outros (Kováčik, Klejdus, Repčáková, 2012).

2.4 Bioprospecção de bactérias e fungos

Segundo Júnior (2011, p.2) a bioprospecção se faz “[...] relevante para uma ampla gama de setores e atividades, incluindo biotecnologia, agricultura, nutrição, indústria farmacêutica, biorremediação, biomonitoramento e produção de combustível por meio de biomassa”. A partir da bioprospecção, é possível realizar a busca por organismos, enzimas, extratos, compostos e moléculas favorecendo o desenvolvimento de produtos comerciais com base em plantas, bactérias, fungos ou protozoários. Com o intuito de transformar recursos naturais em ganhos econômicos, a fim de, potencializar o desenvolvimento científico e tecnológico, agregando valor aos bens provenientes da biodiversidade brasileira.

De acordo com Silva *et al.*, (2020) os microrganismos presentes em plantas vem sendo cada vez mais estudados justamente por demonstrarem capacidade de produzir substâncias com ação antibacteriana, antioxidante e por vezes tóxica. O arbusto nativo *Cordia verbenácea*, oriundo da mata-atlântica, por exemplo, possibilitou a produção de um anti-inflamatório, não se esquecendo da própria penicilina descoberta na Inglaterra por Alexander Fleming, no qual foi desenvolvida a partir de fungos (Júnior, 2011). Todos estes feitos ilustram a grande potência da bioprospecção para pesquisa e desenvolvimento.

Investigações potenciais vêm sendo realizadas para observar a capacidade existente nas plantas, em principal os organismos endofíticos que vivem no caule, raízes e folhas sem causar danos à planta em si, podendo estes ser caracterizados por fungos ou bactérias (Torres *et al.*, 2022). Em especial tem-se buscado estes

organismos essencialmente pela ação bio-controladora de plantas e por propagar um bom crescimento vegetal, além de possibilitar o encontro a enzimas e ácidos orgânicos com interesse industrial (Torres *et al.*, 2022).

Segundo Morandi *et al.* (2024), a busca por microrganismos associados às plantas, como os da filosfera, rizosfera e os endofíticos, tem se mostrado altamente benéfica, pois esses organismos contribuem significativamente para a saúde vegetal. Isso ocorre por meio da produção de substâncias bioativas, incluindo antibióticos voláteis e não voláteis. A filosfera abriga microrganismos capazes de tolerar a radiação ultravioleta e estresses osmóticos, como bactérias, arqueas, fungos filamentosos e leveduras.

Já os organismos presentes na rizosfera desempenham um papel essencial na atividade microbiana característica desse ambiente, influenciada pela secreção de compostos, como exsudatos, que incluem enzimas, mucilagem e outros metabólitos. Por fim, os microrganismos endofíticos, geralmente encontrados nas folhas, ramos e raízes, colonizam as plantas sem causar danos à hospedeira. Esses microrganismos se destacam por sua atuação como agentes de biocontrole de fitopatógenos, além de auxiliarem no crescimento e enraizamento das plantas (Morandi *et al.*, 2024).

De modo geral, a bioprospecção traz uma vasta gama de aplicabilidade uma vez que auxilia na produção de fármacos, produtos agrícolas e medicamentos com o objetivo de produzir insumos sustentáveis sem agredir o meio ambiente e a saúde humana. Não se esquecendo que estes recursos nacionais auxiliam também na movimentação econômica, uma vez que a matéria-prima dos insumos advém da natureza.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A presente seção busca nortear a execução desta pesquisa que foi desenvolvida a partir de sua natureza aplicada, seus objetivos, forma de abordagem e procedimentos técnicos. A metodologia foi de caráter bibliográfico, seguindo o método hipotético-dedutivo, na qual foi abordada de forma qualitativa e quantitativa. Segundo Rampazzo (p. 53., 2002), uma pesquisa bibliográfica procura explicar um problema a partir de referências teóricas publicadas em livros, revistas etc, deste modo, buscou-se realizar estas análises por meio do Google Acadêmico, Periódicos Capes e Google, onde se realizou pesquisas presente no referencial, no qual as buscas foram realizadas a partir das seguintes palavras-chaves: feijão, plantas carnívoras, microrganismos, mofo-branco, *Sclerotinia sclerotiorum*, bioprospecção. A partir deste método e das leituras dos resumos foram selecionados os trabalhos que mais se encaixavam com o tema.

Para Gil (2009), o método hipotético-dedutivo busca desenvolver hipóteses a partir de evidências empíricas.

Quando os conhecimentos disponíveis sobre determinado assunto são insuficientes para a explicação de um fenômeno, surge o problema. Para tentar explicar a dificuldade expressa no problema, são formuladas conjecturas ou hipóteses. Das hipóteses formuladas, deduzem-se consequências que deverão ser testadas ou falseadas (Gil, 2008, p.12).

Desta forma, para provar se a hipótese está de fato correta, deve-se realizar testes a partir da identificação de uma problemática, definição de hipóteses, coleta de dados e averiguação do falseamento ou não. Assim, este método não parte de verdades absolutas, utiliza-se a testagem, experimentação e observação para refutar as hipóteses ou a não rejeição da mesma. Quando algo é rejeitado reformula-se as hipóteses dando início a novas observações.

Também foi utilizada a tipologia qualitativa que visa atribuir resultados e significados filosóficos, pois resulta de uma base teórica. Essa está atrelada a abordagem qualitativa por meio de (anotações de laboratório, observação, dedução). Já a quantitativa se instrumenta em dados estatísticos ao qual remete a numerologia. Esta informa os dados por meio de equações, anotações, mensurações, ou quaisquer outros meios que possam validar amostras por análises

numéricas, onde realizou-se o estabelecimento de categorias, codificação e análise estatística dos dados (Gil, 2008).

Já como classificação de pesquisa, esta se encaixou como explicativa pois, tem o intuito de identificar fatores determinantes para fenômenos aproximando o conhecimento da realidade, explicando a razão e o porquê das coisas se aprofundando principalmente na parte de observação na qual buscou-se explicar de forma esmiuçada o porquê de cada ocorrido. Com tudo, houveram fases de pesquisa exploratória, uma vez que, segundo Gil (2002), visa proporcionar uma maior familiaridade com o problema a fim de aprimorar o tema ou novas descobertas, com o qual envolve principalmente o levantamento bibliográfico.

3.1 Procedimentos da Pesquisa

Para o desenvolvimento desta pesquisa foi utilizado plantas carnívoras do gênero *Dionaea muscipula* (Figura 7) comprada no mercado da cidade de Ponta Grossa - PR. Primeiramente foi organizada uma bancada experimental no Laboratório de Sustentabilidade e Inovação Tecnológica (LASIT) no campus Ponta Grossa da UTFPR, onde o objeto a ser estudado foram as plantas carnívoras da espécie *Dionaea muscipula*. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente aleatorizado, composto de 9 tratamentos extraídos das partes vegetativas (raiz, folha, vênus e planta toda) da planta carnívora da espécie *Dionaea muscipula* e três repetições, sendo que, cada repetição foi composta por 3 placas de Petri, e como testemunha utilizou-se o isolado da *Sclerotinia*, estes foram avaliados durante sete dias.

Os dados experimentais obtidos nos testes de pareamento direto foram analisados estatisticamente no programa RStudio (versão 4.3.1) (R Core Team, 2021), utilizando o pacote ExpDes. Inicialmente, a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk (5% de probabilidade). Em seguida, realizou-se a análise de variância pelo teste F, considerando um delineamento inteiramente casualizado (DIA) para avaliar os efeitos dos tratamentos e do período de análise. Quando significativa, os dados foram complementados pelo teste de Tukey (5% de probabilidade) para identificar diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos.

3.1.1 Aquisição de plantas carnívoras e preparação

Após a aquisição das amostras, estas foram imediatamente transportadas ao laboratório, onde foram preparadas e avaliadas. O processo de preparo seguiu a metodologia adaptada de Barbosa *et al.*, (2010). Inicialmente, realizou-se a limpeza das plantas com água ultrapura, e suas principais partes foram separadas: raiz, região responsável pela atração das presas (glândulas secretoras) e a área onde ocorre a digestão (Figura 7).



Figura 7: Planta carnívora espécie *Dionaea muscipula*, comprada no mercado de Ponta Grossa.

Fonte: A autora, 2025.

Após a limpeza, as amostras foram submetidas à secagem em estufa de secagem com circulação de ar (TECNAL) na temperatura de 50 °C por 2 horas favorecendo a seleção de microrganismos termorresistentes. Além disso, as vidraria e materiais utilizados na parte experimental foram devidamente higienizados e esterilizados em autoclave (PRISMATEC) a 120 °C e pressão de 1 atm (760 mmHg).

Para a preparação dos extratos aquosos, o material foi pesado em uma balança analítica (SHIMADZU), na qual foi padronizada com base na metodologia de Barbosa *et al.*, (2009). Foram utilizados 9 g de material da parte vênus para 90 mL de água ultrapura e 0,09 g de peptona, seguindo a mesma proporção para as demais partes da planta (pecíolo, raiz e planta inteira) (Figura 8).

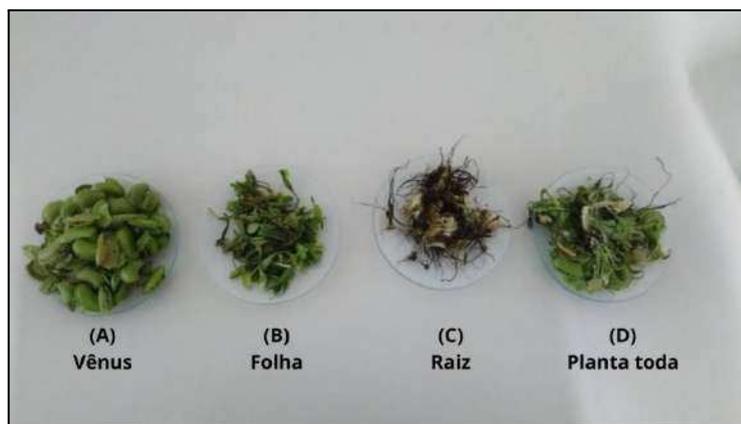


Figura 8 : Divisão das partes da planta *Dionaea muscipula*: (a) vênus, (b) folha, (c) raiz e (d) toda a planta. Para cada parte pesou-se nove (9) gramas.

Fonte: A autora, 2025.

As partes individuais da planta foram maceradas com o auxílio de um almofariz e pistilo. O material triturado foi então mantido sob agitação em água peptonada a 0,1%. Como o material precisava ser mantido sob agitação foram adicionados 50 mL extras de água ultrapura para facilitar a movimentação do peixinho no meio aquoso. Após esse processo, iniciou-se a extração, que ocorreu à temperatura ambiente (25 °C) por 2 horas.

Ao final da extração, os Erlenmeyers foram transferidos para a câmara de fluxo laminar (PACHANE), onde foram realizadas as inoculações. Com o auxílio de um becker e micropipetas, foram feitas diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . A partir dessas diluições, 100 μ L foram retirados com micropipetas e inoculados em placas contendo meios de cultura para o crescimento de microrganismos anaeróbicos e aeróbicos. Todos os experimentos foram conduzidos, no mínimo, em triplicata. Em seguida, utilizando uma alça de Drigalski, os meios de cultura foram inoculados.

As placas foram incubadas em estufa B.O.D (LIMATEC) por 7 dias, com acompanhamento diário do crescimento microbiano. Durante esse período, 36 placas de Petri foram analisadas, contendo culturas mistas (Figura 11). A partir dessas culturas, os microrganismos foram isolados para identificação, resultando na obtenção de culturas puras (Figura 12).

Para o cultivo em meio sólido, utilizaram-se meios para o crescimento de fungos e leveduras como o ágar Batata Dextrose (BDA), ágar Sabouraud Dextrose (SAD), e meio Caldo de Cérebro e Coração (BHI), utilizado para o crescimentos de bactérias e fungos. As placas foram incubadas em B.O.D. (LIMATEC) a 25 °C por 5

dias. As placas de Petri foram preparadas com meio de cultura sólidos (BDA, BHI e SDA).

3.1.2 Isolamento de microrganismos

A partir dos meios de cultura previamente preparados, foram observadas culturas mistas contendo fungos e bactérias. Para isolamento dos microrganismos, utilizou-se uma alça de níquel e/ou uma alça de repicagem, transferindo-os para placas de Petri, preparados para as etapas subsequentes. Todos os experimentos foram realizados, no mínimo, em triplicata, garantindo a reprodutibilidade e a confiabilidade dos resultados.

Após a inoculação e o isolamento das bactérias, foi realizada a coloração de Gram para a devida classificação, considerando sua morfologia, patogenicidade e análise microscópica, conforme descrito por Madigan *et al.* (2016).

3.1.5 Pareamento direto

3.1.5.1 Teste de pareamento de culturas entre *Sclerotinia sclerotiorum* e os fungos isolados *Dionaea muscipula* em cultivo pareado

Para a realizar do teste de pareamento de culturas, foi empregado o método de cultura pareada em disco de ágar, conforme descrito por Dennis; Webster (1971). De acordo com essa metodologia, placas de Petri de 90 mm contendo meio de cultura BDA foram preparadas. Em uma das extremidades de cada placa, foi posto um disco de 9 mm contendo micélio de *Sclerotinia sclerotiorum*, obtido a partir de uma cultura pura. Na extremidade oposta, posicionou-se os agentes antagonistas contendo um disco do micélio dos fungos isolados da *Dionaea muscipula* (M1, M2, M3, M4, M5, M6) ambos a 0,5 cm de distância da borda da placa. Para os isolados bacterianos (BAC1 e BAC2) foram realizado risco na placa em posições opostas.

Os discos foram extraídos de culturas puras dos antagonistas e do fitopatógeno, ambos mantidos em cultivo por 7 dias. Para o controle, usou-se a cultura isoladas do patógeno e dos antagonistas, com o disco de cada micélio inserido no centro das placas individuais.. As placas foram incubadas em B.O.D a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas (Figura 9).

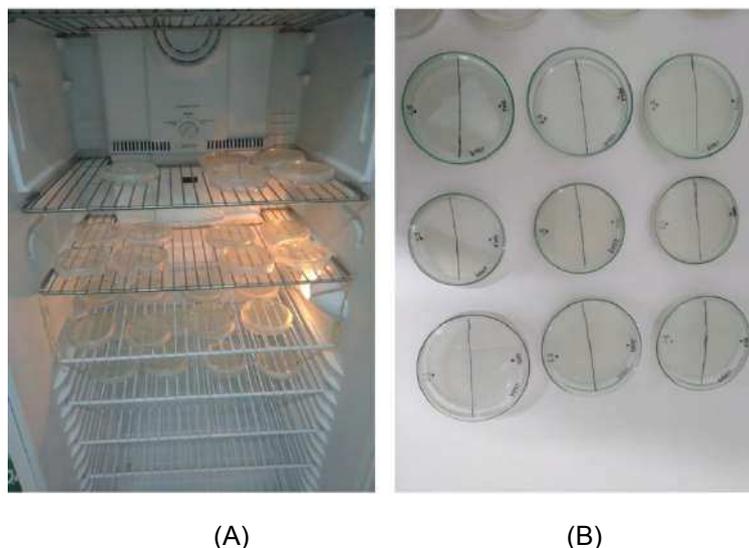


Figura 9: (A) Incubadora B.O.D. contendo placas de Petri submetidas ao teste de pareamento direto, com o objetivo de analisar a interação entre o antagonista e o patógeno. A imagem apresenta os cultivos em triplicata. (B) Triplicatas contendo discos de micélio com o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* e o isolado do tratamento M1 + *Sclerotinia sclerotiorum*. Linha ao centro ajuda a visualizar quando os isolados chegarem a 50% da placa.

Fonte: A autora, 2025.

O potencial antagonismo dos isolados foram avaliados em um intervalo de 24 horas até o 7º dia após a inoculação (Figura 9), realizando deste modo as medições do crescimento das colônias de *Sclerontinia sclerotiorum*. Para o cálculo da porcentagem de inibição micelial, aplicou-se a fórmula proposta pelos autores Mentem *et al.*, (1976), no qual:

$$\text{(Equação 1) \% inibição} = \frac{\text{crtest} - \text{crtrat}}{\text{crtest}} \cdot 100$$

Em que:

crtest= crescimento radial da testemunha;

crtrat= crescimento radial do tratamento.

3.1.7 Extração de DNA de fungos

Para a realização do protocolo da extração de DNA de fungos, utilizou-se da metodologia de Brandão *et al.*, 2019. Para a extração do DNA fúngico, iniciou-se removendo o micélio da colônia do fungo da placa de Petri e transferindo-o para um microtubo de 1,5 mL, onde foi macerado com auxílio de uma ponteira ou bastão de vidro. Alternativamente, caso o micélio esteja liofilizado, o pó pode ser transferido diretamente para o microtubo. Se o fungo tiver sido cultivado em meio líquido,

recomenda-se utilizar um pequeno volume de micélio em pó, cerca de 100 µL. Em seguida, adicionaram-se 500 µL de tampão de extração pH 8,0 (Tris-HCl 100 mM, EDTA 50 mM, NaCl 500 mM) e agitou-se a amostra por dois minutos em vortex. Após isso, acrescentaram-se 33 µL de Dodecil Sulfato de sódio (SDS) 20% e realizou-se nova agitação por dois minutos em vortex. A mistura deve ser incubada a 65 °C por 30 minutos em banho-maria, sendo agitada a cada dez minutos por 30 segundos em vortex. Posteriormente, adicionou-se 160 µL de acetato de potássio a 5 mM, seguido de nova agitação em vortex por dois minutos.

A amostra foi centrifugada a 14.000 rpm, em temperatura ambiente, por dez minutos, e o sobrenadante (400 µL) cuidadosamente transferido para um novo microtubo de 1,5 mL. Para a precipitação do DNA, adicionaram-se 330 µL de isopropanol, invertendo suavemente o tubo 50 vezes, seguido de uma nova centrifugação a 14.000 rpm por dez minutos.

O sobrenadante foi descartado com cuidado para não perder o *pellet*. Em seguida, adicionaram-se 500 µL de álcool 70%, centrifugou-se por 30 segundos (spin) e descartou-se o sobrenadante, repetindo esse procedimento mais uma vez. Após isso, adicionou-se 250 µL de álcool absoluto e centrifugou-se novamente a 14.000 rpm por cinco minutos. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* deixado para secar naturalmente por 40 a 60 minutos. Para ressuspensão do DNA, adicionaram-se 50 µL de tampão Tris-EDTA 1X e realizou-se leve batimento no fundo do tubo; finalmente, o DNA extraído foi armazenado em freezer a -20 °C até o momento do uso.

3.1.2 Análise de dados

A caracterização da pesquisa foi organizada utilizando uma abordagem qualitativa e quantitativa. Para a organização e as anotações dos dados desta pesquisa, foram realizadas de forma manual que preservaram as observações das amostras futuras.

A metodologia quantitativa foi realizada por observação da pesquisa experimental onde coletou os dados numéricos com o intuito de utilizá-los para mensurar os dados estatísticos juntamente com as deduções levantadas durante o processo (Moreira; 2008). A partir desta metodologia, foram utilizadas as anotações e quadros para catalogar as amostras, identificadas com etiquetas 1, 2, 3 ou mais,

diferenciando cada microrganismos. Isso permitiu identificar quais possuíam maior ação inibidora e/ou qual região da planta continha a maior quantidade de MO para utilização.

A primeira organização foi realizada por meio do método hipotético-dedutivo se fez o uso de hipóteses para resolver um problema a partir da observação de experimentos falseados, como também foi por caráter qualitativo, ao qual se apresenta em forma de anotações manuais e fotografias que foram organizadas em caderno separado para tal experimento. Outro meio de organização utilizado foi a observação do crescimento dos organismos presente na planta, seguido do isolamento destes e atuação do combate ao MB. Toda esta organização auxiliou a compreensão pela coleta de informações, aplicando deste modo a análise qualitativa (Gil, 2006). Foram utilizadas planilhas no programa excel, onde foi realizado o tratamento dos resultados estatísticos.

3.1.3 Aproximações com o ensino de biologia na educação básica

3.1.3 Aproximações com o ensino de biologia na educação básica

Após o processo de pesquisa experimental, desenvolveu-se uma sequência didática tendo como público professores que ministram aulas no ensino médio integrado ao ensino técnico em Agronomia. Segundo o Ministério da Educação (2014), no Ensino Médio integrado o aluno recebe a formação básica referente ao Ensino Médio e o profissional.

Na sequência didática, buscou-se atender aos objetos de conhecimento da Biologia, ao propor encaminhamentos metodológicos para a abordagem dos conteúdos sobre Reino Fungi, Bactérias e Protozoários, trazendo discussões sobre doenças causadas por fungos na agricultura. A pesquisa buscou contribuir também para a área de ensino, na qual, relacionou-se os assuntos com Biotecnologia, visando abordar questões referente a noções de doenças e pragas agrícolas bem como a importância de biocontroladores para o meio ambiente, foi possível promover um ensino interdisciplinar.

Na proposta, buscou-se alcançar uma das competências da Base Curricular Para o Ensino do Paraná (2021), na qual o aluno deve aprender a analisar e investigar as situações problemas a fim de propor soluções para as demandas regionais ou locais utilizando tecnologias. Além disso, foi possível colaborar para o

cumprimento da habilidade (EM13CNT307) de “Analisar as propriedades dos materiais para avaliar adequações de seu uso em diferentes aplicações e/ ou propor soluções seguras e sustentáveis considerando seu contexto local e cotidiano,” (BNCC, 2021, p. 557) seja cumprida, por meio de uma aula que instigue o uso de biocontroladores.

Por meio de uma perspectiva histórico crítica, este produto objetivou desenvolver uma alternativa para que a educação não apenas transmita conhecimentos, mas estimule os estudantes ao senso crítico, preparando-os para atuar na sociedade de forma consciente e transformadora (Gasparin, 2011).

Da mesma forma, com esta abordagem histórico crítica buscou-se integrar os conteúdos com Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente (CTSA) a fim de que os estudantes compreendam estes setores e os relacionem com a vida cotidiana, bem como observe sua importância nas decisões sociais (Prado; Sutil, 2021).

Nesse contexto, questionamentos centrais podem guiar as discussões em sala de aula: "Como podemos equilibrar a produção de alimentos com a preservação ambiental?", "Qual o papel das políticas públicas na redução do uso de agrotóxicos?". Para aprofundar essa discussão, propôs-se atividades que permitam aos estudantes compreender a realidade do uso de agrotóxicos, seus impactos ambientais e os efeitos na saúde humana. Além disso, pretende-se estimular uma reflexão crítica sobre alternativas sustentáveis e o papel da sociedade na busca por soluções viáveis.

Ao longo da aula, o professor pode introduzir conceitos fundamentais para contextualizar o tema, tais como: O que são agrotóxicos? Como são produzidos?. Após essa introdução, o foco se ampliará para a microbiologia e sua relação com a agricultura, explorando sua relevância no desenvolvimento de práticas mais sustentáveis.

Visto isso, se propôs uma sequência de quatro aulas de Microbiologia, integrando conteúdos teóricos e práticos, que permitirão a observação de microrganismos presentes nas plantas, com ênfase nos fungos. A organização das aulas tem por objetivo aprofundar os conhecimentos dos estudantes sobre os seguintes temas: fungos, bactérias, parede celular, Reino Plantae e Reino Protista. Além disso, abordar conceitos como: Diferença de fungos filamentosos e leveduras; Características das bactérias e fungos; Distinção de culturas mistas e pura, Tipos de meios de culturas e suas aplicações; utilidade e função dos biocontroladores.

No encerramento da sequência de aulas, pontuou-se sobre a importância de biocontroladores para o meio ambiente e tecnologias sustentáveis como a Química Verde, em especial para aplicação agrícola, atendendo o objetivo principal da pesquisa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1.1 Caracterização dos microrganismos presente nas plantas

Após os procedimentos de isolamento dos microrganismos pode-se verificar visualmente na (Figura 11) 8 microrganismos aparentemente diferentes, sendo estes 6 fungos filamentosos e duas bactérias. Estes organismos receberam a seguinte classificação para fungo (M1, M2, M3, M4, M5, M6) e para as bactérias (Bac 1 e Bac 2).



Figura 10: Placas de petri no terceiro dia de inoculação em meio de cultura BDA, BHI e SD. Inoculação feita a partir de alíquota dos extratos em diluição seriada em -1, -2, -3. Podendo visualizar crescimento de meio de cultura misto após 72 horas.

Fonte: A autora, 2025.

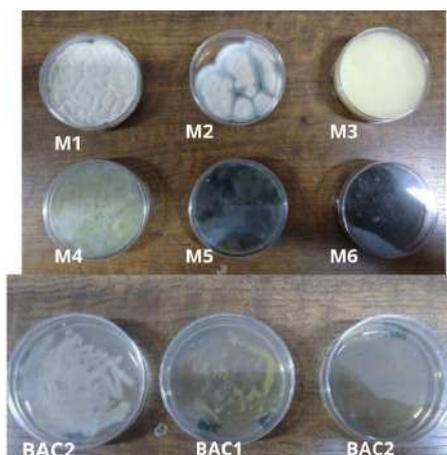


Figura 11: Microrganismos isolados de plantas carnívoras, em placas de Petri com meio de cultura, totalizando seis fungos e duas bactérias distintas.

Fonte: A autora, 2025.

As informações detalhadas sobre esses microrganismos estão presentes no Quadro (1), incluindo o local de isolamento, que abrange isolados de extratos da raiz, vênus e planta inteira, com exceção da folha. Os dados indicam que o meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) proporcionou os melhores resultados em termos de crescimento e diversidade microbiana.

Quadro 1 - Dados dos microrganismos isolados e as partes da planta *Dionaea muscipula* juntamente com os respectivos meios de cultura em que cresceram.

Microrganismo	Parte da planta onde foi encontrado	Meio de Cultura
M1	Raiz	BDA
M2	Vênus	SAB
M3	Planta Toda	BDA
M4	Planta Toda	BDA
M5	Planta Toda	BDA
M6	Planta Toda	BDA
BAC1	Planta Toda	BHI
BAC2	Planta Toda	BDA

Fonte: A autora, 2025.

Segundo o laboratório ProLab, o meio de cultura Batata Dextrose Ágar auxilia no desenvolvimento de leveduras e microrganismos filamentosos. Por ser rico em

açúcares e possuir uma grande quantidade de nutrientes, favorece a identificação morfológica das culturas, possibilitando a descoberta de diferentes espécies. Isto foi comprovado no presente estudo pelo bom desenvolvimento dos microrganismos isolados neste estudo. Na Tabela (1), observa-se que o meio permitiu o crescimento dos organismos M1, M4, M5 e BAC 2 (ProLab, 2022).

Já o meio Sabouraud Dextrose Ágar não é restrito a grupos específicos de fungos, sendo utilizado tanto para espécies patogênicas quanto não patogênicas. Além disso, este meio possui a adição de antibiótico cloranfenicol que o torna ainda mais seletivo pois inibem a maioria das bactérias e fungos saprófitas por exemplo, favorecendo o isolamento de outros organismos (Laborclin, 2019). A partir dele, foi possível observar o crescimento dos fungos M2 e M3, sugerindo particularidades que necessitam de investigação mais aprofundada após identificação da espécie por meio de PCR e amplificação de DNA em futuras pesquisas.

4.1.2 Características morfológicas dos microrganismos isolados

4.1.2.1 Morfologia colonial dos fungos

As características morfológicas das colônias de fungos analisadas no presente trabalho foram avaliadas exclusivamente com base em suas propriedades morfológicas, dentre as características destacam-se: forma; bordas; pigmento; relevo e consistência/ textura (Figura 12). A forma refere-se a configuração geral das colônias. As bordas permitem observar os desenhos e formatos das colônias. O relevo trás informações referente a topografia das colônias, enquanto a textura se refere a descrição da altura das hifas se caracterizando como a forma mais relevante para a classificação dos microrganismos. Por fim, o pigmento que traz informações sobre a coloração dos mesmos (UNESP, 2012).

O (Quadro 1) apresenta as características morfológicas dos fungos analisados, evidenciando semelhanças e diferenças entre eles. O M1 e o M2 compartilham características semelhantes, como formato circular, bordas arredondadas, pigmentação branca na superfície e relevo cerebriforme com consistência aveludada. No entanto, diferem na coloração do verso, sendo totalmente branco no M1 e com bordas azul-claras no M2.

O M3 se distingue dos dois primeiros por sua textura algodonosa e pigmentação bege, enquanto o M4, apesar de também apresentar formato circular, exibe uma coloração esverdeada com elevação esbranquiçada na superfície e pigmento preto no verso, sugerindo um perfil distinto dos demais.

Já o M5 se diferencia significativamente por sua consistência membranosa, pigmentação amarelada e relevo rugoso, o que contrasta com a textura aveludada dos primeiros fungos descritos. O M6, por sua vez, apresenta coloração cinza na superfície e esverdeada no verso, além de relevo rugoso, aproximando-se mais do M5 em termos de textura, mas mantendo um padrão de pigmentação distinto.

A análise comparativa desses fungos sugere que, apesar de compartilharem algumas características morfológicas, cada um possui particularidades que podem indicar diferenças em suas classificações taxonômicas ou em suas condições de crescimento. Estudos adicionais, como testes bioquímicos e análises genéticas, são essenciais para uma identificação mais precisa.

Quadro 2: Apresentação das características morfológicas dos fungos analisados, como formato, textura, relevo e pigmentação. Essas informações auxiliam na identificação e diferenciação entre os isolados.

Fungos	Forma	Bordas	Pigmento	Relevo	Consistência / textura
M1	Circular	Arredondado	Branco na superfície e verso	Cerebriforme	Aveludada
M2	Circular	Arredondado	Branco na superfície e verso, com bordas azul claro	Cerebriforme	Aveludada
M3	Circular	Arredondado	Bege no verso e superfície	-	Algodonosas
M4	Circular	Arredondado	Esverdeado com elevação esbranquiçada na superfície e preto no verso	Rugosas	Aveludada
M5	Circular	Arredondado	Amarelo na superfície e no verso	Rugosas	Membranosa

			com bordas esbranquiçadas.		
M6	Circular	Arredondado	Cinza na superfície e esverdeado no verso	Rugosas	Aveludada

Fonte: A autora, 2024.

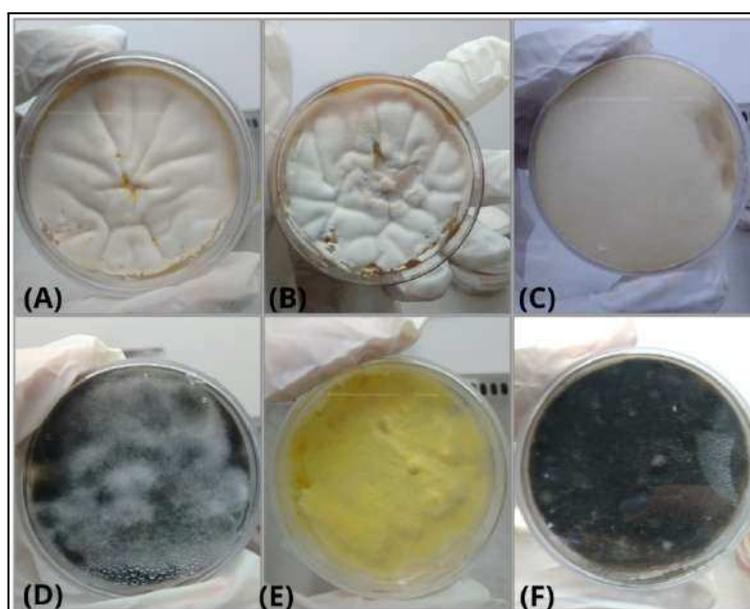


Figura 12: Fungos encontrados com base na extração de extratos feito da planta carnívora *Dionaea muscipula* a partir do meio de cultura sólido: (A) fungo isolados da Raiz, (B) fungo isolado da vênus da planta, (C, D, E,F) fungos isolados do extrato possuindo a planta toda.

Fonte: A autora, 2025.

4.1.2.2 Morfologia colonial das Bactérias

Após o isolamento, as bactérias foram identificadas com base em suas características visuais e morfológicas, apresentadas na Figura (13) e organizadas no Quadro (3), onde foram analisadas quanto à morfologia, pigmentação, superfície, consistência e brilho. Em seguida, a coloração de Gram foi utilizada para confirmar as observações e auxiliar na identificação microscópica, conforme ilustrado na Figura (15).

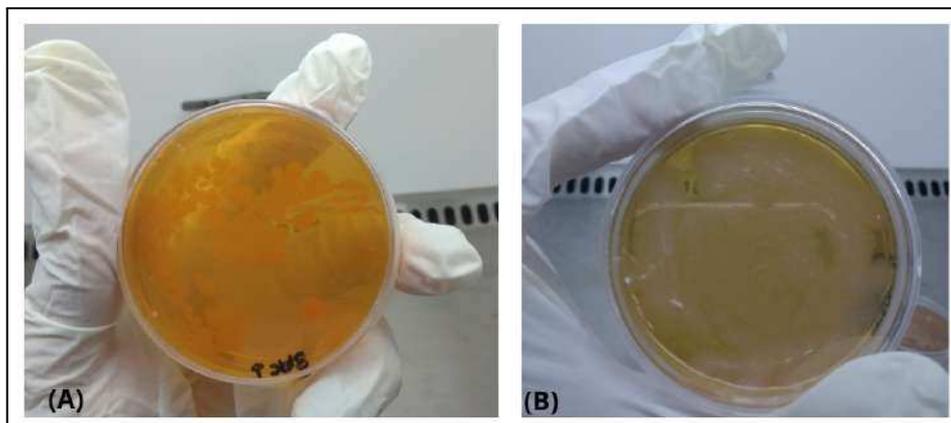


Figura 13: Bactérias isoladas para caracterização em meio BHI e BDA. (A) Bactéria 1 apresenta coloração alaranjada, consistência cremosa, brilhante. (B) Bactéria 2 possui pigmento branco, superfície lisa, aparência fosca e consistência mucóide.

Fonte: A autora, 2025.

Quadro 3 - Apresentação das características morfológicas das bactérias encontradas, como morfologia, pigmentação, superfície, consistência e brilho formato. Essas informações auxiliam na identificação e diferenciação entre os isolados.

Microrganismo	Morfologia	Coloração de gram	Pigmento	Superfície	Consistência	Brilho
Bac 1	Cocos	Gram positiva	Alaranjada	Lisa	Cremosa	Brilhante
Bac 2	Cocos	Gram positiva	Branco	Lisa	Mucóide	Fosca

Fonte: A autora, 2025.

A análise morfológica das colônias bacterianas apresentadas no Quadro (3) revelou diferenças em pigmentação, consistência e brilho. A bactéria 1, de coloração alaranjada, com consistência cremosa enquanto a outra evidência consistência mucóide e coloração branca. Enquanto a seu brilho enquanto a Bac 1 traz um brilho aparente o outro organismo se dispõe de forma distinta com o brilho fosco. Com tudo, apesar dessas variações, ambas as bactérias possuem morfologia semelhante, caracterizando-se como cocos, com formato arredondado e/ou oval.

4.2.2.3 Coloração de Gram

A coloração de Gram é um método essencial para a caracterização das bactérias recém-isoladas, permitindo sua diferenciação com base na morfologia, incluindo forma celular e arranjo (Madigan; Martinko, 2014a). A Figura (14) exhibe imagens das bactérias isoladas, capturadas por um microscópio óptico de campo

claro (BRAX TECNOLOGIA), com aumento de 400X vezes. As lâminas foram preparadas conforme a metodologia descrita por Madigan e Martinko, (2014).

Na Figura (14), observa-se que, tanto na lâmina (A) quanto na (B), a forma celular predominante é a de cocos, caracterizados por seu formato arredondado ou oval. Além disso, sua coloração indica que ambas são Gram Positivas.

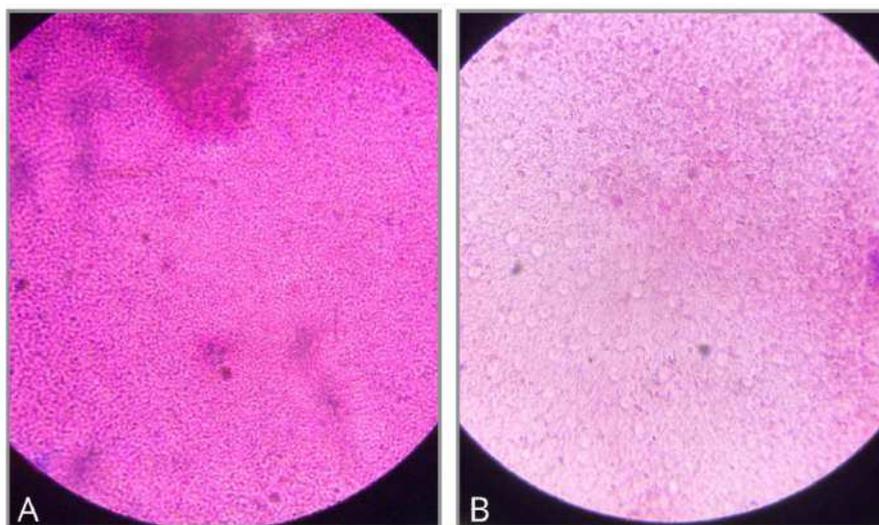


Figura 14: Visão das lâminas no microscópio óptico, aumento 400x vezes: coloração de gram realizado com as bactérias encontradas na planta *Dionaea muscipula* caracterizando-as como bactérias gram positivas, roxa, apresentando morfologia em cocos. (A) Bac 1 à esquerda e (B) Bac 2 à direita.

Fonte: A autora, 2025.

As bactérias encontradas nas plantas carnívoras foram gram positivas, ficando com coloração roxa após o procedimento de coloração de gram, onde se destacaram-se pelas diversas camadas de peptidoglicano em sua parede celular (Teixeira, 2020). Essas bactérias são capazes de causar diversas infecções aos seres humanos, apresentando uma crescente resistência aos antimicrobianos representando um desafio significativo para a medicina (Tortora; Funke; Case, 2017).

4.3 Pareamento direto

4.3.1 Crescimento micelial dos isolados

A figura (15), apresenta os resultados do crescimento micelial dos diferentes isolados da *Dionaea muscipula* e da *Sclerotinia sclerotiorum* no meio de cultura. Foi possível verificar uma variação no crescimento dos antagonistas, enquanto o crescimento do patógeno foi superior em comparação aos demais tratamentos. Apenas um dos tratamentos obteve um crescimento significativo.

Entre os isolados analisados, o fungo F3 destacou-se por possuir o maior crescimento micelial, uma característica desejável indicando um potencial efeito inibitório (Figura 16). Essa capacidade de crescimento rápido sugere sua eficácia como antagonista no controle de patógenos. De acordo com os autores Carvalho *et al.*, (2021) retratam que o crescimento do rápido do microrganismo é uma característica chave para antagonista, pois estes competem por nutrientes, espaço e oxigênio, limitando assim o desenvolvimento dos patógenos (Carvalho *et al.*, 2021a). Além disso, os mesmos autores complementam que muitos antagonistas apresentam a capacidade de produzir e liberar metabólitos secundários que inibem o crescimento micelial dos fitopatógenos (Carvalho *et al.*, 2021b). Essas características tornam os produtos biológico no manejo de doenças de plantas, uma alternativa valiosa, contribuindo para um controle mais sustentável e eficiente.

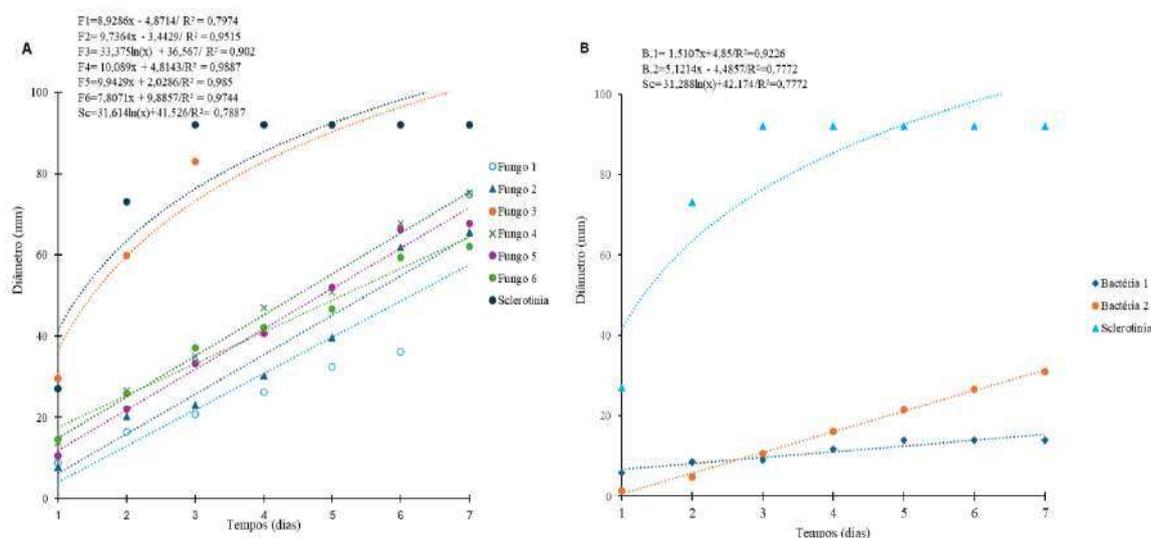


Figura 15. Crescimento micelial (mm) dos fungos (A) e bactérias (B) isolados das partes aéreas da espécie *Dionaea muscipula* comparando com o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum* *in vitro* do primeiro ao sétimo dia de incubação.

Fonte: A autora, 2025.

Durante o período de análise, realizado do primeiro ao sétimo dia, o crescimento do fungo 3 (F3) e o da *Sclerotinia* estendeu-se até o terceiro dia, após esse período, ambos preencheram completamente as placas de Petri (Figura 16). O isolado 3, apresentou diâmetro de 30, 60, 92 mm, comparado com o fitopatógeno, no qual, apresentou diâmetros de 27,1, 73,1 e 92 mm, respectivamente. Esses resultados podem ser justificados pelo fato de que essa espécie de fungo apresenta

uma esporulação abundante e rápido crescimento, comparados com os demais isolados.

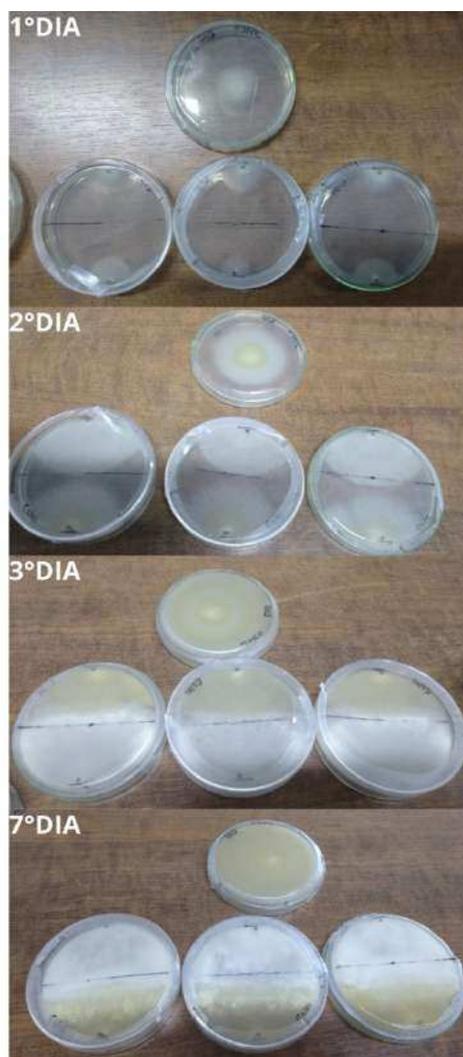


Figura 16. Crescimento micelial (mm) do fungo F3 isolado da parte aérea da espécie *Dionaea muscipula* comparando com o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum* *in vitro* do primeiro ao sétimo dia de incubação.

Fonte: A autora, 2025.

4.3.2 Teste de pareamento de culturas

Os resultados relacionados ao teste de pareamento direto envolvendo os fungos e bactérias endofíticas isolados de plantas carnívoras da espécie *Dionaea muscipula* em competição direta contra o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum* avaliando seu percentual de inibição ao longo de sete dias, estão presentes conforme na Tabela 2.

Tabela 2. Crescimento dos fungos e bactérias (B) isolados das partes aéreas da espécie *Dionaea muscipula* comparando com o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum* *in vitro* do primeiro ao sétimo dia de incubação em meio BDA.

Tratamentos	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
Fungo 1	42,5 ab	47,9b	33,33b	80,8 b	80,83 b	62,33 ab	27,56 c
Fungo 2	39,33 abc	47,16b	36,8 b	75,2c	74,9 c	16,26 c	16,5 d
Fungo 3	29,16 abc	44,76b	36,56 b	60,36 d	60,36 d	31,8 bc	40,7 b
Fungo 4	25,43 abc	40,16b	74,73 a	75,36 c	75,13 c	20,66 c	29,96 c
Fungo 5	37,73 abc	48,7b	77,53 a	75,93 c	76,2 c	15,28 c	28,07c
Fungo 6	35,8 abc	44,5b	77,8 a	78,06 bc	74,96 c	18,1 c	29,83c
Bactéria 1	46,733 a	87,93 a	90,1 a	89,16 a	78,03 bc	---	---
Bactéria 2	17,36 c	50,1b	91,76 a	92 a	----	---	---
<i>Sclerotinia</i>	21,9 bc	57,73 ab	82,1 a	92 a	92 a	92 a	92 a
CV%	23,03%	21,09%	9,24%	1,79	1,88	38,41	10,97

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

No primeiro dia, a bactéria 1 apresentou o maior percentual de inibição com 46, 73%, em comparação com a bactéria 2, que teve um menor valor de inibição. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si. No segundo dia, a bactéria 1 continuou a mostrar uma inibição significativa, enquanto os outros tratamentos não diferiram estatisticamente.

No terceiro dia, os fungos 4 a 6 e as bactérias mostraram um valor de inibição superior, mas sem diferença estatística em relação à cultura da *Sclerotinia*. No entanto, os fungos 1, 2 e 3 apresentaram menores percentuais de inibição. No quarto dia, as bactérias 1 e 2 foram superiores em comparação aos demais tratamentos e não diferindo da testemunha, enquanto o fungo 3 obteve menor percentual de inibição. E o fungo 3 obteve menor teor de inibição.

No quinto dia, o crescimento do fungo *Sclerotinia* superou o das bactérias. Isso pode ser explicado pelo desenvolvimento de mecanismos de resistência pelo fungo, mudanças nas condições do meio que favoreceram seu crescimento, ou esgotamento de nutrientes e espaço, favorecendo o crescimento micelial. A *Sclerotinia* é capaz de sobreviver por longos períodos, mesmo em condições de

estresse (Souza *et al.*,2023). No sexto e sétimo dia, a *Sclerotinia* (controle) foi superior aos microrganismos avaliados, demonstrando sua severidade ao longo do tempo.

O estudo demonstrou que os fungos e bactérias apresentam potencial antagonista contra o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum* ao longo do período avaliado. No entanto, a eficácia desses agentes biológicos foi comprometida devido à capacidade intrínseca do mofo branco, principalmente nos dias finais de avaliação, ressaltando a necessidade de estratégias integradas como combinações sinérgicas de fungos e bactérias.

Isso se dá pela fisiologia do patógeno, justamente por ser altamente severo, diminuindo a eficácia de muitos antagonistas. Tendo como principal explicação para essa ocorrência a produção de escleródios, estruturas de resistência capazes de sobreviver por longos períodos no solo, mesmo que as condições não sejam propícias para o seu desenvolvimento (Hossain *et al.*; 2024). Além disso, a *Sclerotinia* produz várias proteínas, incluindo enzimas hidrolíticas e toxinas, que facilitam a formação de uma almofada de infecção e aceleram a colonização, auxiliando na infecção de células hospedeiras (Duo; Yin; Wang, 2025).

4.4 Extração de DNA

Após a extração do DNA utilizando o protocolo de Weinsing *et al.*, (1995), foi realizada a eletroforese (KASVI) para confirmar os resultados obtidos. A quantificação foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1%, 40 mL tampão e 0,4 de agarose corado com corante Safer dye (KASVI) em seguida, leu-se a amostra através de um fotodocumentador de imagens com luz ultravioleta para observação de sua fluorescência. A partir disso, constatou-se que o procedimento foi bem-sucedido, como evidenciado pela presença de bandas no DNA total extraído, (Imagem 17). É possível analisar que as bandas mais nítidas estão representadas pelos organismos M3, M4, M5 e M6 exceto nas duas primeiras amostras, produzidas pelos fungos M1 e M2 cujas bandas apresentaram-se com uma menor nitidez. Assim, a próxima etapa deste procedimento será a realização do PCR para o isolamento e identificação dos genes das espécies encontradas.

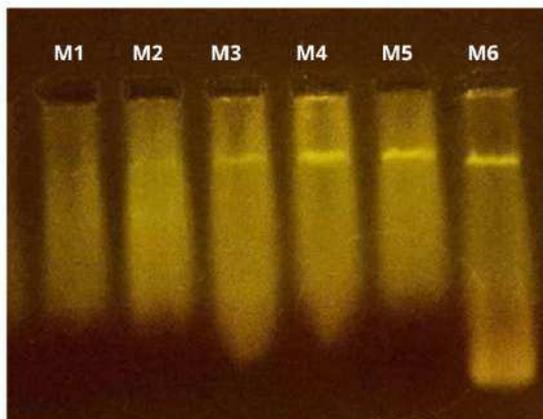


Figura 17: Banda de DNA total. Banda de DNA do fungo M1 e M2 com qualidade reduzida, ou seja, pouco nítido, diferente disto as bandas M3,M4,M5 e M6 indicam uma qualidade maior na corrida do gel e sua expressão na banda.

Fonte: A autora, 2024.

CONCLUSÃO

No que concerne ao presente trabalho, teve como principal objetivo explorar o potencial biotecnológico da planta carnívora *Dionaea muscipula*, com ênfase em sua ação herbicida e antifúngica no combate à *Sclerotinia sclerotiorum*. Os resultados indicaram que o microrganismo isolado M3 apresentou o maior crescimento micelial entre os organismos identificados, sugerindo um efeito inibitório sobre a doença. No entanto, sua eficácia foi comprometida pela resistência intrínseca do mofo branco, especialmente nos estágios finais da avaliação, destacando a necessidade de estratégias integradas, como combinações sinérgicas de fungos e bactérias.

A análise microbiana revelou a presença de espécies promissoras para o desenvolvimento de produtos biotecnológicos, corroborando a hipótese inicial de que os microrganismos isolados da planta desempenham papel inibitório ao patógeno. O fungo M3 apresentou esporulação abundante e rápido crescimento, características que reforçam o potencial dos produtos biológicos no manejo de doenças de plantas como uma alternativa sustentável e eficiente. No entanto, investigações químicas e bioquímicas mais aprofundadas são necessárias para ampliar o conhecimento sobre os isolados. Além disso, recomenda-se a realização de PCR para identificação das espécies.

No que diz respeito ao material didático, sua aplicação em sala de aula, especialmente em colégios com técnicos agrícolas integrados, demonstrou-se proveitosa, pois visa despertar o interesse dos estudantes por temas científicos e contribuir para a aquisição do conhecimento científico, unindo as atividades propostas ao seu contexto social.

Por fim, este estudo busca contribuir para a comunidade científica, e, portanto, pretende-se dar continuidade às pesquisas com plantas carnívoras, aprofundando o entendimento sobre seu potencial e suas possíveis aplicações.

REFERÊNCIAS

- Ágar Sabouraud . **Laborclin** | Grupo Solabia , 22 maio 2019. Disponível em: <<https://www.laborclin.com.br/agar-sabouraud-seletividade-e-facilidade-no-cultivo-de-fungos/>> . Acesso em: 3. Fev. 2025
- ADAMEC, L. Mineral nutrition of carnivorous plants: a review. **The Botanical Review**, Dukelská, v. 63, n. 3, p. 273–299, jul. 1997.
- Aspectos gerais da caracterização macroscópica das colônias fúngicas. **Unesp**. 2012. Disponível em: <<https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/apostila-ciclo-de-micologia-biomedicina-2012.pdf>> . Acesso em: 26. jan. 2025
- AZEVEDO, J. P. **Mofo-branco no feijão: como identificar e realizar o controle na lavoura**. Rehagro. Disponível em: <<https://rehagro.com.br/blog/mofo-branco-no-feijoeiro/>> . Acesso em: 26 set. 2023.
- BARBOSA, CKR et al. Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros, MG
 doi: 10.5007/2175-7925.2010v23n1p77. **Biotemas** , v. 1, pág. 77–81, 2011. CANALE, M. C.; et al. Pragas e doenças do feijão: diagnose, danos e estratégias de manejo. **Boletim Técnico**, Florianópolis, n. 197, p. 13-98, nov. 2020.
- BBC NEWS. 5 experimentos de Darwin que você pode fazer em casa. **Curiosidades**. 8 dez. 2019; BBC News Mundo. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/curiosidades-50643995> Acesso em: 19 ago. 2023.
- BRANDÃO, L. T. D.; CORTES, M. V. D. C. B.; DE FILIPPI, M. C. C.; SILVA-LOBO, V. L. **Protocolo de Extração de DNA Genômico para os Principais Fungos Fitopatogênicos do Arroz**. Embrapa Arroz e Feijão, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 54, 2019. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1112790/protocolo-de-extracao-de-dna-genomico-para-os-principais-fungos-fitopatogenicos-do-arroz>> Acesso: Jan.5.2025
- BOLTON, MD; THOMMA, BPHJ; NELSON, BD *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biologia e características moleculares de um patógeno cosmopolita. *Molecular plant pathogen* , v. 7, n. 1, p. 1–16, 2006.
- CARVALHO, J.; ODAIR, KUHN, J.; TARTARO, E. L.; STANGARLIN, J. R. Controle biológico de doenças em plantas mediado por leveduras e seus mecanismos de ação. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 10, n. especial, p. 1-19, 2021.
- CEPEA (Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada). PIB do Agronegócio Brasileiro. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-Universidade de São Paulo. 28 set. 2023. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>. Acesso em: 10 nov. 2023.

COÊLHO, Jackson Dantas. FEIJÃO: v. 8 n. 312 (2023) . **Caderno Setorial, ETENE**, Fortaleza, v. 8, 2024. Disponível em: <https://www.bnb.gov.br/revista/cse/article/view/3040>. Acesso em: 03 jan. 2025.

COÊLHO, Jackson Dantas. Feijão: produção e mercados. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, ano 5, n.197, dez. 2021. Disponível em: <https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/handle/123456789/1031>. Acesso em: 25. Ago.2023.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species - groups of *Trichoderma*: III. Hyphal interactions. **Transactions British Mycological Society**, Manchester, v. 57, p. 363-369, 1971.

DE CASTRO OLIVEIRA, M. G. Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

DE MORAES, A, L, S, R; **Aula Prática: Coloração de Gram** . Editora Científica. 2023. Disponível em: <https://repositorio.pgsscogna.com.br/bitstream/123456789/55718/1/Colora%C3%A7%C3%A3o%20de%20Gram.pdf>. Acesso em: 13 .Jan. 2025.

DUO, H.; YIN, M.; WANG, R. Molecular mechanisms of resistance and future perspectives in plant breeding strategies against *Sclerotinia sclerotiorum*. **New Crops**, v. 2, n. 100046, p. 100046, 2025.

ELLISON, A. M.; GOTELLI, N. J. Energetics and the evolution of carnivorous plants: Darwin's "most wonderful plants in the world". **Journal of Experimental Botany**, England, v. 60, n. 1, p. 19–42, 2009.

Entenda o que é Agar Batata e para que serve. **Prolab**. 2018. Disponível em: <https://www.prolab.com.br/blog/blog/entenda-o-que-e-agar-batata-e-para-que-serve/>. Acesso em: 10 fev. 2025.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Cepas brasileiras de fungos mostram potencial para controlar o mofo-branco. **Embrapa Meio Ambiente**. 14 mar. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/78923232/cepas-brasileiras-de-fungos-mostram-potencial-para-controlar-o-mofo-branco>. Acesso em: 10 nov. 2023.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Cultivo do feijão: estatística da produção.. **Embrapa Socioeconomia**. 20 out. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/pre-producao/socioeconomia/estatistica-da-producao> Acesso: 15 out. 2023

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Uso de Agrotóxicos. **Embrapa Meio Ambiente**. 09 set. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/arroz/pre-producao/uso-de-agrotoxicos>. Acesso em: 25 de Jan. 2025.

FERNANDES, M.; MORANDI, M. A. B., SANTOS, E. R; COSTA. L. B. EFEITO DA TEMPERATURA NO CRESCIMENTO E CAPACIDADE PARASÍTICA DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. SELECIONADOS PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotinia sclerotiorum* . Disponível em:

<<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/15590/1/2007AA017.pdf>>.

Acesso em: 26 jan. 2025

GASPARIN, J L. **Uma didática para a pedagogia histórico-crítica**. 5. ed. Campinas, SP: Autores Associados, 2015. 190 p.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2002.

GONZAGA, AC Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Embrapa Arroz e Feijão , 2014.

Görgen, Claudia Adriana. Manejo do mofo branco da soja com palhada de *Brachiaria ruziziensis* e *Trichoderma harzianum* '1306'[manuscrito] / Claudia Adriana Görgen. - 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, 2009.

HANO, C.; TUNGMUNNITHUM, D. Plant Polyphenols, more than just simple natural antioxidants: oxidative stress, aging and age-related diseases. **Medicines (MDPI)**, Basel, v. 7, n. 5, p. 2-9, 2020.

HATCHER, C. R.; et al. Metabolomic analysis reveals reliance on secondary plant metabolites to facilitate carnivory in the Cape sundew, *Drosera capensis*. **Annals of Botany**, v. 128, n. 3, p. 301–314, 2021.

HOSSAIN, M. M. et al. White mold: A global threat to crops and key strategies for its sustainable management. **Microorganisms**, v. 13, n. 1, p. 4, 2024.

HEDRICH, R.; FUKUSHIMA K. On the of carnivory: molecular physiology and evolution of plants on an animal diet. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 72, p. 133-153, 2021.

Instituto abre inscrições para cursos técnicos integrados. Disponível em: <<http://portal.mec.gov.br/ultimas-noticias/209-564834057/20815-instituto-abre-inscricoes-para-cursos-tecnicos-integrados>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

KARAM, D. RIOS, J. N. G. FERNANDES, R. C. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo; Belo Horizonte: Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais, 2014. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1007543>. Acesso em: 05.Jan.2025

KARPINSKI, L. **Bioprospecção de fungos endofíticos da planta medicinal *Kalanchoe daigremontiana* e avaliação do potencial biotecnológico aplicado a**

agricultura. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia)- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2021.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; REPČÁKOVÁ, K. Phenolic metabolites in carnivorous plants: inter-specific comparison and physiological studies. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 52, p. 21-27, 2012.

MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14ª Edição. Artmed Editora, 2016.

MACHADO, A.-AW Agrotóxicos/defensivos agrícolas - O que são? Quais são os tipos? Como são usados? . **Agrolink** 2024. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/tecnologia-de-aplicacao/aspectos-gerais/o-que-sao-agrotoxicos---defensivos-agricolas-_479478.html>. Acesso em: 19. Jan. 2025.

MACIEL, M. L. M. **Feijão: da etimologia à saúde**. 2008. Monografia (Especialização em Gastronomia e Saúde)- Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

MELO, I. S. MENDES, R. NECHET, K. Agricultura & Meio Ambiente: A busca pela sustentabilidade . ed. **Embrapa**. p 561-599. out. 2024

NUNES, A.; SCHMITZ, C.; MOURA, S.; MARASCHIN, M. The use of pesticides in brazil and the risks linked to human health. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 4, p. 37885-37904, 2021.

PIB do Agronegócio Brasileiro - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - CEPEA-Esalq/USP. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>>. Acesso em: 27 nov. 2023.

QUINTELA. E. D. Manejo integrado das pragas de feijão. **Circular técnica**. Goiânia, n. 46, p. 1-28, 2001.

R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Available at: <<https://www.r-project.org/>>. Acessado em: dez. 2024.

RACHID, Í. Importância da lisina para peças de tecido conjuntivo . Disponível em: <<https://dritalorachid.com.br/lisina-importancia-para-o-corpo/>>. Acesso em: 26. out. 2023.

RAMPAZZO, Lino. Metodologia científica para alunos de graduação e pós graduação. São Paulo. Edições Layola, 2002. UNESCO, Jomtiem/Tailândia, 1990.

SHAW, B. J. P. et al. Culturable endophytes from carnivorous plant traps in the UK: commonality of endophyte species across host species and sites. **Research Square**. 2024. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-4021835/v1>>. Acesso em: 17.fev. 2025

SILVA, T. R. S.; GIULIETTI, A. M. Levantamento das Droseraceae do Brasil. **Boletim**

de **Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 16, p. 75–105, 1997.

SMOLINSKA, U.; KOWALSKA, B. Biological control of the soil-borne fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* — a review. *Journal of Plant Pathology*. P. 100. 2018. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007/s42161-018-0023-0>> Acesso em: 27. Nov. 2023.

SOTTERO A. N.; FREITAS, S. dos S.; TRANI, P. E. Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.30, n.2, p.225-234, 2006.

SUPER INTERESSANTE. Existem plantas carnívoras no Brasil? **Ciência**. 31 mai. 2001. Disponível em: <https://super.abril.com.br/ciencia/existem-plantas-carnivoras-no-brasil>. Acesso em: 21 out. 2023.

SOUZA, V. P. de; ARAÚJO, A. F. C.; AZEVEDO, T. A., SOUZA, D. A. de; LAURINDO, S. da S.; MIRANDA, D. A. dos R. Crescimento micelial e produção de escleródios de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes regimes de luz e temperatura. **Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara**, v. 5, n. 1, 2023

TEIXEIRA, D. A. **Microbiologia básica**. UNIPACTO. Núcleo de Investigação Científica e Extensão. Teófilo Otoni, Minas Gerais. Ago, 2020. ISBN: 978-65-992205-0-0. Disponível em: < <https://unipacto.com.br/storage/gallery/files/nice/livros/MICROBIOLOGIA%20B%C3%81SICA%20-%20EBOOK%20-%20ISBN%20978-65-992205-0-0.pdf>> Acesso em: 06. Jan. 2025.

THOREN, L. M.; *et al.* Resource availability affects investment in carnivory in *Drosera rotundifolia*. **New Phytologist**, v. 159, n. 2, p. 507–511, 2003.

TIENAHUO, J.; *et al.* Field-grown and In Vitro propagated round-leaved sundew (*Drosera rotundifolia* L.) show differences in metabolic profiles and biological activities. **Molecules**, v. 26, n. 12, p. 3581, 2021.

TORRES, F. L.; *et al.* Bioprospecção e potencial biotecnológico de fungos endofíticos associados a plantas do Cerrado. **Concilium**, v. 22, n. 2, p. 256-272, 2022.
TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TORTORA, G. J. CASE, C, L. FUNKE. B, R. Microbiologia. ed. 12 Artmed. 2017.

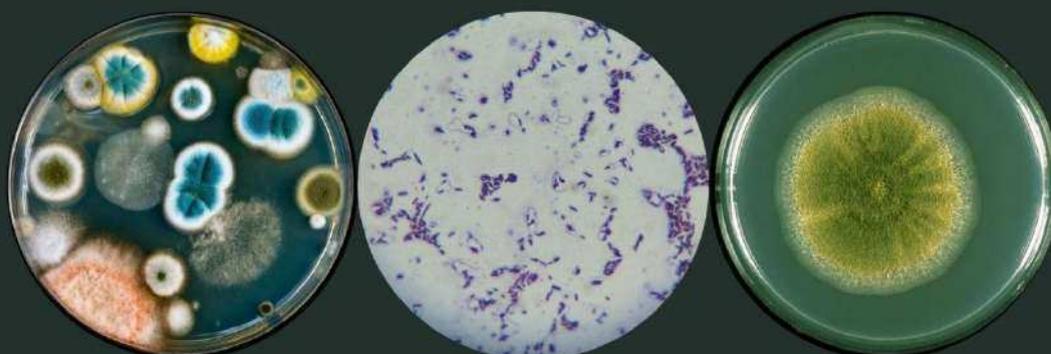
White mold (Sclerotinia) (Mofo Branco - Portuguese). Disponível em: <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/WhiteMoldPortuguese.aspx>. Acesso: 15, Nov, 2023

WÓJCIAK-KOSIOR, M. *et al.* Carnivorous Plants from Nepenthaceae and Droseraceae as a source of secondary metabolites. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2155–2155, 2023.

**APÊNDICE A - MATERIAL DESENVOLVIDO PELO AUTOR - SEQUÊNCIA
DIDÁTICA - AULAS DE MICROBIOLOGIA**

SEQUÊNCIA DIDÁTICA

Aulas de microbiologia para o Ensino Médio



Regiane Silva Lima

INTRODUÇÃO:

Este produto educacional tem como público alvo professores do ensino médio integrado ao ensino técnico. Segundo o Ministério da Educação (2014), no Ensino Médio integrado o aluno recebe a formação básica referente ao Ensino Médio e o profissional. Deste modo, buscou-se atender às especificações da ementa dos colégios agrícolas integrado ao ensino médio, principalmente da disciplina de Biologia, onde os conteúdos abordados nestas aulas serão: Reino Fungi, Bactérias e Protozoários.

Procura-se por meio deste trabalho trazer discussões sobre doenças causadas por fungos, relacionado com assuntos de Biotecnologia, visando questões referente a noções de doenças e pragas agrícolas, bem como a importância de biocontroladores para o meio ambiente, almejando promover um ensino interdisciplinar.

Através de uma perspectiva histórico crítica, este material objetiva-se desenvolver uma educação que não apenas transmite conhecimentos, mas estimula nos estudantes o senso crítico, preparando-os para atuar na sociedade de forma consciente e transformadora (Gasparin, 2011). Juntamente com esta abordagem, buscou-se relacionar os conteúdos com Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente (CTSA) a fim de que se possa compreender como estes setores se relacionam entre si e se integram na vida cotidiana, bem como em decisões sociais (Prado e Sutil, 2021).

Com a finalidade de propor um objetivo educacional, busca-se alcançar a competência da Base Curricular Para o Ensino do Paraná (2021), no qual o estudante deve aprender a analisar e investigar as situações problema a fim de propor soluções para as demandas regionais ou locais utilizando tecnologias. Além disso, com a presente proposta é possível colaborar para cumprimento da habilidade de “Analisar as propriedades dos materiais para avaliar adequações de seu uso em diferentes aplicações {...} e/ou propor soluções seguras e sustentáveis considerando seu contexto local e cotidiano” seja cumprida, através de uma aula que instigue o uso de biocontroladores.

Com base nisso, propõe-se uma sequência de quatro aulas de microbiologia, integrando conteúdos teóricos e práticos, que permitirão a observação de microrganismos presentes nas plantas, com ênfase nos fungos. O objetivo deste

trabalho é aprofundar os conhecimentos dos estudantes sobre os seguintes temas: fungos, bactérias, parede celular, Reino Plantae e Reino Protista. Além disso, serão abordados conceitos como: Diferença de fungos filamentosos e leveduras; Características das bactérias e fungos; Distinção de culturas mistas e pura, Tipos de meios de culturas e suas aplicações; utilidade e função dos biocontroladores.

Deste modo as atividades propostas aqui tem como finalidade trazer uma perspectiva de investigação para sala de aula colocando o discente também como produtor de conhecimento.

1. Quadro síntese:

BNCC	
HABILIDADE(S)	<p>(EM13CNT203) Avaliar e prever efeitos de intervenções nos ecossistemas, e seus impactos nos seres vivos e no corpo humano, com base nos mecanismos de manutenção da vida, nos ciclos da matéria e nas transformações e transferências de energia, utilizando representações e simulações sobre tais fatores, com ou sem o uso de dispositivos e aplicativos digitais (como <i>softwares</i> de simulação e de realidade virtual, entre outros).</p> <p>(EM13CNT205) Interpretar resultados e realizar previsões sobre atividades experimentais, fenômenos naturais e processos tecnológicos, com base nas noções de probabilidade e incerteza, reconhecendo os limites explicativos das ciências.</p>
UNIDADE(S) TEMÁTICA(S)	Vida, Terra e Cosmos.
COMPETÊNCIA ESPECÍFICA DE BIOLOGIA	Analisar e utilizar interpretações sobre a dinâmica da Vida, da Terra e do Cosmos para elaborar argumentos, realizar previsões sobre o funcionamento e a evolução dos seres vivos e do Universo, e fundamentar e defender decisões éticas e responsáveis.
COMPETÊNCIA GERAL DA EDUCAÇÃO BÁSICA	Exercitar a curiosidade intelectual e recorrer à abordagem própria das ciências, incluindo a investigação, a reflexão, a análise crítica, a imaginação e a criatividade, para investigar causas, elaborar e testar hipóteses, formular e resolver problemas e criar soluções (inclusive tecnológicas) com base nos conhecimentos das diferentes áreas.
REFERENCIAL CURRICULAR DO PARANÁ	<p>(EM13CNT203) Avaliar e prever efeitos de intervenções nos ecossistemas, e seus impactos nos seres vivos e no corpo humano, com base nos mecanismos de manutenção da vida, nos ciclos da matéria e nas transformações e transferências de energia, utilizando representações e simulações sobre tais fatores, com ou sem o uso de dispositivos e aplicativos digitais (como <i>softwares</i> de simulação e de realidade virtual, entre outros).</p> <p>(EM13CNT205) Interpretar resultados e realizar previsões sobre atividades experimentais, fenômenos naturais e processos tecnológicos, com base nas noções de probabilidade e incerteza, reconhecendo os limites explicativos das ciências.</p>
OBJETIVOS DE APRENDIZAGEM	<p>Compreender o que são fungos e bactérias; Reconhecer a microbiota do ambiente por meio da inoculação e diferenciação de culturas pura e mista; Diferenciar os grupos de microrganismos (fungos e bactérias).</p>

OBJETO(S) DE CONHECIMENTO

Ciências da Natureza, Biologia.

2. Problematizações que podem ser desenvolvidas ao longo das aulas:

QUAL A REALIDADE A SER QUESTIONADA?

"Como podemos equilibrar a produção de alimentos com a preservação ambiental ? "

The screenshot shows the top portion of a news article on the CNN Brasil website. The header includes the CNN logo and navigation tabs for 'Ao vivo', 'Política', 'WW', 'Economia', 'Esportes', 'Pop', and 'Viagem'. The article title is 'Liberação de agrotóxicos bate recorde em 2024'. Below the title, it identifies the author as João Bosco and provides the date and time: '28/01/2025 às 15:40 | Atualizado 28/01/2025 às 15:41'. A large image of a combine harvester in a field is visible below the text.

Usamos cookies e outras tecnologias semelhantes para melhorar a sua experiência em nossa plataforma, personalizar publicidade e analisar o conteúdo da sua interação. Utilize as opções ao lado para definir suas preferências. [Aviso Legal e Política de Privacidade](#) [Gerenciar preferências](#)

This screenshot shows the navigation bar of the CNN Brasil website, featuring the same set of tabs as the previous screenshot: 'Ao vivo', 'Política', 'WW', 'Economia', 'Esportes', 'Pop', and 'Viagem'.

O aumento na liberação coincide com a entrada em vigor do novo marco legal de agrotóxicos, **sanctionado com vetos pelo presidente Luiz Inácio Lula da Silva (PT) em dezembro de 2023.**

A nova legislação, entre outros pontos, alterou as regras para aprovação e comercialização de agrotóxicos no país, tornando o processo de liberação mais rápido.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), dos 663 produtos liberados, 15 foram classificados como altamente tóxicos, enquanto 587 foram considerados de baixa toxicidade.

This screenshot shows the navigation bar of the CNN Brasil website, identical to the previous one, with tabs for 'Ao vivo', 'Política', 'WW', 'Economia', 'Esportes', 'Pop', and 'Viagem'.

Substituição de agrotóxicos perigosos

Em outubro do ano passado, o governo anunciou que está estudando a **substituição de agrotóxicos considerados altamente tóxicos e perigosos à saúde dos brasileiros.**

Estão sendo avaliados estímulos, inclusive financeiros, para os produtores que fizerem a substituição por alternativas como bioinsumos, ou seja, produtos biológicos feitos a partir, por exemplo, de microrganismos e enzimas.

Dados da Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental, do Ministério da Saúde, apontam que, nos últimos dez anos, 124 mil pessoas foram atendidas com quadro de intoxicação por agrotóxicos.

<https://www.cnnbrasil.com.br/politica/liberacao-de-agrotoxicos-bate-recorde-em-2024/>

QUESTÕES PROBLEMATIZADORAS/DESAFIADORAS DA REALIDADE				
SOCIAL	CULTURAL	POLÍTICA	ECONÔMICA	CIENTÍFICA
Como os químicos utilizados na agricultura podem agir no meio ambiente e organismo humano ?	Como a sociobio-economia desenvolvida pelos povos e comunidades tradicionais podem auxiliar no desenvolvimento sustentável do país?	Quais são as políticas ambientais para utilização de produtos e microrganismos no solo ?	Quanto o Brasil lucra com a agricultura atualmente ?	Quais os avanços da bioprospecção no desenvolvimento de produtos biológicos, hoje em dia ?

3. Conteúdos:

CONTEÚDOS/CONCEITOS SELECIONADOS

COMPONENTE CURRICULAR BIOLOGIA	COMPONENTE CURRICULAR INTERDISCIPLINAR
<ul style="list-style-type: none"> - Botânica - Bactérias - Fungos - Vírus 	<ul style="list-style-type: none"> - Português - interpretação de textos e gráficos - Artes - interpretação de imagens

4. Vivência cotidiana dos conteúdos:

O QUE OS ESTUDANTES JÁ SABEM ?	O QUE PRECISAM SABER MAIS ?
<ul style="list-style-type: none"> - O que são Fungos? - O que são bactérias ? - Parede celular - Reino Plantae - Reino protista 	<ul style="list-style-type: none"> - Diferença de fungos filamentosos e leveduras - Características das bactérias e fungos - Culturas mistas e pura - Meios de cultura - Biocontroladores

5. Encaminhamentos para as aulas:

AULA 1

Problematização:

Nesta aula inicial o professor pode iniciar a aula com os seguintes questionamentos:



A partir da abordagem Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente (CTSA), o professor pode iniciar a aula com os seguintes questionamentos:

- "Como podemos equilibrar a produção de alimentos com a preservação ambiental?"
- "Qual o papel das políticas públicas na redução do uso de agrotóxicos?"

Para aprofundar a discussão, os alunos podem assistir ao vídeo "Seminário de políticas públicas sobre redução de agrotóxicos reúne especialistas e parlamentares" (https://www.youtube.com/watch?v=N_qH_DAEKXo) e realizar a leitura da notícia "Liberação de agrotóxicos bate recorde em 2024".

O objetivo dessas atividades é levar os estudantes a compreenderem a realidade do uso de agrotóxicos, seus impactos ambientais e efeitos na saúde humana. Além disso, busca-se incentivar uma reflexão crítica sobre alternativas sustentáveis e o papel da sociedade na busca por soluções.

Ao longo da aula, serão introduzidos conceitos fundamentais, como:

- O que são agrotóxicos?

- Como são produzidos?

Após essa introdução ao tema, a aula passará a ter foco na microbiologia e sua relação com a agricultura. Serão abordados os seguintes tópicos:

- O que é microbiologia?
- O que a microbiologia estuda?
- Quais são as áreas de aplicação da microbiologia?
- Principais grupos de microrganismos: Bactérias; Fungos e Protozoários
- Aplicações práticas da microbiologia na agricultura.
- A relação dos microrganismos com a saúde das plantas.
- Exemplos de patógenos agrícolas.
- O que são biofertilizantes?
- Como as empresas utilizam biológicos no contexto atual?

O intuito é proporcionar uma compreensão ampla e integrada da microbiologia, destacando suas aplicações práticas e importância para diversos setores.

AULA 2

Objetivo da aula:

Após a base teórica adquirida na aula anterior, os estudantes estarão mais familiarizados com os microrganismos. Nesta aula, será realizada uma demonstração de como utilizar o microscópio para facilitar a visualização dos microrganismos. Ao final da aula prática, espera-se que os estudantes consigam diferenciar bactérias gram-positivas e gram-negativas, caracterizar os microrganismos observados e utilizar o microscópio de forma correta.

Material necessário:

- Microscópio
- Lâminas de bactérias gram-positivas e gram-negativas
- Lâminas de bactérias e fungos distintos para observação das características
- Jaleco
- Luvas

Metodologia:

1. Observar bactérias, fungos e outros microrganismos utilizando lâminas pré-montadas.
2. Apresentar lâminas contendo diferentes bactérias e fungos, explicando suas principais características, como: pigmentação, textura, borda e forma.

Atividade Prática: Os estudantes deverão elaborar o **Relatório de Prática de Microbiologia 1**, no qual deverão registrar suas observações, caracterizando os microrganismos analisados eles devem focar em aspectos como textura, forma, pigmentação, elevação, consistência e bordas. Após isso detalhar o processo de diferenciação entre bactérias gram-positivas e gram-negativas.

AULA 3

Objetivo da aula:

Nesta aula, será abordado o processo de isolamento e cultivo de microrganismos a partir de amostras de plantas, utilizando placas de Petri com ágar nutritivo. Serão apresentados os principais tipos de meios de cultura empregados na microbiologia, com ênfase na distinção entre meios sólidos e líquidos. Também será explicada a diferença entre esses dois tipos de meios, considerando suas aplicações e finalidades.

Material necessário:

- Placas de Petri
- Ágar nutritivo
- Amostras de extrato de plantas para inoculação
- Lamparina de vidro
- Alça de drigalski.
- Alça de inoculação ou swab

Atividade Prática 2:

A turma será dividida em grupos, e cada equipe deverá inocular uma amostra em placas de Petri, seguindo as normas de segurança e procedimentos de laboratório. O objetivo é observar o crescimento das colônias de bactérias e/ou fungos na próxima semana, quando os estudantes deverão analisar e diferenciar os meios de cultura utilizados, identificando se o cultivo é misto ou puro.

AULA 4

Objetivo da aula:

Nesta aula, os estudantes deverão analisar os meios de cultura preparados na semana anterior, verificando se estão mistos, além de aprender a distinguir fungos, leveduras e bactérias. Para isso, cada estudante receberá uma placa de Petri contendo diferentes microrganismos inoculados. A tarefa consiste em selecionar um microrganismo específico para análise e caracterizá-lo detalhadamente no relatório 2. Além disso, o estudante deverá refletir sobre o impacto dos microrganismos na agricultura, respondendo à seguinte questão: **Qual o impacto dos microrganismos na agricultura? Escreva uma ação prática que podemos adotar para diminuir os impactos dos agrotóxicos no meio ambiente, saúde e sociedade. Justifique sua resposta.**

Material necessário:

- Placas de Petri com diferentes microrganismos inoculados
- Lupa

Instruções para a tarefa:

- Escolher um microrganismo para análise.
- Caracterizar o microrganismo observado e documentar suas características no relatório.
- Responder à questão: Qual o impacto dos microrganismos na agricultura? Escreva uma ação prática que podemos adotar para diminuir os impactos dos agrotóxicos no meio ambiente, saúde e sociedade. Justifique sua resposta.
- Elaborar um plano de controle e manejo para o microrganismo selecionado, com foco em sua gestão no contexto do cultivo agrícola.

Avaliação do Relatório Prático 2: O relatório será realizado de forma individual e será avaliado com base nos seguintes critérios:

- Descrição clara e precisa das observações realizadas na placa escolhida para análise.

- Clareza na explicação sobre o impacto dos microrganismos na agricultura.
- Qualidade na caracterização dos microrganismos.
- Criatividade e viabilidade do plano de controle e manejo proposto para o microrganismo no cultivo agrícola.

Nome:		Nº
Disciplina		Nota:

Relatório 1

1. Em grupo vocês deverão registrar suas observações caracterizando os microrganismos analisados

Microrganismo	Forma	Bordas	Pigmento	Superfície	Brilho	Elevação	Consistência

2. Detalhe o processo de diferenciação entre bactérias gram-positivas e gram-negativas.

ANEXO II DE ATIVIDADES - SEQUÊNCIA DIDÁTICA

Nome:		Nº
Disciplina		Nota:

Relatório 2

1. Com base nos conhecimentos adquiridos nas últimas aulas, com o microrganismo de sua escolha realize sua caracterização no espaço abaixo.

- Escolher um microrganismo para análise.
- Caracterizar o microrganismo observado e documentar suas características no relatório.

Microrganismo	Forma	Bordas	Pigmento	Superfície	Brilho	Elevação	Consistência

2. Qual o impacto dos microrganismos na agricultura? Responder à questão: Escreva uma ação prática que podemos adotar para diminuir os impactos dos agrotóxicos no meio ambiente, saúde e sociedade. Justifique sua resposta.

3. Elabore um plano de controle e manejo para o microrganismo selecionado, com foco em sua gestão no contexto do cultivo agrícola.

REFERÊNCIAS

CAMPOS, L. M. S. **Microbiologia na Agricultura: Conceitos e Aplicações**. Santa Catarina. Embrapa, 2017.

GASPARIN, J L. **Uma didática para a pedagogia histórico-crítica**. 5. ed. Campinas, SP: Autores Associados, 2015. 190 p.

MADIGAN, M. T., Martinko, J. M; Bender, K. S. **Microbiologia de Brock**. p. 28. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

RIBEIRO, M. C.; STELATO, M. M. **Microbiologia Prática: Aplicações de aprendizagem de microbiologia básica - Bactérias, Fungos e Vírus**. 2. ed. Ribeirão Preto - SP : Editora Atheneu, 2011.

SCHNEIDER, M. A. **Microorganismos e suas interações com o solo: Implicações para a agricultura sustentável**. Universidade Federal de Lavras. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016.

APÊNDICE B - PARECER PARA AVALIAÇÃO DE PRODUTO EDUCACIONAL



Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Ponta Grossa
Licenciatura em Ciências
Biológicas

PARECER PARA VALIDAÇÃO DE PRODUTO EDUCACIONAL

DADOS DO PRODUTO

Autor: Acadêmica Regiane Silva Lima
Orientadora: Profª Drª Rosilene Aparecida Prestes
Título do Produto: Sequência didática de microbiologia

DADOS DO AVALIADOR

Nome:
Titulação:
Instituição:

PARECER

Análise da **ESTRUTURA** (considerar o número de itens mencionados, a distribuição das categorias e organização visual)

Avaliação

Muito Adequado Adequado Razoavelmente Adequado Pouco Adequado Inadequado

Considerações (apontamentos sobre pontos positivos, fragilidades e sugestões):

Análise do CONTEÚDO (considerar pertinência dos itens selecionados, clareza das proposições e qualidade textual).

Avaliação

Muito Adequado Adequado Razoavelmente Adequado Pouco Adequado Inadequado

Considerações (apontamentos sobre pontos positivos, fragilidades e sugestões):

Análise da VIABILIDADE (considerar se o produto fornece indicadores necessários para contribuição da formação profissional dos estudantes)

Avaliação

Muito Adequado Adequado Razoavelmente Adequado Pouco Adequado Inadequado

Considerações (apontamentos sobre pontos positivos, fragilidades e sugestões):

Análise do CONTEÚDO (considerar pertinência dos itens selecionados, clareza das proposições e qualidade textual).

Avaliação

Muito Adequado Adequado Razoavelmente Adequado Pouco Adequado Inadequado

Considerações (apontamentos sobre pontos positivos, fragilidades e sugestões):

Análise da RELEVÂNCIA (considerar se o produto educacional são viáveis para o contexto escolar)

Avaliação

Muito Adequado Adequado Razoavelmente Adequado Pouco Adequado Inadequado

Considerações (apontamentos sobre pontos positivos, fragilidades e sugestões):

Análise do CONTEÚDO (considerar pertinência dos itens selecionados, clareza das proposições e qualidade textual).

Avaliação

Muito Adequado Adequado Razoavelmente Adequado Pouco Adequado Inadequado

Considerações (apontamentos sobre pontos positivos, fragilidades e sugestões):

DECLARAÇÃO DE VALIDADE
(Considerações Gerais)

Cidade, ___ de ___ de ___.

Assinatura
Titulação e Nome Completo
(se possível, carimbar)

