

**Processo de produção de composto para controle biológico a partir do cultivo de *Serratia Marcescens* em meio de baixo custo**

**Process for producing compost for biological control from the cultivation of *Serratia Marcescens* in a low-cost medium**

**Proceso de producción de compost para el control biológico a partir del cultivo de *Serratia Marcescens* en un medio de bajo coste**

DOI: 10.54033/cadpedv21n13-143

Originals received: 11/06/2024

Acceptance for publication: 11/29/2024

---

**Felicia Maria Melo Aragão**

Graduada em Engenharia Ambiental  
Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)  
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil  
E-mail: felicitaaragao@gmail.com

**Erima Joyssielly Mendonca Castro**

Mestra em Biologia Microbiana  
Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)  
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil  
E-mail: erima.castro@hotmail.com

**Rita de Cássia Mendonça de Miranda**

Pós-Doutora em Biotecnologia  
Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)  
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil  
E-mail: rita.miranda@ceuma.br

---

**RESUMO**

O manguezal é um ecossistema de transição terrestre-marinho, rico e propício ao desenvolvimento de diversos seres vivos interessantes no contexto biotecnológico. Tendo em vista a busca por compostos bioativos com propriedades antifúngicas, esta pesquisa teve como objetivo o escalonamento microbiano de isolado de mangue com atividade frente a patógenos agrícolas, em meio de baixo custo. Para avaliação da atividade antifúngica foram utilizados cinco fitopatógenos: *Fusarium solani* (Fp1), *Fusarium oxysporum* (Fp2), *Macrophomina phaseolina* (Fp3), *Rhizoctonia solani* (Fp4), e *Sclerotium rolfsii* (Fp5). O processo foi realizado utilizando Caldo Natural Batata Dextrose, feito para 50ml, 100ml e 250ml, aproveitando a casca da batata que permitiu o

crescimento da bactéria e secreção dos metabólitos secundários para o meio externo, possibilitando a realização do teste difusão em ágar frente aos patógenos agrícolas. Com o escalonamento observou-se que os microrganismos se mantiveram estáveis em todos os volumes utilizados no processo. Após isolamento microbiano de sedimento de manguezal a identificação microbiana e molecular, obteve-se a bactéria *Serratia Marcescens*, uma bactéria gram-negativa. Cultivada comumente em meio clássico para crescimento universal, Mueller Hinton (MH) e meio diferencial macConkey. No entanto, o meio natural proporcionou um aumento desejável no crescimento das colônias de diversos grupos microbianos, pois é rico em açúcares. A bactéria isolada apresentou performance promissora com potencial biocontrolador, visto que, apresentou atividade antifúngica, evidenciada pela formação de halos, para os cinco patógenos agrícolas testados. Portanto, podemos inferir que o processo a utilização de meio de baixo custo estimula e viabiliza o crescimento e a avaliação da atividade microbiana.

**Palavras-chave:** Bioprospecção Microbiana. Biotecnologia. Controle Biológico. Metabólitos Secundários. *Serratia Marcescens*.

#### ABSTRACT

The mangrove swamp is an ecosystem of terrestrial-marine transition, rich and conducive to the development of several interesting living beings in the biotechnological context. In view of the search for bioactive compounds with antifungal properties, the aim of this research was to scale up the microbial activity of mangrove isolates against agricultural pathogens in a low-cost medium. Five phytopathogens were used to evaluate their antifungal activity: *Fusarium solani* (Fp1), *Fusarium oxysporum* (Fp2), *Macrophomina phaseolina* (Fp3), *Rhizoctonia solani* (Fp4), and *Sclerotium rolfsii* (Fp5). The process was carried out using Natural Potato Dextrose Broth, made for 50ml, 100ml and 250ml, taking advantage of the potato peel which allowed the bacteria to grow and secrete secondary metabolites into the external environment, making it possible to carry out the agar diffusion test against the agricultural pathogens. With scaling, it was observed that the microorganisms remained stable in all the volumes used in the process. After microbial isolation from mangrove sediment and microbial and molecular identification, the bacterium *Serratia Marcescens*, a gram-negative bacterium, was obtained. It is commonly cultivated in classic universal growth media, Mueller Hinton (MH) and MacConkey differential media. However, the natural medium provided a desirable increase in the growth of colonies from various microbial groups, as it is rich in sugars. The isolated bacterium showed promising performance with biocontrol potential, since it showed antifungal activity, evidenced by the formation of halos, for the five agricultural pathogens tested. Therefore, we can infer that the process of using low-cost media stimulates and enables the growth and evaluation of microbial activity.

**Keywords:** Microbial Bioprospecting. Biotechnology. Biological Control. Secondary Metabolites. *Serratia Marcescens*.

## RESUMEN

El manglar es un ecosistema de transición terrestre-marino, rico y propicio para el desarrollo de diversos seres vivos de interés en el contexto biotecnológico. Ante la búsqueda de compuestos bioactivos con propiedades antifúngicas, el objetivo de esta investigación fue incrementar la actividad microbiana de aislados de manglar frente a patógenos agrícolas en un medio de bajo coste. Se utilizaron cinco fitopatógenos para evaluar su actividad antifúngica: *Fusarium solani* (Fp1), *Fusarium oxysporum* (Fp2), *Macrophomina phaseolina* (Fp3), *Rhizoctonia solani* (Fp4) y *Sclerotium rolfsii* (Fp5). El proceso se llevó a cabo utilizando Caldo Dextrosa Natural de Patata, elaborado para 50ml, 100ml y 250ml, aprovechando la cáscara de patata que permitía a las bacterias crecer y segregar metabolitos secundarios al medio externo, posibilitando la realización de la prueba de difusión en agar frente a los patógenos agrícolas. Con el escalado, se observó que los microorganismos permanecían estables en todos los volúmenes utilizados en el proceso. Tras el aislamiento microbiano a partir del sedimento del manglar y la identificación microbiana y molecular, se obtuvo la bacteria *Serratia Marcescens*, una bacteria gramnegativa. Se cultiva habitualmente en medios de crecimiento universales clásicos, Mueller Hinton (MH) y medios diferenciales MacConkey. Sin embargo, el medio natural proporcionó un aumento deseable en el crecimiento de colonias de varios grupos microbianos, ya que es rico en azúcares. La bacteria aislada mostró un rendimiento prometedor con potencial de biocontrol, ya que mostró actividad antifúngica, evidenciada por la formación de halos, para los cinco patógenos agrícolas ensayados. Por lo tanto, podemos inferir que el proceso de utilización de medios de bajo costo estimula y posibilita el crecimiento y la evaluación de la actividad microbiana.

**Palabras clave:** Bioprospección Microbiana. Biotecnología. Control Biológico. Metabolitos Secundarios. *Serratia Marcescens*.

## 1 INTRODUÇÃO

O manguezal é um ecossistema de transição terrestre-marinho de regiões tropicais e subtropicais, além de possuir importância geográfica na proteção da costa litorânea e na contenção de sedimentos das bacias hidrográficas, evitando o assoreamento e servindo como reservatório de grande diversidade biológica (BARROS, 2022).

Entretanto, apesar da sua relevância econômica e ecológica, os manguezais vêm sofrendo impactos negativos relacionados a ações antrópicas como o descarte de resíduos domésticos e industriais nas orlas, despejos de

efluentes não tratados, atividades portuárias e pesqueiras irregulares, que comprometem qualidade do ecossistema (DANTAS; DA SILVA, 2021).

O ambiente tem sido cada vez mais evidenciado como objeto de estudo e ferramenta para descobertas de compostos biologicamente ativos, oriundos da atividade de macro e microrganismos, uma vez que, o interesse pela biodiversidade e diferentes potencialidades metabólicas dos organismos impulsionam novas pesquisas e proporcionam o desenvolvimento de produtos biotecnológicos (ROSA *et al.*, 2023).

Os manguezais são fonte de prospecção microbiana, que por ser uma zona de transição, demandam estratégias de adaptação para sobrevivência pelas quais os organismos tendem a se desenvolver e adaptar seu metabolismo (SANTOS *et al.*, 2021). Portanto, os microrganismos que estão presentes nesse habitat são dotados de habilidades de sobrevivência interessantes no contexto biotecnológico, sendo potenciais produtores de enzimas de interesse industrial e novos metabólitos secundários (BERNAL, 2020).

Dois tipos de compostos resultam do metabolismo microbiano podendo ser classificados como primário e secundário. Os metabólitos primários são indispensáveis para o desenvolvimento dos microrganismos, visto que, está associado a reações químicas indispensáveis para a vida da célula (PEREIRA, 2021).

Em contrapartida, os metabólitos secundários são compostos extracelulares secretados no meio de cultura ao longo o crescimento como habilidade de sobrevivência, não estando associados ao crescimento celular (DEVI *et al.*, 2020). Estes contribuem para a ciclagem de nutrientes e degradação da matéria orgânica e são importantes fontes de compostos biologicamente ativos e interessantes para diversas áreas da biotecnologia, dentre as quais, destaca-se o controle biológico (TOMAZELLI *et al.*, 2024).

O controle biológico fundamenta-se na utilização de inimigos naturais para regular uma população de organismos (pragas) (SALES, 2021). É uma alternativa sustentável que proporciona vantagens, benefícios econômicos aliados a preservação do meio ambiente que culminam na redução do uso de agroquímicos e seus efeitos prejudiciais à saúde e equilíbrio ambiental (TOLOZA-MORENO; LIZARAZO-FORERO; URIBE-VÉLEZ, 2020).

Os microrganismos e compostos microbianos, vêm sendo amplamente estudados e implementados como agentes de controle biológico (PEREIRA *et al.*, 2023). Pertencente à família *Enterobacteriaceae*, o gênero *Serratia*, está presente em ambientes variados e têm ganhado destaque por produzir metabólitos que promovem o crescimento de plantas e potencializam o sistema de defesa contra fitopatologias e doenças de plantas e pragas (TRINH; NGUYEN, 2024).

Processos de produção de biocompostos a partir do cultivo microbiano em meio de baixo custo, são uma excelente alternativa que projeta e viabiliza a obtenção de metabólitos secundários com efeito potencial de inibição de patógenos agrícolas, possibilitando a realização de ensaios que atestem essa capacidade (DOS SANTOS; GOLIAS; POLONIO, 2024).

Portanto, tendo em vista a busca de busca por compostos bioativos oriundos da atividade microbiana, o presente trabalho tem como objetivo de avaliar o potencial antifúngico de *Serratia Marcescens* isolada do Mangue Seco, Raposa – MA, frente a patógenos agrícolas, a partir do cultivo em meio de baixo custo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CONTEXTO TEÓRICO: ECOSSISTEMAS MANGUEZAIS E BIOPROSPECÇÃO MICROBIANA

Os manguezais são ecossistemas de transição entre ambientes terrestre e marinho, localizados em regiões tropicais e subtropicais. Eles desempenham funções essenciais, como a proteção de áreas costeiras e a manutenção de uma rica biodiversidade. Além de sua importância ecológica, esses ambientes vêm sendo explorados na bioprospecção de microrganismos devido às suas condições extremas, que incentivam o desenvolvimento de metabólitos únicos e com potencial biotecnológico.

Segundo Rosa *et al.* (2023), os microrganismos presentes em manguezais, por viverem em um ambiente que exige adaptações metabólicas, são produtores de compostos bioativos valiosos. Esses compostos têm grande

aplicabilidade na biotecnologia, sendo de particular interesse no controle biológico, conforme Santos *et al.* (2021) destacam, ao explorar as enzimas e metabólitos secundários de microrganismos do mangue.

## 2.2 CONTROLE BIOLÓGICO: UMA ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL

O controle biológico, uma técnica que utiliza inimigos naturais para controlar populações de pragas agrícolas, vem ganhando destaque como uma alternativa aos pesticidas químicos. Essa abordagem sustentável visa reduzir os impactos ambientais e os riscos à saúde humana associados ao uso de agroquímicos. Trinh e Nguyen (2024) afirmam que o gênero *Serratia*, particularmente *Serratia marcescens*, tem se mostrado promissor no biocontrole, devido à sua capacidade de produzir metabólitos que atuam contra fitopatologias. Isso reforça a viabilidade de usar essa bactéria como biocontrolador em sistemas agrícolas, minimizando o uso de produtos químicos nocivos.

## 2.3 METABÓLITOS MICROBIANOS E SUAS APLICAÇÕES

Os metabólitos microbianos são classificados em primários e secundários. Os primários são essenciais para o crescimento celular, enquanto os secundários, como os que estão sendo investigados neste estudo, não são necessários para o crescimento, mas desempenham um papel crucial na adaptação e sobrevivência dos microrganismos em condições adversas. Esses compostos apresentam atividades antibióticas, antifúngicas e anticancerígenas, sendo de particular interesse no desenvolvimento de biofertilizantes e agentes de controle biológico.

Bernal (2020) ressalta que os metabólitos secundários produzidos por microrganismos de ambientes adversos, como os manguezais, possuem propriedades únicas, que podem ser aplicadas na agricultura sustentável, substituindo produtos sintéticos que impactam negativamente o ambiente.

#### 2.4 *Serratia marcescens*: UM MICRORGANISMO PROMISSOR

A *Serratia marcescens* pertence à família *Enterobacteriaceae* e se destaca por sua versatilidade, sendo encontrada em diversos ambientes. No contexto agrícola, essa bactéria tem ganhado atenção por sua habilidade de produzir compostos bioativos com propriedades antifúngicas, sendo eficaz no controle de doenças de plantas e pragas. Estudos anteriores, como os de Soenens e Imperial (2020), confirmam que microrganismos do gênero *Serratia* têm um papel significativo no controle de fitopatógenos e podem ser utilizados como biocontroladores naturais.

#### 2.5 LACUNAS E DESAFIOS NA LITERATURA

Embora a pesquisa sobre o uso de *Serratia marcescens* no controle biológico tenha avançado, ainda existem lacunas a serem preenchidas. A maioria dos estudos se concentra em sistemas de produção convencionais, com pouco foco em meios de cultivo de baixo custo, como o explorado por esse trabalho, que utilizou um meio natural de batata dextrose, aproveitando resíduos vegetais. A inovação aqui está no desenvolvimento de um processo que combina a sustentabilidade econômica com a eficiência biotecnológica, o que pode ser expandido em pesquisas futuras.

Além disso, as metodologias de escalonamento e otimização do crescimento microbiano em meios alternativos ainda não são amplamente discutidas na literatura, especialmente em relação à adaptação de microrganismos a meios menos convencionais, como o Caldo Natural Batata Dextrose.

#### 2.6 CONSENSOS E CONTRADIÇÕES

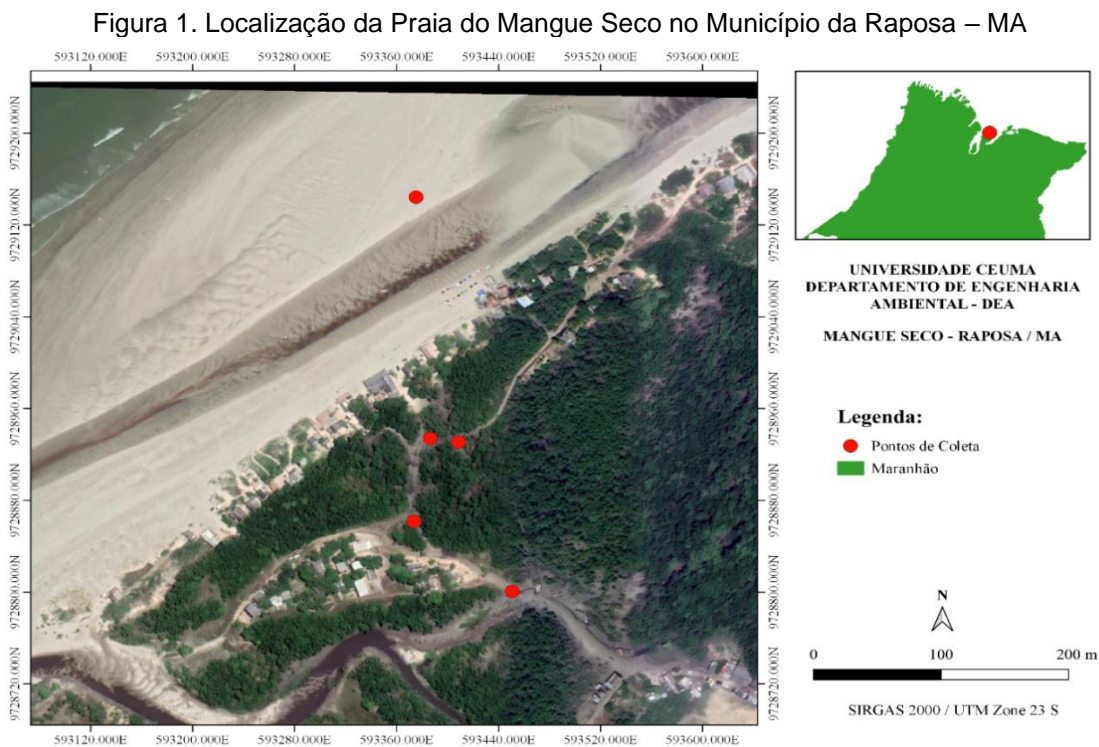
A literatura mostra um consenso quanto ao potencial biotecnológico de microrganismos provenientes de ecossistemas extremos, como os manguezais, para o desenvolvimento de agentes biocontroladores. Contudo, há uma

contradição quanto à viabilidade de produção em larga escala utilizando meios de cultivo de baixo custo, pois estudos como o de Pereira *et al.* (2021) indicam a eficácia desses métodos, mas a falta de padronização e escalabilidade limita sua aplicação comercial.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE COLETA

O isolamento microbiano foi realizado a partir de amostra de sedimento coletada na praia do Mangue Seco, localizada no município de Raposa, situado na mesorregião norte maranhense a 30Km da Capital São Luís conforme as coordenadas 02° 25' 22" S 44° 06' 10" O.



Fonte: Autores (2021)

### 3.2 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA

O isolamento dos microrganismos foi realizado de acordo com metodologia preconizada por Clark (1965), onde 10g de sedimento são incorporados a 90mL de água destilada esterilizada submetidos à agitação vigorosa por 30 minutos e, posteriormente, diluídos seriadamente de 1:10 até 10:1000. Então, um volume de 0,1mL das diluições 10:100 e 10:1000 foram inoculados em meios de cultura seletivo Muller Hinton Ágar pela técnica de espalhamento, incubando as placas em seguida, a  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por até 05 dias.

Após ao crescimento das colônias, foi realizada a purificação pela técnica de esgotamento e posteriormente, repique destas para tubo de ensaio para armazenamento em geladeira a  $4^{\circ}\text{C}$  até a completa identificação. A identificação bacteriana foi realizada por técnica clássica (coloração de Gram) e molecular, a partir da extração do DNA, e amplificação da cadeia polimerase (PCR).

### 3.3 ESCALONAMENTO MICROBIANO EM MEIO DE BAIXO CUSTO

#### 3.3.1 Método de preparação do caldo natural batata dextrose

O meio de crescimento para o cultivo e escalonamento bacteriano foi preparado com os seguintes constituintes: Batata inglesa com casca, dextrose, extrato de levedura, água destilada estéril conforme tabela abaixo:

Tabela 1. Componentes do Caldo Natural Batata Dextrose

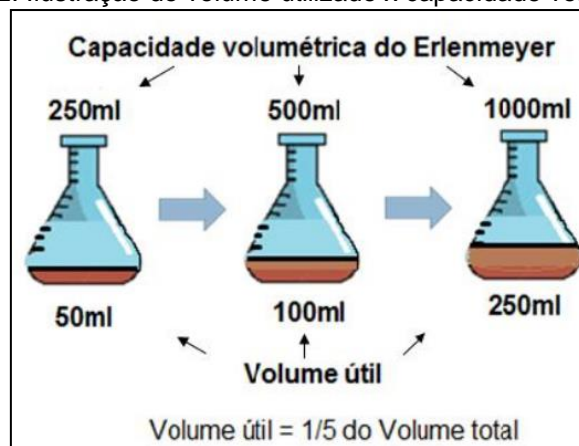
Componentes	Quantidade
Batata com casca	171 g
Dextrose	17,1 g
Extrato de levedura	0,6 g
Água destilada estéril	850 ml

Fonte: Autores (2023)

A batata fora cozida em volume de água destilada satisfatória para total cozimento e, posteriormente, foi adicionada mais água destilada até completar o volume desejado. Em seguida, foram adicionados os demais constituintes do meio e depois de diluídos e homogeneizados, o meio foi colocado em três

Erlenmeyers de capacidade volumétrica de 250ml, 500ml, e 1000ml, para acondicionar 50ml, 100ml e 250ml de meio, respectivamente.

Figura 2. Ilustração do volume utilizado x capacidade volumétrica



Fonte: Autores (2023)

Por conseguinte, foram autoclavados para em seguida, receberem o inóculo da suspensão bacteriana de *Serratia marcescens*.

### 3.3.2 Preparo do inóculo

Com auxílio de swab, utilizando a técnica de entapetamento que consiste no espalhamento uniforme e completo na placa contendo meio de cultura, foi semeada uma suspensão de *Serratia marcescens* em meio Ágar Batata Dextrose (BDA). Em seguida, o material entapetado foi incubado a  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

Foram utilizados Erlenmeyer com capacidade volumétrica de 250ml, 500ml e 1000ml para os volumes finais de caldo 50ml, 100ml e 250ml, respectivamente. Assegurando, dessa forma, o espaço para aeração do microrganismo denominado *headspace*, para que o volume a ser usado seja  $1/5$  do seu volume total. Com isso, 5 blocos circulares foram retirados da placa contendo o entapetamento e inoculados em cada uma das vidrarias contendo o volume respectivo de caldo, seguido de período de incubação em estufa de  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 15 dias.

### 3.4 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE A PATÓGENOS AGRÍCOLAS

#### 3.4.1 Fitopatógenos

O ensaio de atividade antifúngica foi realizado frente a cinco fungos fitopatogênicos obtidos da Coleção de Culturas de Fitopatógenos da Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, Brasil.

Tabela 2. Lista de fitopatógenos usados e respectivas fitopatologias

Código	Fitopatógeno	Fitopatologia
FP1	<i>Fusarium solani</i>	podridão radicular seca
FP2	<i>Fusarium oxysporum</i>	murcha de <i>fusarium</i>
FP3	<i>Macrophomina phaseolina</i>	podridão cinzenta da haste
FP4	<i>Rhizoctonia solani</i>	podridão radicular
FP5	<i>Sclerotium rolfsii</i>	murcha de esclerócio

Fonte: Autores (2023)

#### 3.4.2 Ensaio em meio líquido

Para avaliar a capacidade do microrganismo promissor (*Serratia marcescens*) secretar metabólitos para o meio externo, foi realizado o teste de difusão em ágar preconizado por Bauer *et al.* (1966), e estabelecido como padrão pelo CLSI (2011) – Clinical Laboratory Standards Institute. Consiste na aplicação de 50µl do mosto fermentado (caldo contendo a biomassa microbiana da *Serratia marcescens*) em poços de aproximadamente 6mm de diâmetro no meio BDA contido em placas previamente semeado com os fitopatógenos, seguidas de incubação a 30°C por até 72h. Após esse período, os halos de inibição foram observados e medidos com o auxílio de um paquímetro. O teste foi realizado em triplicata para cada volume do escalonamento (50ml, 250ml, 500ml).

É importante ressaltar que diante da descrição do processo, a ausência de registros na literatura que abrange o cultivo da bactéria gram negativa *Serratia marcescens* em Caldo Natural Batata Dextrose ainda com inclusão do aproveitamento da casca, que de maneira eficaz, possibilitou condições nutritivas favoráveis ao aumento da biomassa microbiana e por conseguinte, metabólitos secundários com potencial de controlar fitopatologias, ou seja, são capazes de

inibir patógenos agrícolas. Portanto, com características promissoras descritas em literatura, a maximização da biomassa microbiana de *Serratia marcescens* torna propícia a otimização para obtenção de produtos bioativos que podem ser implementados no controle biológico de organismos fitopatogênicos.

### 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados quanto às diferenças significativas e pelo teste de Log Rank, por meio da análise de variância (ANOVA). O nível de correlação existente entre os parâmetros testados foi avaliado de acordo com o Índice de Correlação de Spearman. O nível de significância de 95% foi considerado para que as medidas sejam significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA

A partir da metodologia descrita, foi possível a obtenção de microrganismo viável para cultivo em laboratório codificada por B8. Após isolamento microbiano a partir do sedimento de manguezal coletado, constatou-se pela coloração de Gram que o microrganismo isolado se refere a um bacilo gram negativo, apresentando um aspecto leitoso e a presença de um pigmento avermelhado característico. Posteriormente a identificação molecular, foi constatado que a bactéria pertence à família *Enterobacteriaceae* e ao gênero *Serratia*, sendo identificada como *Serratia marcescens*, com similaridade genética acima de 99,3%.

Tabela 3. Identificação molecular microbiana

CÓDIGO	GRUPO MICROBIANO	GRAM	SIMILARIDADE	IDENTIFICAÇÃO
B8	Bactéria	G <sup>-</sup>	99,3%	<i>Serratia marcescens</i>

Fonte: Autores (2023)

### 4.2 ESCALONAMENTO MICROBIANO EM MEIO DE BAIXO CUSTO

#### 4.2.1 Método de preparação do caldo natural batata dextrose

O meio Batata Dextrose Ágar (BDA) é um meio de cultura sólido comumente utilizado principalmente no cultivo de fungos e leveduras, mas proporciona crescimento satisfatório de bactérias filamentosas da ordem Actinomycetales, denominados actomicetos ou ainda, actinobactérias. Por ser um meio rico em açúcares devido a presença da batata, é possível ter sucesso na sua utilização para diferentes microrganismos.

O Caldo Batata Dextrose (BD), além de amplamente utilizado, facilita a degradação da fonte de carbono bem como, a assimilação de nutrientes pelo microrganismo devido à ausência do agente gelificante. É um meio de cultura líquido, podendo ser natural ou sintético, eficiente para propagação microbiana, escalonamento de microrganismos e teste que necessitam de fermentação submersa.

A utilização de Caldo Batata Dextrose Natural, é frequentemente descrita na literatura e apresenta vantagens que se sobressaltam diante das desvantagens. Os ingredientes de sua composição são economicamente e geograficamente acessíveis. Além disso, o preparo desse meio possui um protocolo simples e de fácil execução, que permite a obtenção do caldo em um intervalo de tempo satisfatório. Outra vantagem relevante é o completo aproveitamento dos ingredientes, uma vez que, o processo conta com a utilização da casca da batata.

Em contrapartida, apresenta-se como desvantagem, o tempo despendido para corte da batata de maneira que as frações sejam de menor espessura para abreviar o tempo de cozimento. Ou seja, o tempo de preparo do caldo natural é maior do que o utilizado para preparo do caldo sintético que, por sua vez, é mais oneroso que o natural.

Importa ressaltar, que o Caldo Bata Dextrose Natural, feito com a batata, favoreceu um aumento desejável no crescimento das colônias devido a presença de açúcares e potencializou a performance microbiana com a presença de componentes naturais dispostos no meio, que melhor simula o ambiente natural.

O processo foi escalonado e observou-se que os microrganismos se mantiveram estáveis em todos os volumes úteis utilizados no processo.

#### 4.2.2 Preparo do inóculo

A bactéria isolada apresentou crescimento em tapete satisfatório em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) a  $28^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, sendo possível a obtenção e inóculo de *Serratia marcescens* nos volumes estabelecidos para o escalonamento. Foi possível observar um bom crescimento bacteriano, sendo proporcional aos volumes finais de caldo: 50ml, 100ml e 250ml, considerando o *headspace* como fator determinante para a performance microbiana.

Observou-se ainda, o visível aumento da biomassa bacteriana, evidenciado por uma película flutuante oriunda do crescimento das colônias bacterianas.

#### 4.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE A PATÓGENOS AGRÍCOLAS

Ao analisar os resultados, foi observada no ensaio em meio líquido após o teste de difusão em ágar, atividade antifúngica evidenciada pela formação de halos de inibição frente a todos os fungos fitopatogênicos testados, apresentados na tabela abaixo:

Tabela 4. Tamanho dos halos de Inibição (cm) formados no Teste em Meio Líquido

CÓDIGO	FP1	FP2	FP3	FP4	FP5
B8	15 $\pm$ 1,0	20,6 $\pm$ 1,1	20 $\pm$ 1,0	27,6 $\pm$ 0,5	15 $\pm$ 1,0

Fonte: Autores (2023)

Diante da presença de halos de inibição, infere-se que a bactéria *Serratia marcescens* é capaz de produzir e secretar para o meio externo, metabólitos secundários capazes de inibir a ação dos patógenos agrícolas testados. Destaca-se, portanto, que a maior formação de halo foi frente a *Rhizoctonia solani* (FP5) com 27,6cm de diâmetro, havendo ainda, formação de halo de tamanhos 20,6cm e 20cm para *Fusarium oxysporum* e *Macrophomina*

*faseolina*, respectivamente, e de 15cm para *Fusarium solani* e *Sclerotium rolfsii*.

## 5 DISCUSSÕES

A utilização de meios de cultura na microbiologia é comumente descrita na literatura no processo de cultivo e testes microbianos e visam, em sua variedade, atender as exigências nutricionais dos diferentes grupos microbianos, tornando possível chegar a sua completa identificação (HAUTRIVE, 2021). Um dos mais utilizados para cultivo bacteriano é o meio diferencial macConkey e o Mueller Hinton, um meio universal com pH em torno da neutralidade (7,3), estimulando o crescimento de bactéria, como as do gênero *Serratia* (PEREIRA *et al.* 2023).

Embora cresça bem no meio Mueller Hinton, importa ressaltar que o Ágar Batata Dextrose (BDA) e o Caldo Batata Dextrose (BDA) com pH ajustado para neutralidade, também proporciona o crescimento satisfatório de *Serratia marcescens*, visto que, é frequentemente encontrada em alimentos rico amido (DE AGUIAR *et al.*, 2021).

O gênero *Serratia* é um gênero cosmopolita, uma vez que, pode ser encontrado em diversos ambientes como: água, solo, plantas e vertebrados, destacando-se por sua capacidade de produzir metabólitos secundários e uma diversidade de enzimas extracelulares. É uma bactéria promissora para agricultura sustentável devido ao seu potencial como agente de controle biológico (SOENENS; IMPERIAL, 2020).

Os resultados obtidos na identificação microbiana, corroboram com os resultados obtidos por Nunes Neto *et al.* (2022), que isolou e identificou bactérias a partir de sedimento de manguezal, dentre as quais foi encontrada a *Serratia marcescens*.

Pereira *et al.* (2023), também identificaram um bacilo gram-negativo em seu isolamento microbiano a partir de sedimento de manguezal, cuja identificação bacteriana correspondeu a *Serratia marcescens* elevado percentual de similaridade. Oliveira (2023), isolou bactérias do gênero *Serratia* a partir de

cinco plantas distintas, ratificando o seu potencial promissor na agricultura devido sua a capacidade de solubilização de fostato.

Quanto a atividade antifúngica, os resultados obtidos neste estudo corroboram com a pesquisa de Sales (2021), que obteve 10 microrganismos dentre os quais estão dois isolados de *Serratia marcescens* com atividade frente a fungos fitopatogênicos, do gênero *Fusarium* e *Sclerotium rolfsii*, para quais também houve atividade antifúngica nesse trabalho.

Da Silva *et al.* (2020) utilizou o método de difusão em ágar para avaliação da atividade antimicrobiana como também realizado neste trabalho. Amorim *et al.* (2020), além do teste de difusão em ágar, utilizaram o cultivo me caldo para etapa de fermentação submersa, obtendo crescimento bacteriano satisfatório, assim como na presente pesquisa.

Os patógenos agrícolas sustentam a crescente preocupação com perdas e prejuízos na agricultura. Fitopatógenos como *Rhizoctonia solani* e do gênero *Fusarium* são frequentes em diversos tipos de plantações e podem apresentar resistência devido ao uso indiscriminado de agroquímicos (ABBAS *et al.*, 2022).

## 6 CONCLUSÃO

Diante do exposto, é notável que a bioprospecção microbiana é fundamental para obtenção de isolados promissores e que o ecossistema manguezal é dotado de microrganismos cultiváveis. Os resultados reforçam a capacidade de isolados desse ambiente, produzir compostos bioativos de interesse biotecnológico.

Logo, o processo de produção de composto para controle biológico a partir do cultivo de *Serratia Marcescens* em meio de baixo custo é uma alternativa que a seleção microrganismos quanto sua capacidade de produção de metabólitos ativos frente a microrganismos patogênicos, visto que, o escalonamento do isolado obtido neste trabalho reforçou seu potencial como agente de controle biológico frente a patógenos agrícolas.

Ressalta-se, portanto, que o aproveitamento total da batata no processo aumenta a sua relevância considerando não desperdício da casca. Com isso, faz necessária a continuação de teste que corroborem e complementem os resultados alcançados.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, Aqleem *et al.* Genes de *Trichoderma spp.* envolvidos na atividade de biocontrole contra *Rhizoctonia solani*. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 884469, 2022.
- BARROS, Alexandre Bomfim *et al.* Caracterização físico-química e determinação dos níveis de metais pesados em solo de mangue em Alagoas, Brasil. Tese de Doutorado, Dissertação (Mestrado Profissional em Análise de Sistemas Ambientais) – Centro Universitário CESMAC, Maceió, Alagoas, 2018. Disponível em: <http://srv-bdtd:8080/handle/tede/747>. Acesso em: 01 jan. 2023.
- BAUER, A. W. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 45, n. 4\_ts, p. 493-496, 1966.
- BERNAL, Suzan Prado Fernandes. Avaliação do potencial biotecnológico de bactérias e fungos isolados de uma estação de tratamento de indústria têxtil. Dissertação de Mestrado, 2020.
- CLARK, Francis Edward. Agar-Plate Method for Total Microbial Count. In: Methods of soil analysis. Part 2. *Chemical and microbiological properties*, n. methodsofsoilanb, p. 1460-1466, 1965.
- DANTAS, Andréia Bárbara Serpa; DA SILVA, José Alexandre. Seminário do Mestrado em Ciências Ambientais: apresentação e informações iniciais. *Cadernos Macambira*, v. 6, n. 2, p. 1-11, 2021.
- DE AGUIAR, Luana Farias *et al.* Pigmento vermelho produzido por *Serratia marcescens* UFPEDA 223: otimização e avaliação da atividade antimicrobiana. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 8, p. 85342-85357, 2021.
- DEVI, Rubee *et al.* Fungal secondary metabolites and their biotechnological applications for human health. In: *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Elsevier, 2020. p. 147-161.
- DOS SANTOS, Maitê Bernardo Correia; GOLIAS, Halison Correia; POLONIO, Julio Cesar. Microrganismos: uma porta para a química verde através da produção de flavours naturais. *Revista Contemporânea*, v. 4, n. 7, p. e5181-e5181, 2024.
- HAUTRIVE, Tiffany Prokopp. *Ciência e tecnologia de alimentos*. Editora Insular, 2021.
- NUNES NETO, Wallace Ribeiro *et al.* Identificação de bactérias produtoras de compostos ativos de superfície isoladas de sedimentos de mangue. Dissertação de Doutorado, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), 2022.
- OLIVEIRA, Kleber de. Bioprospecção de bactérias visando ativos biológicos para biofertilizantes. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), 2023.

PEREIRA, Érima Jôyssielly Mendonça Castro *et al.* Potencial de biocontrole de *Serratia marcescens* (B8) e *Bacillus sp.* (B13) isolados de manguezais urbanos em Raposa, Brasil. *Life*, v. 13, n. 10, p. 2036, 2023.

ROSA, Marilene da Silva *et al.* Bioprospecção de compostos com potencial atividade antibacteriana e antiTrypanosoma cruzi a partir do biobanco de fungos endofíticos de plantas de mangue da Ilha de Santa Catarina, 2023.

SALES, C. R. Inibição do crescimento de *Spodoptera frugiperda* e fitopatógenos causados por isolados bacterianos obtidos de lagartas infectadas com microrganismos do solo. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal – SP, 2021.

SOENENS, A.; IMPERIAL, J. Biocontrol capabilities of the genus *Serratia*. *Phytochemistry Reviews*, v. 19, n. 3, p. 577-587, 2020.

TOLOZA-MORENO, Deisy Lisseth; LIZARAZO-FORERO, Luz Marina; URIBE-VÉLEZ, Daniel. Antagonist capacity of bacteria isolated from cape gooseberry cultures (*Physalis peruviana* L.) for biological control of *Fusarium oxysporum*. *Tropical Plant Pathology*, v. 45, p. 1-12, 2020.

TRINH, Lai Loi; NGUYEN, Hoai Huong. Role of plant-associated microbes in plant health and development: the case of the *Serratia* genus. *Technology in Agronomy*, n. tia-0024-0025, p. 1-16, 2024.