

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

**AVALIAÇÃO FUNCIONAL E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ÁGUA RESIDUÁRIA
DE AGROINDÚSTRIAS DE MANDIOCA: DO ISOLAMENTO À ANÁLISE
METAGENÔMICA**

DEBORA MARINA BANDEIRA

CASCAVEL – PR

2025

DEBORA MARINA BANDEIRA

**AVALIAÇÃO FUNCIONAL E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ÁGUA RESIDUÁRIA
DE AGROINDÚSTRIAS DE MANDIOCA: DO ISOLAMENTO À ANÁLISE
METAGENÔMICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento aos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Engenharia Agrícola, área de concentração de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

Orientadora: Prof^a. Dra. Simone Damasceno Gomes

Coorientadora: Prof^a Dra. Fabiana Gisele da Silva Pinto

CASCADEL – PR

2025

FICHA CATALOGRÁFICA¹

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Bandeira, Debora Marina
AVALIAÇÃO FUNCIONAL E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ÁGUA
RESIDUÁRIA DE AGROINDÚSTRIAS DE MANDIOCA: DO ISOLAMENTO À
ANÁLISE METAGENÔMICA / Debora Marina Bandeira; orientadora
Simone Damasceno Gomes; coorientadora Fabiana Gisele da
Silva Pinto. -- Cascavel, 2025.
91 p.

Tese (Doutorado Campus de Cascavel) -- Universidade
Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Exatas e
Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Agrícola, 2025.

1. Resíduos agroindustriais. 2. Microbioma. 3.
Biotecnologia. 4. Predição funcional. I. Gomes, Simone
Damasceno, orient. II. Pinto, Fabiana Gisele da Silva,
coorient. III. Título.

¹ Revisão de português, inglês e de normas realizada por Silvana de Araújo Vaillões, em março de 2025.

FOLHA DE APROVAÇÃO



unioeste
Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Reitoria
CNPJ 78.680.337/0001-84
Rua Universitária, 1619, Jardim Universitário
Tel.: (45) 3220-3000 - www.unioeste.br
CEP: 85819-110 - Cx. P.: 701
Cascavel - PARANÁ



DEBORA MARINA BANDEIRA

AVALIAÇÃO FUNCIONAL E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE AGROINDÚSTRIAS DE MANDIOCA: DO ISOLAMENTO À ANÁLISE METAGENÔMICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia Agrícola, área de concentração Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, linha de pesquisa Saneamento Ambiental, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br SIMONE DAMASCENO GOMES
Data: 24/03/2025 16:17:37-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Orientador(a) - Simone Damasceno Gomes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Documento assinado digitalmente
gov.br ADAILSON FEITOZA DE JESUS SANTOS
Data: 27/03/2025 21:03:44-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Adailson Feitoza de Jesus Santos

Universidade do Estado da Bahia (UNEB)

Documento assinado digitalmente
gov.br ARIANI LETICIA DA SILVA TOMOTO
Data: 27/03/2025 13:25:47-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Aruani Letícia da Silva Tomoto

Biomundi Engenharia

Documento assinado digitalmente
gov.br ADRIANA ZEMIANI CHALLIOL
Data: 27/03/2025 09:29:37-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Adriana Zemiani Challiol

Universidade Federal da Integração Latino-Americana (Unila)

Documento assinado digitalmente
gov.br FABIANA GISELE DA SILVA PINTO
Data: 26/03/2025 15:37:16-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Fabiana Gisele da Silva Pinto

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Cascavel, 20 de março de 2025.

BIOGRAFIA

Debora Marina Bandeira nasceu em 12 de setembro de 1990, na cidade de Pranchita, Paraná. É Bacharela em Ciências Biológicas pela Universidade Paranaense (UNIPAR), Unidade Universitária de Francisco Beltrão – PR, formada em 2018, tendo sido bolsista pelo Programa Universidade Para Todos (PROUNI) e desenvolvido seu Trabalho de Conclusão de Curso na área de Microbiologia.

Em 2021, concluiu o Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos Naturais pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus Cascavel – PR, com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Sua dissertação abordou Microbiologia e Atividades Biológicas, com ênfase no desenvolvimento de pesquisas em Biotecnologia, especialmente em nanopartículas verdes.

No ano de 2024, tornou-se Especialista em Microbiologia Agrícola pela Unyleya. Além disso, realizou um intercâmbio acadêmico na Kyoto Prefectural University, em 2025, no Japão, por meio do Projeto Sakura Science.

Atualmente, Debora é doutoranda, bolsista CAPES, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, na linha de pesquisa de Saneamento, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) – Campus Cascavel – PR. Sua pesquisa é orientada pela professora Dra. Simone Gomes Damasceno e coorientada pela professora Dra. Fabiana Gisele da Silva Pinto.

“Quem não corre o risco nada aprende e
consequentemente nada será e assim
permanecerá acorrentado à ignorância e ao
medo, pois quem arrisca está livre.”
Affonso Celso Gonçalves Jr.

DEDICATÓRIA

A todos e a tudo que me ensinou a ser mais forte, meu profundo obrigada. E aos verdadeiros que permaneceram, minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Olurum, Nossa Senhora Aparecida, Oxum, e ao Universo, pelo dom da vida e por terem me guiado e protegido durante todo o período da pós-graduação em Engenharia Agrícola.

Aos meus pais, Vlademir e Lizane, aos meus irmãos e à minha afilhada, Laura, por todo o incentivo, apoio e compreensão, especialmente nos momentos difíceis, quando minha dedicação a este trabalho exigiu minha ausência. Um agradecimento especial ao meu pai, que sempre me disse: "*Se fosse fácil, minha filha, todos fariam.*"

À minha coorientadora, professora Dra. Fabiana Gisele da Silva Pinto, por sua orientação em diversas áreas, pelos conselhos, oportunidades e apoio ao longo desses seis anos junto (mestrado e doutorado) ao LAMIBI – Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia. Obrigada pelas amizades, pelos ensinamentos e por contribuir imensamente para minha formação.

Às colegas, que estiveram presentes ao longo da jornada do doutorado, auxiliando nos experimentos e na vida pessoal.

Agradeço também àqueles que passaram pela minha vida e a tornaram um verdadeiro desafio, quase me fazendo desistir de tudo. Vocês me mostraram o quanto sou resiliente e forte e, acima de tudo, me ensinaram que a verdade sempre prevalece e que o mal se combate com o bem.

Ao Wesley, que esteve ao meu lado, sempre me lembrando do quanto sou capaz.

À minha amiga Larissa, que surgiu no meio do caos e me ajudou a redescobrir minha paixão pela pesquisa, desenvolvimento e inovação.

À minha orientadora, professora Dra. Simone Damasceno Gomes, por sua orientação, apoio no desenvolvimento do trabalho.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), por proporcionar ensino gratuito e de qualidade.

Ao LAMIBI e o Laboratório de Saneamento, seus integrantes e amigos, que sempre se dispuseram a colaborar em todas as etapas da realização da pesquisa.

Ao professor André Cruz da KPU no Japão, pela oportunidade de intercâmbio, pela realização e ensino sobre a metagenômica.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, cuja contribuição foi essencial para minha formação acadêmica e profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro por meio da bolsa concedida.

E, por fim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste projeto.

Meu sincero obrigada!

Bandeira, Debora Marina. **Avaliação funcional e potencial biotecnológico da água residuária de agroindústrias de mandioca: do isolamento à análise metagenômica.** Orientadora: Simone Damasceno Gomes; Coorientadora: Fabiana Gisele da Silva Pinto. 2025. 91 f – Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2025.

RESUMO GERAL

A mandioca é reconhecida como uma cultura agrícola de grande importância no Brasil, a qual gera subprodutos com alta carga orgânica. A toxicidade das águas residuárias associadas ao processamento da mandioca não se limita apenas ao excesso de compostos orgânicos e açúcares, mas também à presença de cianoglicosídeos, que representam riscos ambientais se não forem adequadamente tratadas. No entanto, essas águas residuárias possuem potencial significativo como fonte de nutrientes e compostos bioativos para aplicações biotecnológicas sustentáveis, mitigando impactos ambientais adversos. Este estudo avaliou amostras de água residuária de duas agroindústrias processadoras de mandioca: uma processadora de fécula (ARFe) e outra processadora de farinha (ARFa). O objetivo foi investigar a composição microbiana e o potencial biotecnológico desses resíduos por meio de métodos de isolamento microbiológico, metagenômica e testes funcionais. No artigo 1, os isolados bacterianos foram obtidos com base no método de diluição seriada e isolamento, seguido de caracterização morfológica e tintorial por Gram e fisiológica quanto à fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e potássio, além da síntese de sideróforos. Foram obtidos 182 isolados bacterianos, que demonstraram capacidades funcionais relevantes para a agricultura, incluindo alta taxa de fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato e potássio, e produção de sideróforos, especialmente nos isolados de ARFa, o que indica potencial para o desenvolvimento de biofertilizantes. No artigo 2, foi realizada a análise metagenômica das águas residuárias que revelaram a predominância dos filos Proteobacteria, Bacteroidota e Firmicutes, com maior abundância dos gêneros *Gemmatimonas*, *Nannocystis* e *Bacillus*. Apesar das variações químicas entre as amostras, os perfis taxonômicos e funcionais permaneceram estáveis ao longo dos anos de 2022 a 2024. A correlação significativa entre diversidade funcional e disponibilidade de substratos reforça o impacto direto dos fatores físico-químicos de cada água residuária na estrutura microbiana e no comportamento metabólico dos microrganismos. No terceiro artigo, foram realizados experimentos de fermentação utilizando águas residuárias como substrato para a bactéria *Priestia aryabhatai* (CCMMIAB-UNIO423), visando à produção de ácido indol-3-acético (AIA) sob diferentes condições de suplementação (S1 e S2). Ambas as amostras sustentaram crescimento microbiano exponencial; a ARFa apresentou crescimento inicial mais rápido, seguido por queda associada ao esgotamento de nutrientes, enquanto a ARFe mostrou crescimento mais estável e prolongado ao longo do tempo. A suplementação S2 (caseína, ureia, sacarose e fosfato de potássio) resultou em maior viabilidade celular em comparação à S1 (glicerol, nitrato de amônio e extrato de levedura), com destaque para a produção elevada de ácido indol-3-acético (AIA), especialmente na ARFa. Os resultados indicam o potencial biotecnológico das águas residuais da mandioca para aplicações em biorremediação e na produção de biofertilizantes. O estudo reforça a viabilidade do aproveitamento desses efluentes como substrato para o crescimento de microrganismos promotores do crescimento vegetal, o que contribui para a redução do impacto ambiental e promove a sustentabilidade nas cadeias produtivas agrícolas.

Palavras-chave: Resíduos agroindustriais; Microbioma; Biotecnologia;

Bandeira, Debora Marina. **Functional evaluation and biotechnological potential of wastewater from cassava agro-industries**: from isolation to metagenomic analysis. Advisor: Simone Damasceno Gomes; Co-advisor: Fabiana Gisele da Silva Pinto. 2025. 91 p. – Thesis (Doctorate in Agricultural Engineering) – Graduate Program in Agricultural Engineering, Western Paraná State University, Cascavel, 2025.

ABSTRACT

Cassava is recognized as an agricultural crop of great importance in Brazil, which generates by-products with a high organic load. The toxicity of the wastewater associated with cassava processing is limited to the excess of organic compounds and sugars and the presence of cyanoglycosides, which pose environmental risks if not adequately treated. However, this wastewater has significant potential as a source of nutrients and bioactive compounds for sustainable biotechnological applications, mitigating adverse environmental impacts. This study evaluated wastewater samples from two cassava processing agro-industries: a starch processor (ARFe) and a flour processor (ARFa). The aim was to investigate this waste's microbial composition and biotechnological potential using microbiological isolation methods, metagenomics, and functional tests. In article 1, bacterial isolates were obtained using the serial dilution and isolation method, followed by morphological and Gram stain characterization and physiological characterization regarding biological nitrogen fixation, phosphate and potassium solubilization, and siderophore synthesis. A total of 182 bacterial isolates were obtained, which demonstrated functional capacities relevant to agriculture, including a high rate of nitrogen fixation, phosphate and potassium solubilization, and siderophore production, especially in the ARFa isolates, which indicates potential for the development of biofertilizers. Article 2 carried out a metagenomic analysis of wastewater, which revealed a predominance of the Proteobacteria, Bacteroidota, and Firmicutes phyla, with a greater abundance of the *Gemmatimonas*, *Nannocystis*, and *Bacillus* genera. Despite the chemical variations between the samples, the taxonomic and functional profiles remained stable from 2022 to 2024. The significant correlation between functional diversity and substrate availability reinforces the direct impact of the physicochemical factors of each wastewater on the microbial structure and metabolic behavior of the microorganisms. In the third article, fermentation experiments were carried out using wastewater as a substrate for the bacterium *Priestia aryabhatai* (CCMMIAB-UNIO423) to produce indole-3-acetic acid (IAA) under different supplementation conditions (S1 and S2). Both samples sustained exponential microbial growth; ARFa showed faster initial growth, followed by a decline associated with nutrient depletion, while ARFe showed more stable and prolonged growth over time. S2 supplementation (casein, urea, sucrose, and potassium phosphate) resulted in greater cell viability compared to S1 (glycerol, ammonium nitrate, and yeast extract), with a high production of indole-3-acetic acid (IAA), especially in ARFa. The results indicate the biotechnological potential of cassava wastewater for applications in bioremediation and the production of biofertilizers. The study reinforces the feasibility of using these effluents as a substrate for the growth of plant growth-promoting microorganisms, which contributes to reducing environmental impact and promotes sustainability in agricultural production chains.

Keywords: Agro-industrial waste; Microbiome; Biotechnology; Functional prediction.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos	18
3 REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1 Importância agrônômica e industrial da mandioca: produção e processamento ...	19
3.2 Água residuária do processamento da mandioca: Composição, Potencial Biotecnológico e Desafios Ambientais	21
3.3 Inovações no Isolamento Microbiano e Aplicações Sustentáveis na Cadeia Produtiva da Mandioca.....	23
3.4 Análises Metagenômicas Aplicadas a Efluentes Agroindustriais	25
REFERÊNCIAS	27
ARTIGO 1 – SCREENING E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE MICRORGANISMOS DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE AGROINDÚSTRIAS PROCESSADORAS DE MANDIOCA ...	32
1 INTRODUÇÃO	32
2 MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1 Coleta dos resíduos.....	33
2.2 Isolamento e caracterização dos microrganismos.....	34
2.3 Capacidade de Fixação de Nitrogênio em Meio Livre de Nitrogênio (NFb)	34
2.4 Avaliação qualitativa de solubilizadores de fosfato inorgânico	34
2.5 Avaliação qualitativa de solubilizadores de potássio	35
2.6 Avaliação da capacidade de produção de sideróforos	35
3 Resultados e Discussão	36
3.1 Caracterização dos isolados.....	36
3.2 Capacidade de fixação de Nitrogênio em Meio Livre de Nitrogênio (NFb)	39
3.3 Solubilizadores de fosfato inorgânico e potássio	42
3.4 Capacidade de produção de sideróforos	46
CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	48
ARTIGO 2 – ANÁLISE METAGENÔMICA E FUNCIONAL DE COMUNIDADES MICROBIANAS EM ÀGUA RESIDUÁRIA DE AGROINDÚSTRIAS DE MANDIOCA	53
INTRODUÇÃO	53
2 MATERIAL E MÉTODOS	55
2.1 Coleta dos resíduos.....	55
2.2 Biolog EcoPlate.....	55

2.3 Análise da comunidade bacteriana pelo sequenciamento de Amplicon	56
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	68
ARTIGO 3 – AVALIAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE AGROINDÚSTRIA PROCESSADORA DE MANDIOCA COMO SUBSTRATO SUSTENTÁVEL PARA A PRODUÇÃO DE FITO-HORMÔNIO ÁCIDO INDOL-3-ACÉTICO POR <i>Priestia aryabhatai</i>	70
1 INTRODUÇÃO	70
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	72
2.1 Coleta e armazenamento.....	72
2.2 Caracterização físico-química da água residuária	73
2.3 Quantificação de metais.....	73
2.4 Microrganismo e preparação do inóculo	73
2.5 Otimização do uso de água residuária de indústria de processadora de mandioca para a produção de <i>P. aryabhatai</i> e Ácido Indolacético (AIA)	74
2.6 Fermentação submersa.....	74
2.7 Curva de crescimento bacteriano em substratos de água residuária de mandioca com e sem suplementação	75
2.8 Contagem de células viáveis – Unidades Formadoras de Colônias (UFC mL ⁻¹)	75
2.8 Produção de Ácido Idol-3-Acético (AIA).....	75
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
3.1 Cinética de crescimento microbiano.....	76
3.2 Viabilidade celular das diferentes amostras de águas residuárias do processamento da mandioca.....	82
3.3 Produção de Ácido Idol-3-acético (AIA).....	84
3.4 Resultados da análise de metais na água residuária de mandioca	86
4 CONCLUSÃO.....	88
REFERÊNCIAS.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Comparação entre os Processos de Produção de Fécula e Farinha de Mandioca	19
Tabela 2 Caracterização média de águas residuárias do processamento da mandioca para a obtenção de fécula e farinha.....	23
Tabela 3 Composição físico-química das águas residuárias das indústrias processadoras de mandioca.....	73
Tabela 4 Nutrientes usados na suplementação das águas residuárias das indústrias de farinha de mandioca (ARFa) e de fécula de mandioca (ARFe).....	74
Tabela 5 Células viáveis (UFC mL-1) de <i>Priestia aryabhatai</i> utilizando como substrato a água residuária de fecularia.....	77
Tabela 6 Viabilidade celular de <i>Priestia aryabhatai</i> em diferentes formulações de água residuária de fecularia após 36 horas de fermentação.....	78
Tabela 7 Células viáveis (UFC mL-1) de <i>Priestia aryabhatai</i> utilizando como substrato a água residuária da farinha.	80
Tabela 8 Viabilidade celular de <i>Priestia aryabhatai</i> em diferentes formulações de água residuária de farinha após 36 horas de fermentação	81
Tabela 9 Viabilidade celular de <i>Priestia aryabhatai</i> em diferentes formulações de água residuária de farinha (ARFa) e fécularia (ARFe) após 36 horas de fermentação	82
Tabela 10 Produção de Ácido Indolacético-3-acético (AIA) por <i>Priestia aryabhatai</i> em diferentes substratos.....	85
Tabela 11 Quantificação de metais na água residuária bruta e inoculada com <i>Priestia aryabhatai</i>	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fluxograma do processamento da mandioca em casas de farinha para a produção de fécula. Fonte: Elaborado pela autora, baseado no trabalho de Tonello (2022).....	20
Figura 2 Fluxograma do processamento da mandioca em casas de farinha para a produção da farinha “seca”.....	21
Figura 3 Diagramas de Venn indicando o potencial dos isolados bacterianos da ARFe em relação aos desempenhos bioquímicos.....	36
Figura 4 Diagramas de Venn indicando o potencial dos isolados bacterianos da ARFa em relação aos desempenhos bioquímicos.....	37
Figura 5 Porcentagem de isolados bacterianos de águas residuárias de processamento de mandioca com capacidade de fixação biológica de nitrogênio. ARFe:Água Residuária de fecularia e ARFa: Água Residuária de farinha.	40
Figura 6 Teste de fixação biológica de nitrogênio (FBN) em meio NFB, livre de fonte nitrogenada.....	41
Figura 7 Porcentagem de isolados bacterianos de águas residuárias do processamento da mandioca com capacidade de solubilizar potássio. ARFe:Água Residuária de fecularia e ARFa: Água Residuária de farinha.....	42
Figura 8 Porcentagem de isolados bacterianos das águas residuárias do processamento da mandioca com capacidade de solubilizar fosfato. ARFe:Água Residuária de fecularia e ARFa: Água Residuária de farinha.....	45
Figura 9 Porcentagem de isolados bacterianos da água residuária de indústria de farinha de mandioca (ARFa) com capacidade de produção de sideróforos.....	46
Figura 10 Porcentagem de isolados bacterianos da água residuária de indústria de fécula de mandioca (ARFe) com capacidade de produção de sideróforos.....	47
Figura 11 Abundância relativa de filos bacterianos dominantes na água residuária de agroindústria de farinha de mandioca (ARFa) e de fécula de mandioca (ARFe) nos anos de 2022 e 2024.....	57
Figura 12 Abundância relativa de gêneros bacterianos dominantes na água residuária de agroindústria de farinha de mandioca (ARFa) e de fécula de mandioca (ARFe) nos anos de 2022 e 2024.....	58
Figura 13 Predição funcional presente na água residuária de agroindústria de farinha (ARFa) e de fécula (ARFe) de mandioca nos anos de 2022 e 2024.....	59
Figura 14 Heatmaps comparativos da utilização de substratos de carbono em microbiomas das águas residuárias dos processos de obtenção de farinha de mandioca (ARFa) e de fécula de mandioca (ARFe) nos anos de 2022 e 2024.....	61

Figura 15 Evolução da diversidade funcional ao longo do tempo da comunidade microbiana das águas residuárias dos processos de obtenção da farinha (ARFa) e da fécula (ARFe) nos anos de 2022 e 2024.	62
Figura 16 Correlação linear entre o número de substratos utilizados e a diversidade funcional das comunidades microbianas presentes em águas residuárias da agroindústria da mandioca, obtida por meio do sistema Biolog EcoPlate.	64
Figura 17 Análise de Componentes Principais (PCA) dos perfis metabólicos das comunidades microbianas em águas residuárias da agroindústria da mandioca (farinha e fécula), 2022 e 2024.	65
Figura 18 Análise de Coordenadas (Bray-Curtis) e Agrupamento das comunidades microbianas em águas residuárias da agroindústria da mandioca farinha (ARFa) e fécula (ARFe), 2022 e 2024.	67
Figura 19 Curva de crescimento de <i>Priestia aryabhatai</i> utilizando como substrato a água residuária coletada da fecularia (ARFe).....	77
Figura 20 Curva de crescimento de <i>Priestia aryabhatai</i> utilizando como substrato a água residuária coletada na farinheira.....	79
Figura 21 Curva de crescimento de <i>Priestia aryabhatai</i> em água residuária da fecularia (ARFe) e da farinheira (ARFa).	83

1 INTRODUÇÃO

A água residuária proveniente das agroindústrias de mandioca apresenta elevada carga orgânica e potencial contaminante, o que a configura como um desafio ambiental relevante. O manejo inadequado desse efluente pode ocasionar a contaminação de solos e corpos hídricos, em virtude da mobilização de nutrientes e compostos orgânicos solúveis. Além disso, durante o processamento da mandioca – especialmente nas etapas de descascamento, raspagem e extração do amido – são gerados grandes volumes de efluentes com composição orgânica complexa (Costa *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2020). A degradação anaeróbia da matéria orgânica presente nas águas residuárias de processamento de mandioca favorece a atividade de microrganismos metanogênicos, os quais convertem os compostos orgânicos em metano (CH₄), além de produzirem dióxido de carbono (CO₂) e, em determinadas condições, óxidos de nitrogênio (N₂O). Esses gases possuem elevado potencial de aquecimento global, contribuindo significativamente para a intensificação do efeito estufa (Oliveira e Souza, 2021).

Apesar dos impactos ambientais adversos, essa água residuária também se configura como um recurso promissor para aplicações biotecnológicas. Sua composição favorece o desenvolvimento de processos inovadores, como a produção de biogás, bioplásticos, enzimas industriais e a realização de biorremediação, a qual pode ser implementada tanto pela ação direta de microrganismos capazes de degradar compostos tóxicos, por meio de estratégias de bioaugmentação e biostimulação, quanto pela extração e aplicação de enzimas específicas que catalisam a transformação dos poluentes em subprodutos de valor agregado (Ferreira *et al.*, 2022; Martins e Lima, 2020).

Os avanços nas tecnologias ômicas (proteômicas, metabolômicas) sobretudo na metagenômica, ampliaram as possibilidades de explorar a diversidade microbiana presente nesses efluentes. Essa abordagem permite identificar tanto microrganismos cultiváveis quanto comunidades inteiras, revelando suas interações ecológicas e possibilitando novas perspectivas para a utilização biotecnológica da água residuária de mandioca (Almeida *et al.*, 2018).

Entretanto, o conhecimento sobre a composição microbiana específica e as funções desempenhadas por essas comunidades permanece limitado, pois a maioria dos estudos concentra-se nas características físico-químicas dos efluentes, deixando a microbiota nativa pouco explorada (Rodrigues e Vieira, 2020). A identificação de genes funcionais nesse ambiente pode promover soluções inovadoras para o tratamento dos efluentes e para o desenvolvimento de novos bioprodutos.

Além disso, a caracterização funcional e metagenômica da microbiota presente na água residuária pode revelar cepas com alto potencial para processos de remediação ambiental, desenvolvimento de bioinsumos agrícolas e geração de produtos de alto valor

agregado (Gonçalves e Pereira, 2021). Estudos indicam que os efluentes industriais atuam como nichos ecológicos singulares, favorecendo a seleção natural de microrganismos adaptados a condições extremas, capazes de degradar compostos tóxicos e de promover ciclos biogeoquímicos essenciais (Barbosa *et al.*, 2019).

Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo principal avaliar a composição microbiana e o potencial biotecnológico da água residuária proveniente das agroindústrias de mandioca, utilizando abordagens de isolamento microbiológico, testes funcionais e análises metagenômicas. Espera-se que os resultados contribuam para o desenvolvimento de estratégias inovadoras e sustentáveis no manejo desses efluentes, gerando benefícios ambientais e industriais significativos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a composição microbiana e o potencial biotecnológico da água residuária proveniente de agroindústrias de processamento de mandioca, por meio de abordagens de isolamento microbiológico, testes funcionais e análises metagenômicas.

2.2 Objetivos específicos

- Isolar e identificar microrganismos com potencial biotecnológico a partir da água residuária;
- Avaliar as capacidades metabólicas e funcionais dos microrganismos isolados das águas residuárias;
- Aplicar análise metagenômica nas águas residuárias dos diferentes processos para explorar a diversidade microbiana não cultivável;
- Explorar o potencial da água residuária como substrato para a biossíntese de AIA por *Priestia aryabhatai* (CCMMIAB -UNIO423).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Importância agrônômica e industrial da mandioca: produção e processamento

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), pertencente à família Euphorbiaceae, é uma cultura fundamental para regiões tropicais e subtropicais, que desempenha um papel crucial na segurança alimentar global (Oliveira *et al.*, 2021). Sua propagação vegetativa por meio de ramas facilita a adaptação a solos de baixa fertilidade e confere resistência à estiagem, características que favorecem seu cultivo em diferentes condições agroecológicas (Araujo *et al.*, 2018). As variedades de mandioca são classificadas em amargas e doces, diferenciadas principalmente pelos teores de ácido cianídrico (Silva *et al.*, 2020), um fator relevante tanto para o consumo quanto para o processamento industrial.

Em 2023, o Brasil registrou um aumento de 1,3% na produção de mandioca, em relação ao ano de 2022, alcançando mais de 18,2 milhões de toneladas colhidas. O estado do Paraná destacou-se como um dos principais produtores, respondendo por cerca de 17,6% da produção nacional, com uma produtividade média de 24,18 toneladas por hectare. Além disso, o Paraná lidera na produção de fécula de mandioca, um insumo versátil utilizado na alimentação humana, na nutrição animal e em diversos setores industriais, o que consolida sua importância econômica na cadeia produtiva do país (CONAB, 2023).

Segundo Silva *et al.* (2019), o processamento da raiz da mandioca é bastante simples, entretanto, o rendimento médio do processo varia de 25 a 30%. Existem duas formas de obtenção de produtos amiláceos da mandioca (Tabela 1); a primeira efetiva-se por meio das farinhas, em que a raiz é processada para a produção de farinha; e a outra nas fecularias, onde é obtida a fécula. Vale ressaltar que, a partir da fécula, também se pode obter o polvilho azedo.

Tabela 1 Comparação entre os Processos de Produção de Fécula e Farinha de Mandioca

Aspecto	Fecularia (Fécula)	Indústria de Farinha
Produto final	Fécula de mandioca	Farinha de mandioca
Processo principal	Extração da fécula por lavagem e separação por decantação ou centrifugação	Trituração e torração da massa de mandioca
Uso de água	Alto consumo de água na lavagem e separação da fécula (~4.000–7.000 L/ton)	Uso moderado de água na lavagem e prensagem (~600 L/ton)
Resíduos gerados	Bagaço (fibra) e matéria orgânica	Líquido da prensagem e matéria orgânica
Secagem	Secadores de túnel ou <i>flash dryer</i>	Torração em fornos ou tachos

Fonte: Elaborado pela autora a partir de dados de Tomoto (2020;2024); Tonello (2022); Vivelt (2019).

A seguir, é apresentada uma breve descrição sobre os processos para a obtenção da fécula e da farinha de mandioca:

umidade do material. Em alguns processos, especialmente para a produção de farinha d'água, a massa prensada é submetida à fermentação em tanques, de forma que as raízes ficam submersas por 3 a 5 dias, permitindo a fermentação natural e a acidificação, o que contribui para a detoxificação do produto. Após a fermentação (quando aplicada), a massa é torrada em fornos rotativos, conferindo à farinha as características de cor, aroma e sabor desejadas. Por fim, a massa torrada é moída e peneirada, resultando na farinha com a granulometria especificada para o mercado (Oliveira *et al.*, 2020; Saravanan *et al.*, 2020).

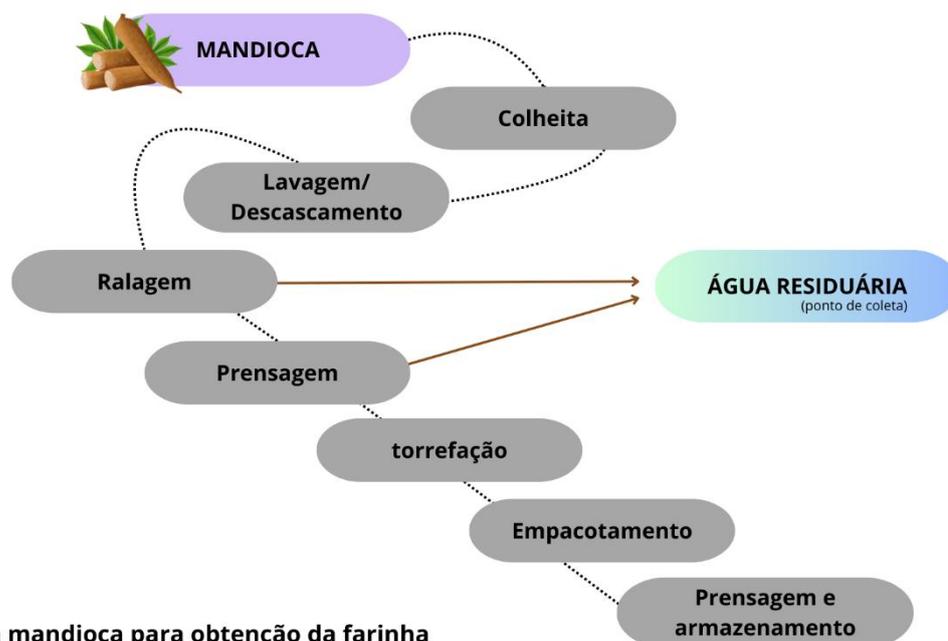


Figura 2 Fluxograma do processamento da mandioca em casas de farinha para a produção da farinha "seca"

Fonte: Elaborada pela autora.

3.2 Água residuária do processamento da mandioca: Composição, Potencial Biotecnológico e Desafios Ambientais

A água residuária, no contexto do processamento de mandioca, é o efluente gerado durante as etapas industriais de descascamento, raspagem e extração do amido. Esse resíduo pode apresentar variações significativas na concentração de matéria orgânica, como açúcares e outros compostos solúveis, o que favorece sua biodegradabilidade. Além disso, os resíduos provenientes do processamento da mandioca possuem alto potencial para aproveitamento biotecnológico, uma vez que apresentam teores expressivos de celulose (25%), hemicelulose (7%), amido residual (60%) e proteína bruta (5%) (Costa *et al.*, 2019). A reutilização desses materiais é promissora para a produção de bioenergia, fertilizantes e para a alimentação animal, promovendo uma abordagem de economia circular (Ferreira, 2020).

Apesar de seu potencial, a água residuária também impõe desafios ambientais devido à alta carga orgânica e à presença de compostos cianogênicos, que, se descartados inadequadamente, podem causar impactos significativos (Lawal, Ogedengbe e Oamen, 2019). Embora estratégias sustentáveis, como a produção de biogás, fermentação para obtenção de ácidos orgânicos (Mari *et al.*, 2020); biohidrogênio, biometano (Silva *et al.*, 2019) e biossurfactantes (Ferreira e Almeida, 2007; Carvalho *et al.*, 2021), já tenham sido exploradas, a literatura científica é limitada quanto à análise metagenômica e predição metabólica da água residuária *in natura* de agroindústrias.

Além disso, poucos estudos diferenciam os efluentes, oriundos do processamento de mandioca para a obtenção de fécula, daqueles provenientes do processamento de farinha. Pesquisas de Cereda (2023) e Bezerra (2023) avaliam volumes e características gerais dos resíduos, mas não se aprofundam na análise metagenômica específica de cada tipo de efluente. Essa distinção é fundamental, pois os processos de extração para fécula e farinha podem apresentar variações significativas na composição de açúcares, na demanda química de oxigênio (DQO), no pH e na concentração de compostos cianogênicos, fatores que influenciam a estrutura e a funcionalidade dos microbiomas presentes (Lawal, Ogedengbe e Oamen, 2019). Tais variações têm implicações diretas na seleção e no desempenho dos microrganismos, afetando as vias metabólicas e, conseqüentemente, as aplicações biotecnológicas, como a biorremediação e a produção de biofertilizantes e bioinsumos (Silva *et al.*, 2019).

No entanto, a escassez de estudos focados na análise metagenômica dos efluentes *in natura* limita o desenvolvimento de protocolos específicos para a gestão e revalorização desses resíduos. Este estudo visa preencher essa lacuna, fornecendo uma análise detalhada dos perfis metagenômicos e funcionais da água residuária da agroindústria de mandioca, além de contribuir para a formulação de estratégias padronizadas e sustentáveis de aproveitamento, bem como para o avanço do conhecimento na área. A caracterização físico-química das águas residuárias presentes na literatura apresentadas na Tabela 2, reforçam seu potencial para processos fermentativos que produzem compostos de alto valor agregado, minimizando impactos ambientais e agregando valor à cadeia produtiva da mandioca (Gomes *et al.*, 2016; Vilvert, 2019).

Tabela 2 Caracterização média de águas residuárias do processamento da mandioca para a obtenção de fécula e farinha

Caracterização	Água residuária			Farinheira	
	Fecularia			Farinheira	
	<i>Tomoto</i> (2020)*	<i>Vilvert</i> (2019)*	<i>Leite et al.</i> , (2016)*	<i>Devens (2024)**</i>	<i>Monteiro(2015)**</i>
pH	4,02	3,92	5,1	4,44	3,9
DQO bruta	77741,13	17600	158,347	82	-
DQO filtrada	4172,70	-	-	-	-
Carbono	4115,00	4720	-	-	33,40
Nitrogênio total	14,98	290	67,6	-	2,14
Açúcares totais	50007,19	6,19	-	-	-
Ácido láctico	1053,94	230	-	3,42	-
Sólidos totais	6817,33	-	-	-	92,9
Sólidos voláteis	1250,00	-	-	-	73,4

Fonte: elaborado pela autora. * mg/L; ** g/L.

3.3 Inovações no Isolamento Microbiano e Aplicações Sustentáveis na Cadeia Produtiva da Mandioca

O isolamento de microrganismos provenientes de águas residuárias é uma prática essencial na microbiologia ambiental, visando identificar espécies com potencial para aplicações biotecnológicas, como a degradação de poluentes e a produção de compostos de interesse industrial. Tradicionalmente, técnicas, a exemplo do método de estrias em placas (*streak plate*), *pour plate*, *spread plate* e diluição seriada, são empregadas para isolar e obter culturas puras desses organismos (Francisco, 2018). Esses métodos permitem a separação de colônias distintas, facilitando sua caracterização posterior.

Nos últimos anos, avanços significativos foram alcançados com a incorporação de técnicas moleculares no processo de isolamento e identificação microbiana. A reação em cadeia da polimerase (PCR), por exemplo, tem sido amplamente utilizada para detectar e caracterizar microrganismos sem a necessidade de cultivo prévio, ampliando o conhecimento sobre a diversidade microbiana presente em ambientes complexos, como as águas residuárias (Silva *et al.*, 2018). Estudos demonstram que a PCR é eficaz na detecção de bactérias patogênicas em amostras de esgoto bruto e efluentes, contribuindo para a avaliação da qualidade da água e monitoramento ambiental. A PCR tem sido particularmente útil na identificação de *Salmonella* spp. e outros patógenos resistentes a antibióticos, permitindo uma melhor compreensão de seu impacto na saúde pública e seu potencial uso em programas de controle sanitário (Francisco, 2018).

Nesse contexto, destaca-se a água residuária da mandioca, que abriga uma diversidade microbiana altamente funcional, composta por bactérias, fungos e arqueias, que desempenham papéis essenciais na degradação de compostos orgânicos e no equilíbrio do ecossistema. Estudos metagenômicos e dependentes de cultivo têm identificado grupos

microbianos predominantes, como *Firmicutes*, *Chloroflexi* e *Proteobacteria*, associados a processos fermentativos e ao metabolismo de carboidratos complexos (Dias *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2024). Entretanto, poucos estudos têm explorado de forma aprofundada a microbiota específica da água residuária, principal efluente do processamento da mandioca, em comparação com os efluentes das indústrias de fécula e farinha. Essa lacuna reforça a necessidade de caracterizar as comunidades microbianas presentes nesses diferentes tipos de águas residuárias, considerando que fatores, como carga orgânica, presença de cianoglicosídeos e variabilidade regional, podem influenciar diretamente a composição microbiana e seu potencial biotecnológico (Martins *et al.*, 2023).

Dentre os gêneros mais relevantes, *Bacillus*, *Lactobacillus* e *Clostridium* destacam-se por converter matéria orgânica em subprodutos úteis, enquanto *Actinobacteria*, como *Streptomyces* e *Micromonospora*, apresentam potencial para a produção de enzimas hidrolíticas e metabólitos bioativos (Santos *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2022). Além disso, arqueias metanogênicas, como *Methanosaeta*, desempenham papel central na digestão anaeróbia e na produção de biogás, promovendo a conversão da matéria orgânica em energia renovável (Ferreira *et al.*, 2022). A presença dessas comunidades varia significativamente entre os efluentes da produção de fécula e farinha, devido à diferença na concentração de resíduos amiláceos e na composição química dos substratos residuais, o que reforça a necessidade de estudos comparativos entre esses sistemas (Alves *et al.*, 2023).

Esses microrganismos têm aplicações biotecnológicas diversas, incluindo a biorremediação, em que espécies aeróbicas e anaeróbicas degradam compostos tóxicos, melhorando a qualidade da água tratada (Zhang *et al.*, 2020). Além disso, comunidades microbianas são utilizadas em processos de bioaumentação, técnica que otimiza o desempenho dos sistemas de tratamento por meio da introdução de cepas específicas (Li *et al.*, 2019). Técnicas ômicas, como metagenômica, metatranscriptômica e metabolômica, têm sido cada vez mais utilizadas para elucidar os mecanismos de degradação microbiana na água residuária da mandioca, permitindo uma identificação detalhada dos genes envolvidos na biodegradação de compostos orgânicos e na produção de metabólitos de interesse industrial (Gutiérrez *et al.*, 2023; Ribeiro *et al.*, 2022).

Outro campo promissor integra-se às estratégias de biorremediação e geração de bioenergia, a exemplo do uso de microalgas em sistemas de tratamento biológico. Ao remover nutrientes e promover a fotossíntese, as microalgas contribuem para a melhoria da qualidade dos efluentes, reforçando as iniciativas de economia circular e o aproveitamento sustentável dos resíduos agroindustriais (García *et al.*, 2018). Além disso, estudos apontam a conversão da matéria orgânica presente nos efluentes em biofertilizantes e biopolímeros de alto valor agregado (Ramakrishnan *et al.*, 2020). Dessa forma, a água residuária e outros resíduos da cadeia produtiva da mandioca podem ser reaproveitados como matéria-prima para a

formulação de insumos agrícolas sustentáveis, reduzindo impactos ambientais e promovendo práticas de agricultura regenerativa (Nascimento *et al.*, 2023).

A bioconversão de resíduos agroindustriais em biogás é uma abordagem sustentável, na qual microrganismos, como *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Clostridium*, desempenham papel essencial na degradação de compostos recalcitrantes e na geração de energia renovável (Kumar *et al.*, 2019). Essa estratégia auxilia a redução da dependência de combustíveis fósseis e o impacto ambiental associado ao descarte inadequado de efluentes. Comparando os efluentes da fécula e da farinha, observa-se que os processos industriais influenciam diretamente a geração de biogás, uma vez que os resíduos ricos em amido favorecem a fermentação anaeróbia, enquanto aqueles com menor carga orgânica podem necessitar de suplementação nutricional para otimização da produção energética (Menezes *et al.*, 2021).

Portanto, a caracterização da microbiota da água residuária da mandioca e seu aproveitamento biotecnológico são essenciais para o desenvolvimento de tecnologias inovadoras e sustentáveis. A implementação de estratégias eficientes pode proporcionar benefícios ambientais e econômicos significativos, promovendo a gestão responsável desses resíduos e sua reutilização em processos produtivos. Além de contribuir para a compreensão das diferenças entre os efluentes da produção de fécula e farinha, este estudo fornece uma base para futuras aplicações biotecnológicas voltadas à valorização desses resíduos. A utilização de abordagens ômicas pode aprimorar a identificação de microrganismos promissores e suas funções metabólicas, viabilizando novos processos para a biorremediação, bioenergia e produção de bioinsumos agrícolas, o que consolida o reaproveitamento da água residuária e de outros subprodutos agroindustriais de forma mais eficiente e sustentável.

3.4 Análises Metagenômicas Aplicadas a Efluentes Agroindustriais

As análises metagenômicas aplicadas a efluentes agroindustriais são fundamentais para compreender a composição e a dinâmica das comunidades microbianas nesses ambientes. Esses efluentes, oriundos de atividades agrícolas e industriais, representam fontes significativas de poluição hídrica, contribuindo para problemas, como a eutrofização e a degradação de ecossistemas aquáticos. A eutrofização caracteriza-se pelo enriquecimento das águas por nutrientes, especialmente fósforo e nitrogênio, frequentemente resultante do despejo de esgotos ou subprodutos agroindustriais, o que culmina em sérios problemas ambientais (Oliveira e Ferreira, 2019; Silva *et al.*, 2020). No caso dos efluentes da agroindústria da mandioca, a alta carga orgânica pode influenciar de forma singular a composição microbiana desses ambientes, distinguindo-os de resíduos industriais gerados na produção de fécula e farinha (Melo *et al.*, 2023; Nascimento *et al.*, 2022).

A metagenômica possibilita a identificação e caracterização de microrganismos sem a necessidade de cultivo, oferecendo uma visão abrangente da diversidade microbiana e de suas funções ecológicas. O sequenciamento de amplicons do gene 16S rRNA para bactérias e arqueias, 18S rRNA para eucariotos e ITS para fungos permite a análise da diversidade taxonômica nesses ambientes (Marquioli, 2017). Além disso, a metagenômica *shotgun* proporciona uma visão mais detalhada da composição funcional dessas comunidades ao identificar genes associados à degradação de poluentes orgânicos e inorgânicos, bem como à resistência a antibióticos (Nurk *et al.*, 2016). A aplicação dessas técnicas é particularmente relevante para efluentes da mandioca, sendo que a presença de cianoglicosídeos pode influenciar a estrutura microbiana e os processos metabólicos, demandando uma caracterização mais aprofundada para compreender como esses compostos são degradados (Gomes *et al.*, 2021).

Os avanços nas tecnologias de sequenciamento, especialmente o sequenciamento de nova geração (NGS), revolucionaram a metagenômica ao permitir análises de alto rendimento que identificam táxons microbianos anteriormente desconhecidos e genes funcionais relacionados à degradação de poluentes. O NGS possibilita a geração de grandes volumes de dados, exigindo o uso de ferramentas bioinformáticas robustas, como o Kraken2 e MG-RAST, para análise taxonômica e funcional (Georgana *et al.*, 2018; Macêdo *et al.*, 2023). Entretanto, a interpretação desses dados apresenta desafios metodológicos, incluindo a necessidade de *pipelines* bioinformáticos bem estruturados e o tratamento de artefatos de sequenciamento. Nos efluentes da mandioca, esses desafios são acentuados devido à variabilidade dos resíduos entre os processos industriais, reforçando a necessidade de estudos comparativos entre a água residuária e os efluentes da fécula e farinha para identificar diferenças na microbiota e no metabolismo (Almeida *et al.*, 2022).

A integração de abordagens metagenômicas com outras técnicas "ômicas", como a transcriptômica e a proteômica, tem o potencial de fornecer uma compreensão mais profunda das interações microbianas e de suas funções ecológicas em efluentes agroindustriais (Terra, 2018). Além disso, a aplicação de análises metagenômicas pode auxiliar a avaliação da eficácia de diferentes processos de tratamento, permitindo a identificação de mudanças nas comunidades microbianas ao longo das etapas de tratamento. A inclusão de análises metabolômicas, por exemplo, poderia revelar os produtos intermediários da degradação da água residuária e indicar quais microrganismos desempenham papel essencial na conversão de seus compostos orgânicos em metabólitos de interesse industrial, como ácidos orgânicos e biofertilizantes (Ferreira *et al.*, 2023).

Essas abordagens contribuem significativamente para o desenvolvimento de estratégias inovadoras de tratamento de efluentes, garantindo a proteção dos recursos hídricos e a saúde dos ecossistemas aquáticos. Além disso, este estudo fornece subsídios para a aplicação de técnicas metagenômicas no monitoramento da microbiota dos efluentes

da mandioca, permitindo não apenas a otimização dos processos de tratamento, mas também a identificação de novas cepas microbianas com potencial biotecnológico para biorremediação, bioenergia e formulação de bioinsumos agrícolas. A metagenômica, ao oferecer uma visão abrangente e detalhada da diversidade microbiana sem depender do cultivo prévio, possibilita identificar e quantificar espécies envolvidas na degradação de poluentes e na transformação de compostos orgânicos, além de mapear os genes e as vias metabólicas responsáveis por esses processos. Essa informação é fundamental para ajustar as condições dos sistemas de tratamento, o que favorece as cepas mais eficazes, bem como para realizar o monitoramento contínuo das mudanças nas comunidades microbianas em resposta às intervenções tecnológicas ou variações ambientais. Dessa forma, a água residuária e outros resíduos agroindustriais podem ser reaproveitados de forma mais eficiente e sustentável, alinhando-se aos princípios de economia circular e inovação tecnológica.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. *et al.* Advances in metagenomics for environmental biotechnology applications. **Environmental Biotechnology Journal**, [s.l.], v. 15, n. 2, p. 120-135, 2018.

ALVES, R. P.; COSTA, M. F.; LIMA, V. L. Comparative analysis of microbial communities in cassava starch and flour effluents. **Environmental Science and Technology**, [s.l.], v. 57, n. 4, p. 250-258, 2023

ARAUJO, L. P.; SOUSA, D. M.; ALMEIDA, E. R. Adaptação e resistência da mandioca: desafios e perspectivas. **Ciência Agrônômica**, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 85-101, 2018.

BARBOSA, L. M. *et al.* Microbial diversity in industrial effluents and its biotechnological potential. **Journal of Industrial Microbiology**, [s.l.], v. 22, n. 4, p. 78-90, 2019.

BEZERRA, V. S. **Planejamento de uma casa de farinha de mandioca**. 1. ed. Macapá: Embrapa, 2023.

CARVALHO, P. L.; SOUSA, D. F.; MOREIRA, V. P. Production of biosurfactants from agroindustrial waste: a sustainable approach. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 178, n. 1, p. 1-10, 2021.

CEREDA, M. P. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Análise do mercado de mandioca – Agosto de 2023**. Brasília, DF: CONAB, 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br>. Acesso em: 4 fev. 2025.

COSTA, H. S. *et al.* Environmental impacts of cassava wastewater: A review. **Agroindustrial Environmental Review**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 45-53, 2019.

DEVENS, K. U. **Produção de hidrogênio e metano por meio da co-digestão de água residuária do processamento de mandioca e glicerol e em reator anaeróbio de leito fluidificado**. Orientador: Edson Luiz Silva. 2024. 231 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São

Carlos, 2024. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18138/tde-10092024-160824/>. Acesso em: 09 abr. 2025.

DIAS, T. F.; SANTOS, A. P.; GOMES, M. A. Metagenomic analysis of microbial communities in cassava wastewater. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 312, p. 123456, 2020.

FERNANDES, A. G.; SOUZA, R. C.; MENDES, A. P. Adaptation of microbial communities in the anaerobic digestion of cassava wastewater under high organic load. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 337, p. 125744, 2022.

FERREIRA, J. G. *et al.* Biotechnological potential of microorganisms in cassava processing wastewaters. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 106, n. 3, p. 563-574, 2022.

FERREIRA, R. S.; OLIVEIRA, F. P.; SILVA, M. G. Metabolomic profiling of cassava wastewater: Unraveling bioconversion pathways for the production of biofertilizers and organic acids. **Journal of Cleaner Production**, [s.l.], v. 321, p. 129123, 2023.

FERREIRA, J. F.; COSTA, A. L.; SILVA, P. A. Methanogenic Archaea in anaerobic digestion of cassava wastewater: insights for renewable energy production. **Journal of Renewable Energy Research**, [s.l.], v. 9, n. 2, p. 102-112, 2022.

FERREIRA, M. G. e ALMEIDA, L. C. Biosurfactant production from agro-industrial waste: an overview. **Biotechnology Advances**, [s.l.], v. 23, n. 1, p. 30-45, 2007.

FERREIRA, T. G.; SILVA, P. M.; ALMEIDA, F. P. R. Economia circular na agroindústria: estudo de caso dos resíduos de mandioca. **Revista de Engenharia Agrícola**, [s.l.], v. 28, n. 4, p. 221-234, 2020.

FRANCISCO, M. **Caracterização microbiológica e molecular das estirpes de *Salmonella* spp. isoladas em amostras clínicas, águas residuais e alimentos na região de Luanda e dos seus perfis de resistência aos antimicrobianos – o seu impacto na saúde pública. 2018.** Disponível em: <https://run.unl.pt/bitstream/10362/59484/1/TESE%20%20MOISES%202019.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2025.

GARCÍA, J. A.; LÓPEZ, M.; RAMÍREZ, J. C.; SÁNCHEZ, P. Microalgal-based treatment of agro-industrial wastewater: A circular economy approach. **Algal Research**, [s.l.], v. 30, p. 45-53, 2018.

GEORGANA, M. A.; SILVA, F. R.; COSTA, E. M.; *et al.* High-throughput metagenomic sequencing: Tools and applications in environmental microbiology. **Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 52, n. 12, p. 6580-6590, 2018.

GOMES, L. F.; SILVA, M. A.; COSTA, R. G. Impact of cyanogenic glycosides on microbial community dynamics in cassava wastewater. **Science of the Total Environment**, [s.l.], v. 789, p. 147933, 2021.

GOMES, S. D. *et al.* Bacteriocins of lactic acid bacteria as a hindering factor for biohydrogen production from cassava flour wastewater in a continuous multiple tube reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s.l.], v. 41, n. 19, p. 8120-8131, 2016.

GONÇALVES, E.; PEREIRA, F. Caracterização funcional da microbiota em águas residuárias agroindustriais. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 17, n. 6, p. 612-620, 2021.

GUTIÉRREZ, F. J.; SILVA, L. F.; ALMEIDA, R. M.; *et al.* Integrative omics approaches reveal microbial functional potential in agroindustrial wastewaters. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 106, n. 2, p. 657-667, 2022.

GUTIÉRREZ, F. J.; ALMEIDA, R. M.; SILVA, L. F. Integrative omics approaches elucidate microbial degradation pathways in agro-industrial wastewaters. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 107, n. 1, p. 150-163, 2023.

KUMAR, S.; PATEL, R. K.; MEHRA, R. Microbial degradation of recalcitrant compounds: Advances and challenges. **International Biodeterioration & Biodegradation**, [s.l.], v. 144, p. 70-78, 2019.

LAWAL, N. S.; OGEDENGBE, K.; OAMEN, E. C. Cassava Mill Wastewater Treatment by a Combination of Physical and Nature-Based Processes: A Pilot Study. **Applied Journal of Environmental Engineering Science**, [s.l.], v. 5, n. 4, p. 349-356, 2019.

LI, X.; WANG, Y.; ZHOU, J. Application of bioaugmentation in wastewater treatment systems: A review. **Environmental Technology Reviews**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 45-60, 2019.

MACÊDO, W. *et al.* **Microrganismos são capazes de degradar poluente de esgoto altamente tóxico**. 2023. Disponível em: <https://umsoplaneta.globo.com/energia/noticia/2023/10/30/microrganismos-sao-capazes-de-degradar-poluente-de-esgoto-altamente-toxico.ghtml>. Acesso em: 3 fev. 2025.

MARQUIOLI, E. P.; SANTOS, R. S.; OLIVEIRA, D. F. *et al.* Amplicon sequencing of 16S rRNA genes reveals microbial diversity in wastewater treatment systems. **Journal of Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 15, n. 3, p. 200-210, 2017.

MARI, A. G. *et al.* Biogas and biohydrogen production from cassava processing wastewater: Strategies for enhancing microbial performance. **Renewable Energy**, [s.l.], v. 145, p. 567-576, 2020.

MARTINS, D. C. e LIMA, J. R. Produção de biogás e biorremediação em resíduos de mandioca. **Journal of Cleaner Production**, [s.l.], v. 14, n. 8, p. 487-496, 2020.

MENEZES, R. F.; ALMEIDA, A. L.; FERREIRA, S. P. Influence of substrate composition on biogas production from agroindustrial residues. **Renewable Energy**, [s.l.], v. 162, p. 132-141, 2021.

NASCIMENTO, F. R.; GOMES, R. F.; SILVA, T. M. Valorization of cassava processing waste for sustainable agricultural inputs. **Journal of Cleaner Production**, [s.l.], v. 278, p. 123456, 2023.

NURK, S. *et al.* **metaSPAdes: a new versatile de novo metagenomics assembler**. 2016. Disponível em: <https://arxiv.org/abs/1604.03071>. Acesso em: 25 jan. 2025.

OLIVEIRA, L. A. *et al.* Inovação e controle de qualidade na produção de farinha de mandioca. **Revista de Processamento de Alimentos**, v. 18, n. 1, p. 45-60, 2020.

OLIVEIRA, L. F.; FERREIRA, A. B. Eutrophication in freshwater systems: nutrient enrichment and ecological consequences. **Ecological Engineering**, [s.l.], v. 129, p. 50-61, 2019.

OLIVEIRA, L. F.; COSTA, E. M.; MENDES, A. P. Hydrolytic enzyme production and bioactive metabolite synthesis by Actinobacteria in waste streams from cassava processing. **Journal of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 133, n. 5, p. 2023-2035, 2022.

- OLIVEIRA, F. R.; SILVA, M. A.; PEREIRA, R. F. A importância da mandioca na segurança alimentar global. **Revista Brasileira de Agroecologia**, [s.l.], v. 15, n. 2, p. 123-140, 2021.
- RAMAKRISHNAN, R.; KUMAR, S.; SHARMA, P. Valorization of agro-industrial residues into biopolymers: A sustainable approach. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 21, n. 5, p. 2020-2030, 2020.
- RIBEIRO, D. F.; SOUSA, J. P.; ALMEIDA, C. M. Metatranscriptomic insights into microbial gene expression during cassava wastewater degradation. **Journal of Environmental Management**, [s.l.], v. 306, p. 114-125, 2022.
- RODRIGUES, J. A. e VIEIRA, L. M. Microbial ecology of cassava wastewater and its biotechnological applications. **Journal of Applied Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 8, n. 3, p. 120-132, 2020.
- SANTOS, R. A. *et al.* Biotechnological applications of cassava wastewater: Current trends and future perspectives. **Journal of Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 24, n. 1, p. 15-28, 2020.
- SANTOS, A. R.; PEREIRA, M. S.; SOUZA, F. R. Metabolic pathways and bioconversion of organic matter by key bacterial genera in agroindustrial wastewater. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 314, p. 123456, 2021.
- SARAVANAN, R.; STEPHEN, R.; RAVI, V. Post-harvest physiological deterioration of cassava roots during storage under different temperatures. **Journal of Root Crops**, [s.l.], v. 46, n. 2, p. 105–113, 2020.
- SILVA, F. R.; COSTA, L. M.; ALVES, R. L. E. Processamento da mandioca: rendimento e produção de amido, fécula e polvilho. **Journal of Food Science and Technology**, [s.l.], v. 56, n. 2, p. 95-105, 2019.
- SILVA, A. M.; COSTA, J. P.; FERREIRA, R. S. Variedades de mandioca: classificação e implicações para o processamento industrial. **Revista de Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 27, n. 3, p. 215-230, 2020.
- SILVA, T. R. *et al.* Bacteria from Antarctic environments: diversity and detection of antimicrobial, antiproliferative, and antiparasitic activities. **Polar Biology**, [s.l.], v. 41, n. 7, p. 1505-1519, 2018.
- SILVA, F. R. *et al.* Processamento industrial de fécula de mandioca: avanços tecnológicos e desafios. **Revista Brasileira de Tecnologia Alimentar**, [s.l.], v. 22, n. 3, p. 123-135, 2020.
- SILVA, R. M.; COSTA, P. S.; ALMEIDA, J. A. Advances in biohydrogen and biomethane production from agricultural residues. **Renewable Energy Reviews**, [s.l.], v. 25, n. 2, p. 85-95, 2019.
- SILVA, M. *et al.* Microbial diversity and metabolic pathways in cassava processing effluents. **Environmental Science e Technology**, [s.l.], v. 56, n. 6, p. 299-315, 2024.
- TERRA, L. A. **Genômica funcional da bactéria *Nitrospirillum amazonense* em interação com o fluido do apoplasto de cana-de-açúcar**: abordagens transcriptômica e proteômica. Orientador: Stefan Schwab. 2018. 130 f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação Agropecuária) - Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação Agropecuária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2018.

TOMOTO, A. L. da S. **Otimização da produção de bacteriocinas de bactérias lácticas em água residuária de indústria de fécula de mandioca.** Orientadora: Simone Damasceno Gomes. 2020. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2020.

TOMOTO, A. L. da S. **Compostos antimicrobianos de resíduo agroindustrial: Produção em reator AnSBR e nanoencapsulação.** Orientadora: Simone Damasceno Gomes, 2024. 175 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2024.

TONELLO, T. U. **Produção de hidrogênio a partir da água residuária e do bagaço da extração de fécula de mandioca em AnSBBR.** Orientadora: Simone Damasceno Gomes. 2022.104 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2022.

VILVERT, R. M. **Obtenção de bacteriocina de bactérias lácticas em água residuária de indústria de fécula de mandioca.** Orientadora: Simone Gomes Damasceno. 2019. 93f. Tese (Doutorado em engenharia Agrícola) - Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2019.

VILPOUX, O. F. Cassava starch processing units: comparison of industrial technologies from Brazil. **Starch Industries: Processes and Innovative Products in Food and Non-Food Uses**, [s.l.], p. 9-35, 2024. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/377520074_Cassava_starch_processing_units_comparison_of_industrial_technologies_from_China_Thailand_and_Brazil. Acesso em: 26 mar. 2025.

ZHANG, G.; LI, Y.; WANG, J.; ZHOU, Q. Isolation and Identification of Four Strains of Bacteria with Potential for Polyethylene and Polypropylene Biodegradation. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, [s.l.], v. 59, n. 10, p. 1-10, 2024.

ARTIGO 1 – SCREENING E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE MICRORGANISMOS DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE AGROINDÚSTRIAS PROCESSADORAS DE MANDIOCA

RESUMO

As águas residuárias resultantes do processamento de mandioca em agroindústrias revelaram-se portadoras de uma rica diversidade microbiana com potencial biotecnológico significativo para aplicações em sistemas agrícolas sustentáveis. Este estudo teve como objetivo prospectar e identificar isolados com potencial biotecnológico a partir de amostras coletadas em duas agroindústrias: uma dedicada à produção de farinha de mandioca (ARFa) e outra à produção de fécula (ARFe). Os isolados bacterianos foram obtidos por meio do método de diluição seriada e isolamento, sendo subsequentemente caracterizados morfológica e fisiologicamente. Além disso, foram avaliadas suas capacidades de fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e potássio, bem como a síntese de sideróforos. Os resultados indicaram que 63% dos isolados provenientes da ARFe e 74% da ARFa demonstraram atividade de fixação de nitrogênio. Adicionalmente, 88% dos isolados da ARFe e 83% da ARFa apresentaram capacidade de solubilização de fosfato, enquanto a solubilização de potássio foi observada em 74% e 65% dos isolados, respectivamente. Quanto à produção de sideróforos, esta foi mais acentuada nos isolados originários da produção de farinha de mandioca (ARFa). Esses achados ressaltam o potencial desses microrganismos na formulação de biofertilizantes, contribuindo para práticas agrícolas mais sustentáveis. Investigações futuras deverão direcionar esforços para a identificação molecular dos isolados e a otimização de sua aplicação em condições de campo.

Palavras-chave: Resíduos agroindustriais. Fixação de nitrogênio. Solubilização de nutrientes. Potencial biotecnológico. Biofertilizantes. Microbiologia agrícola.

1 INTRODUÇÃO

A geração de resíduos agroindustriais tem se tornado uma preocupação crescente devido ao seu impacto ambiental e à necessidade de gestão sustentável. Entre esses resíduos, a água residuária proveniente do processamento de mandioca destaca-se pela alta carga orgânica e pela presença de compostos poluentes, como cianetos, carboidratos e materiais nitrogenados (Delanka-Pedige *et al.*, 2020). Esses efluentes, quando descartados sem tratamento adequado, podem comprometer a qualidade dos solos e corpos hídricos, favorecendo a contaminação e a degradação ambiental (Oliveira e Souza, 2021).

A microbiota presente nesses efluentes emerge como uma alternativa viável para o desenvolvimento de processos biotecnológicos sustentáveis. Estudos demonstram que microrganismos isolados de águas residuárias possuem elevada capacidade metabólica, sendo aptos a fixar nitrogênio, solubilizar minerais essenciais, como fósforo e potássio, e produzir compostos bioativos, a exemplo de sideróforos e ácido indol-3-acético (AIA) (Rodriguez *et al.*, 2022; Souza *et al.*, 2023). Esses compostos podem ser utilizados para o aprimoramento da fertilidade do solo e para a redução da dependência de fertilizantes químicos, promovendo uma agricultura mais eficiente e ecológica.

Apesar da relevância da mandioca como cultura agrícola e do grande volume de resíduos gerados em seu processamento, a pesquisa sobre microrganismos provenientes de suas águas residuárias ainda é limitada. A maior parte dos estudos foca em microrganismos isolados do solo ou da rizosfera, enquanto o potencial dos isolados de efluentes industriais permanece subexplorado (Rodrigues e Vieira, 2020). Essa lacuna na literatura científica impede um melhor aproveitamento desses microrganismos para aplicações biotecnológicas, especialmente na produção de biofertilizantes e biorremediadores.

Além disso, o descarte inadequado da água residuária da mandioca pode causar impactos ambientais significativos. Estudos indicam que a alta carga orgânica desse efluente contribui para a eutrofização de corpos hídricos, afetando a biodiversidade aquática e comprometendo a qualidade da água (Vasilakou *et al.*, 2024; Devarajan *et al.*, 2015). A presença de compostos tóxicos, como cianetos e ácidos orgânicos, pode alterar a microbiota natural do solo, reduzindo sua fertilidade e aumentando o risco de contaminação por metais pesados (Ma *et al.*, 2022). Assim, compreender melhor os microrganismos presentes nesses resíduos podem permitir o desenvolvimento de soluções sustentáveis para mitigar seus impactos ambientais.

Essa discrepância é ainda mais evidente no caso das águas residuárias de agroindústrias de mandioca, sendo que a maior parte das pesquisas se concentra em aspectos físico-químicos, negligenciando o papel biotecnológico da microbiota nativa (Nautiyal, 1999; Hungria e Silva, 2011; Rodrigues e Vieira, 2020). Assim, a caracterização e a avaliação funcional (*screening*) dessas bactérias são essenciais para compreender seu papel ecológico e suas possíveis aplicações na biotecnologia agrícola.

Diante disso, este estudo teve como objetivo isolar e caracterizar microrganismos presentes em águas residuárias de agroindústrias de mandioca e avaliar seu potencial metabólico, com ênfase na fixação de nitrogênio, solubilização de fósforo e potássio, e produção de sideróforos. Ao explorar essa microbiota pouco estudada, pretende-se contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias biotecnológicas voltadas para o reaproveitamento de efluentes industriais, a fim de promover a economia circular e a sustentabilidade agrícola.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta dos resíduos

As amostras de água residuária utilizadas para análise e isolamento foram coletadas em duas indústrias de processamento de mandioca, uma processadora de farinha e outra de fécula. A coleta foi realizada em uma única ocasião, sendo as amostras homogeneizadas e acondicionadas em garrafa do tipo pet e refrigeradas em caixa térmica para transporte até o

Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LAMIBI) na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste).

2.2 Isolamento e caracterização dos microrganismos

Para o isolamento dos microrganismos, foram adicionados 2,0 mL da água residuária proveniente da indústria de farinha (ARFa) e da água residuária proveniente do processo de obtenção de fécula (ARFe) separadamente, em frascos de Erlenmeyer contendo 18 mL de Caldo Nutriente estéril. As culturas foram incubadas sob agitação constante a 120 rpm por 24 horas para recuperação das amostras. Após o período de incubação, realizaram-se diluições seriadas decimais de 10^{-1} a 10^{-7} . Posteriormente, as diluições foram plaqueadas em meio Ágar Nutriente (AN) e incubadas por 5 dias a 30 °C, visando o isolamento das colônias bacterianas individualmente.

Após isolamento dos microrganismos, seguindo a metodologia de Hungria e Silva (2011) para a caracterização morfofisiológica, as bactérias foram analisadas quanto à coloração e morfologia de Gram, ao tempo de crescimento, sendo classificado em cinco categorias: muito rápido (menos de 1 dia), rápido (entre 1 e 2 dias), médio (entre 2 e 3 dias), lento (3 a 4 dias) e muito lento (mais de 4 dias). Em seguida, foram analisadas quanto à consistência da massa de crescimento, classificando-as como aquosa, gomosa ou seca, e quanto ao formato das colônias, classificando-as como circular, irregular, puntiforme ou filamentosa. A elevação das colônias foi observada em plana, lenticular, convexa, pulvinada, umbonada ou umbilicada, e a borda, em inteira, ondulada, lobada, denteada ou filamentosa. Já a superfície das amostras, foi categorizada como lisas, rugosas ou papiladas.

2.3 Capacidade de Fixação de Nitrogênio em Meio Livre de Nitrogênio (NFb)

A capacidade de fixar nitrogênio de modo assimbiótico foi avaliada segundo a metodologia de Döbereiner *et al.* (1995) com adaptações. Os isolados foram recuperados em Caldo Nutriente (CN) durante 24-48 horas, em B.O.D a 30 °C. Em sequência, foram transferidos 100 µL do inóculo bacteriano, para frascos de penicilina contendo 6 mL de meio NFb semissólido em duplicata e incubados por sete dias a 30 °C. As bactérias que apresentaram crescimento visível abaixo da superfície, em forma de película (halo claro) e alteração de pH do meio NFb, foram consideradas positivas.

2.4 Avaliação qualitativa de solubilizadores de fosfato inorgânico

A avaliação da capacidade dos isolados em solubilizar fosfato inorgânico foi com base na metodologia de Nautiyal (1999) com modificações. Foram transferidos 05 µL do

inóculo em quatro pontos distintos da placa de Petri contendo meio sólido NBRIP (*National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium*), constituído de: 10,0 g L⁻¹ glicose; Ca₃(PO₄)₂; 5,0 g L⁻¹ MgCl₂.6H₂O; 0,2 g L⁻¹ KCl; 0,25 g L⁻¹ MgSO₄.7H₂O; 0,1 g L⁻¹ (NH₄)₂SO₄; pH 7,0. O experimento foi realizado em triplicata experimental e biológica e incubado em B.O.D durante sete dias a 30 °C, tendo, como controle positivo, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*. Foram realizadas as avaliações no 3º, 5º e 7º dia de incubação, utilizando-se uma régua para medir os halos de solubilização, considerando a média das quatro repetições.

O índice de solubilização (IS) foi determinado para cada isolado conforme a equação: $IS = \varnothing \text{ Halo (mm)} / \varnothing \text{ Colônia (mm)}$ (Hara e Oliveira, 2004). Com base nesse índice, os isolados foram classificados quanto ao nível de solubilização, sendo considerados de baixa solubilização aqueles com $IS < 2$, de média solubilização aqueles com $2 \leq IS < 4$, e de alta solubilização os que apresentaram $IS \geq 4$.

Os isolados com capacidade de solubilizar fosfato inorgânico foram identificados pela formação de halos transparentes ao redor das colônias.

2.5 Avaliação qualitativa de solubilizadores de potássio

A metodologia de De Paula *et al.* (2013) com modificações foi utilizada para a avaliação da capacidade de solubilização de potássio dos isolados. Foram transferidos 05 µL do inóculo em quatro pontos distintos da placa de Petri contendo meio sólido Aleksandrov, constituído de: glicose 5,0 g L⁻¹; extrato de levedura 2,0 g L⁻¹; MgSO₄ 0,005 g L⁻¹; FeCl₃ 0,08 g L⁻¹; CaCO₃ 2,0 g L⁻¹; ágar 15,0 g L⁻¹; 1,6 g L⁻¹ de KCl. O experimento foi realizado em triplicata experimental e biológica e incubados em B.O.D durante sete dias a 30 °C, tendo, como controle positivo, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*. Foram realizadas as avaliações no 3º, 5º e 7º dia de incubação. Os isolados capazes de solubilizar potássio produziram um halo transparente ao redor das colônias. Os isolados foram classificados de acordo com o item 2.5.

2.6 Avaliação da capacidade de produção de sideróforos

Para a avaliação da produção de sideróforos, utilizou-se a metodologia de Schwyn e Neilands (1987) com modificações. Os isolados foram recuperados em caldo nutriente, por 24-48 horas em B.O.D 30 °C. Posteriormente, a concentração foi ajustada 0,5 (D.O_{600nm}) e transferido 1,0 mL em tubos com capacidade de 50,0 mL contendo meio King B (peptona 20,0 g L⁻¹; MgSO₄.7H₂O 15,0 g L⁻¹; K₂HPO₄ 1,5 g L⁻¹; glicerina 10 mL L⁻¹ e pH final 7,2). Os tubos foram mantidos sob agitação constante a 120 rpm a 28°C por sete dias. Foram transferidos 1,0 mL do cultivo em meio King B para eppendorfes estéreis, centrifugados a 12.000 rpm por

Os resultados das análises bioquímicas realizadas com os isolados bacterianos das ARFe e ARFa demonstraram variações significativas quanto às suas capacidades metabólicas. Entre os isolados bacterianos provenientes da ARFe (Figura 3), 38,46% exibiram capacidade simultânea para desempenhar três, das quatro funções bioquímicas avaliadas: produção de sideróforos, solubilização de nutrientes (fosfato e/ou potássio) e fixação biológica de nitrogênio (FBN). Especificamente, os isolados ARFe15 e ARFe38 destacaram-se pela solubilização de fosfato, síntese de sideróforos e fixação biológica de nitrogênio (FBN), enquanto os isolados ARFe14, ARFe22, ARFe31, ARFe53, ARFe54 e ARFe60 apresentaram simultaneamente capacidade para FBN, produção de sideróforos e solubilização de potássio. Além disso, 24,62% dos isolados foram capazes de realizar apenas duas dessas funções, 9,23% exibiram apenas uma das capacidades metabólicas investigadas e 27,69% não apresentaram qualquer atividade bioquímica detectável.

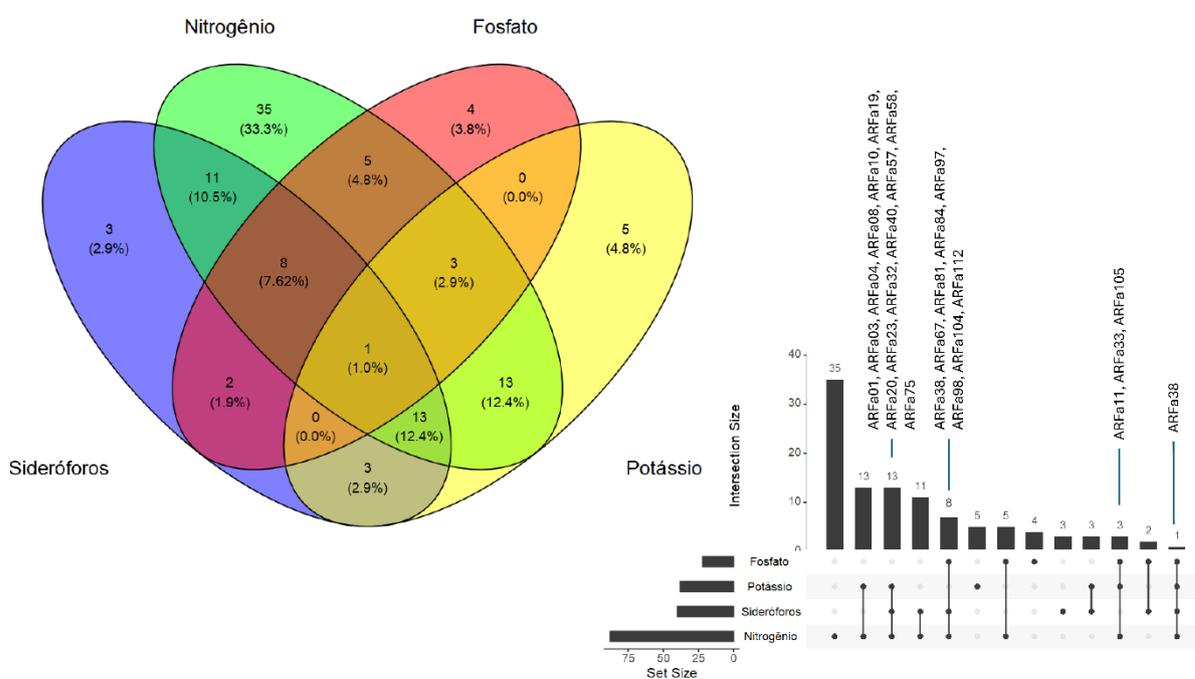


Figura 4 Diagramas de Venn indicando o potencial dos isolados bacterianos da ARFa em relação aos desempenhos bioquímicos.

Fonte: elaborado pela autora

Os isolados de ARFa (Figura 4) mostraram um perfil distinto do apresentado pelos isolados da ARFe. Apenas o isolado ARFa38 (0,87%) foi capaz de realizar todas as quatro funções bioquímicas: produção de sideróforos, fixação biológica de nitrogênio, solubilização de potássio e solubilização de fosfato. Para os demais isolados da ARFa, 43,48% apresentaram a capacidade de realizar três dessas funções, enquanto 30,43% foram capazes de realizar duas. Somente 17,39% dos isolados da ARFa demonstraram a capacidade de realizar uma função bioquímica; 7,83% não apresentaram capacidade bioquímica para nenhuma das funções testadas. Em estudo, realizado por Ajmal *et al.* (2021), investigou-se o

potencial de promoção do crescimento vegetal e biorremediação por bactérias de solos irrigados com águas residuárias no Paquistão, demonstrando um expressivo potencial de mineralização e produção de sideróforos. Dos 75 isolados analisados, 39% foram capazes de solubilizar potássio, 37% solubilizaram fosfato e 56% produziram sideróforos, evidenciando a diversidade funcional dos microrganismos para aplicações em biofertilização e biorremediação.

Esses resultados indicam que, embora os isolados apresentem um potencial biotecnológico relevante, suas capacidades funcionais variam significativamente conforme a origem ambiental e as condições dos substratos. Tal variação reforça a importância da seleção criteriosa de cepas para o desenvolvimento de aplicações biotecnológicas.

A caracterização dos isolados obtidos das amostras de ARFa e ARFe revelou semelhanças entre os grupos microbianos. Nas amostras da ARFa, 76% dos isolados foram identificados como bacilos Gram-negativos e 24% como Gram-positivos. De forma semelhante, em ARFe, 70% dos isolados eram bacilos Gram-negativos e 30% Gram-positivos. Em ambos os casos, os isolados apresentaram crescimento acelerado em todos os meios de cultura testados, indicando elevada adaptabilidade e viabilidade metabólica. Os isolados bacterianos de ARFa e ARFe apresentaram características morfológicas distintas e importantes para a avaliação de seu potencial biotecnológico. Os isolados da ARFa apresentaram predominância de forma circular (75%) e elevação plana (65%), comparáveis às colônias da ARFe, que também apresentaram 80% de forma circular e 60% de elevação plana. As bordas das colônias foram inteiras em 75% dos isolados da ARFa e 75% dos isolados da ARFe, com superfície lisa em 75% dos isolados de ARFa e 85% nos da ARFe.

Essas características morfológicas indicam uniformidade e estabilidade no crescimento das culturas microbianas, o que é desejável em processos biotecnológicos. A forma circular e a elevação plana facilitam o isolamento e a identificação das colônias, contribuindo para a consistência dos experimentos. A presença de bordas inteiras e superfícies lisas reforça o crescimento controlado das culturas, minimizando a formação de biofilmes indesejados e possíveis contaminações (Lopes *et al.*, 2021).

Quanto à produção de muco, ambas as amostras apresentaram características semelhantes, com 58% dos isolados da ARFa e 65% da ARFe classificados como produtores de pouco muco. A produção de muco pode estar associada à síntese de exopolissacarídeos (EPS), compostos que desempenham papéis importantes na proteção das células microbianas contra estresses ambientais e na promoção de formação de biofilmes. Em bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), como os rizóbios e outras bactérias, os EPS facilitam a interação com as raízes das plantas e a formação de nódulos, essenciais para a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Mesmo em níveis reduzidos, a produção de muco está correlacionada à formação eficiente e à estabilização de biofilmes, contribuindo para a proteção celular frente a estresses ambientais, sem prejudicar sua aplicabilidade em

processos industriais de interesse biotecnológico. (Fernandes Júnior *et al.*, 2010; Lopes *et al.*, 2021; Hossain *et al.*, 2023).

A consistência da massa de crescimento variou entre os isolados analisados. Entre os isolados provenientes da ARFa, 66% apresentaram consistência aquosa, 30% gomosa e 4% seca ou cremosa; nas amostras da ARFe, 70% foram aquosos, 20% gomosos e 10% secos ou cremosos. A consistência aquosa está associada a um crescimento microbiano vigoroso e boa adaptação ao meio de cultivo, sendo ideal para aplicações que exigem alta produtividade de biomassa. Por outro lado, a consistência gomosa pode estar relacionada à produção de exopolissacarídeos (EPS), característica desejável em cepas como rizóbios e bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). No entanto, essa propriedade requer atenção em processos fermentativos, pois a produção excessiva de EPS pode levar a problemas de viscosidade, impactando a eficiência da produção em larga escala (Lopes *et al.*, 2021).

Dessa forma, as características observadas nos isolados bacterianos provenientes da ARFa e ARFe, como a morfologia das colônias, o padrão de crescimento, a consistência da biomassa e a produção de muco, estão em consonância com achados científicos recentes (Lopes *et al.*, 2021; Hossain *et al.*, 2023) e indicam o potencial biotecnológico desses microrganismos.

3.2 Capacidade de fixação de Nitrogênio em Meio Livre de Nitrogênio (NFb)

Dos 64 isolados bacterianos obtidos da ARFe, 63% demonstraram capacidade de fixação biológica de nitrogênio (Figura 5), enquanto entre os 115 isolados provenientes da ARFa, essa capacidade foi observada em 74% dos casos (Figura 5).

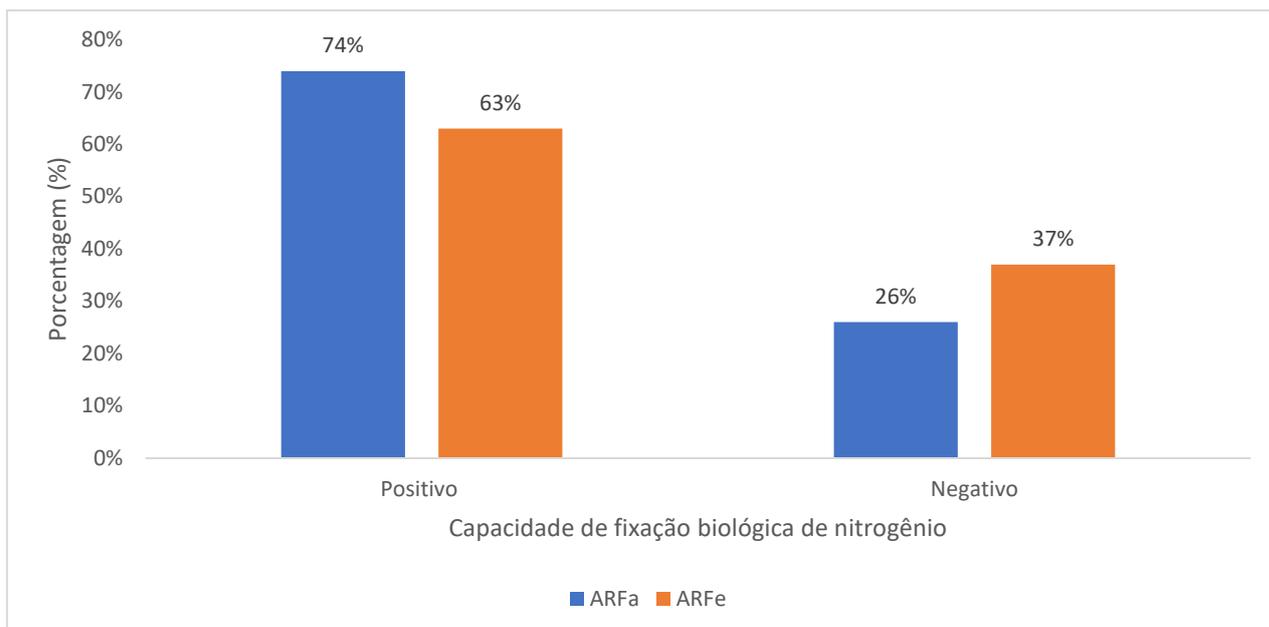


Figura 5 Porcentagem de isolados bacterianos de águas residuárias de processamento de mandioca com capacidade de fixação biológica de nitrogênio. ARFe:Água Residuária de fecularia e ARFa: Água Residuária de farinha. Fonte: Elaborado pela autora

Essa capacidade pode ser evidenciada pela formação de uma película branca na superfície do meio de cultura NFb. Esse fenômeno ocorre devido à aerotaxia, um comportamento em que microrganismos aeróbicos movem-se em direção a regiões onde o oxigênio está em equilíbrio com a taxa de respiração, resultando na formação de uma película em forma de véu (Figura 6) (Dobereiner *et al.*, 1995; Godinho *et al.*, 2019; Rodriguez *et al.*, 2022).

Além disso, há frequentemente uma mudança no pH do meio para alcalino (geralmente indicado por uma coloração azul), o que reflete a atividade metabólica dos microrganismos fixadores de nitrogênio. Segundo Silva *et al.* (2020), essa mudança de pH é um indicativo adicional da presença de microrganismos capazes de converter o nitrogênio atmosférico em formas assimiláveis, como amônia ou nitrato, essenciais para o desenvolvimento vegetal.

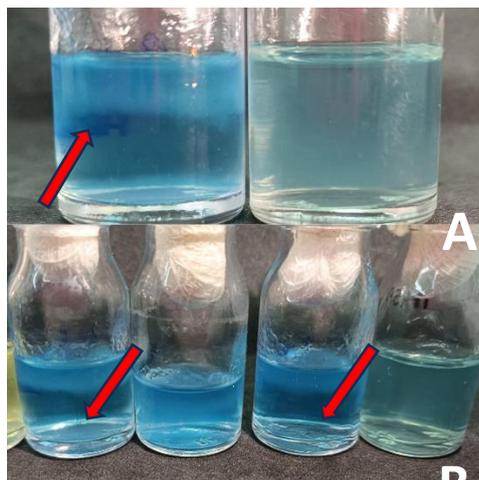


Figura 6 Teste de fixação biológica de nitrogênio (FBN) em meio NFB, livre de fonte nitrogenada. Imagem A: Inóculo de PR 47, com resultado positivo para fixação de nitrogênio, com formação da película branca (indicado pela seta) e alteração do pH (azul), e ao lado controle negativo, sem formação da película; Imagem B: Isolados com resultado positivo para fixação de nitrogênio, com formação da película branca (indicado pelas setas) e alteração do pH (azul).

Microrganismos com aerotaxia e capacidade de alcalinizar o meio podem ser bons candidatos a serem utilizados em formulação de bioinoculantes agrícolas. Essa combinação de características permite que eles se orientem para zonas com concentrações ideais de oxigênio, posicionando-se estrategicamente na rizosfera. Ao alcalinizar o ambiente, esses microrganismos promovem a solubilização de nutrientes essenciais, como fósforo e micronutrientes, facilitando sua absorção pelas plantas. Dessa forma, eles não só melhoram a eficiência nutricional, mas também reduzem a necessidade de insumos químicos, contribuindo para práticas agrícolas mais sustentáveis e ecológicas (Liu *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2023). A presença dessa película e a alteração de pH são parâmetros qualitativos importantes, pois indicam que a maioria das bactérias isoladas possui a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico.

A importância desses microrganismos isolados de águas residuárias de agroindústrias processadoras de mandioca reside na sua aplicação prática em processos de biorremediação, contribuindo para a redução de carga de nutrientes em efluentes e a mitigação de impactos ambientais. Além disso, a utilização desses fixadores de nitrogênio como bioinoculantes agrícolas promove a sustentabilidade ao diminuir a dependência de fertilizantes químicos e aumentar a eficiência nutricional do solo, beneficiando diretamente a produtividade e a saúde das culturas agrícolas. Esse processo de fixação de nitrogênio é essencial no ciclo do nitrogênio, pois gera compostos, como amônia e nitrato, que são assimilados pelas plantas e incorporados em moléculas vitais, a exemplo de proteínas e ácidos nucleicos. O nitrogênio fixado por essas bactérias desempenha, portanto, um papel fundamental no desenvolvimento vegetal, promovendo o crescimento e auxiliando a produtividade agrícola (Silva *et al.*, 2020).

3.3 Solubilizadores de fosfato inorgânico e potássio

Os resultados obtidos para a solubilização de fosfato e potássio evidenciaram diferenças entre os isolados bacterianos provenientes das águas residuárias dos diferentes processos de obtenção do subproduto. Na análise preliminar da capacidade de solubilização de potássio, verificou-se que 74% dos isolados da ARFe e 65% dos isolados da ARFa apresentaram essa capacidade (Figura 7).

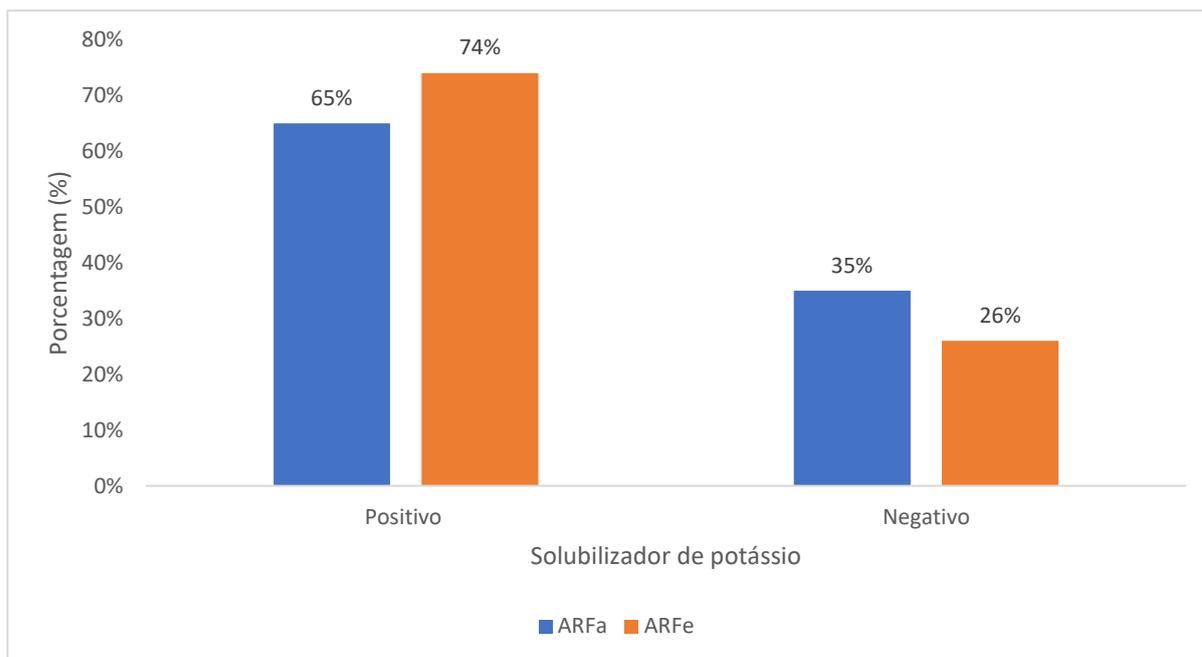


Figura 7 Porcentagem de isolados bacterianos de águas residuárias do processamento da mandioca com capacidade de solubilizar potássio. ARFe:Água Residuária de fecularia e ARFa: Água Residuária de farinha.

Fonte: Elaborado pela autora

Na etapa seguinte, os testes foram replicados e os isolados foram classificados de acordo com o índice de solubilização (IS), categorizado em três faixas: baixa solubilização ($IS < 2$), média solubilização ($2 \leq IS < 4$) e alta solubilização ($IS \geq 4$) de acordo com Berraquero *et al.*, (1976).

Quanto à solubilização de potássio, os isolados provenientes das ARFa apresentaram halos de solubilização com uma distribuição mais homogênea, variando entre 1,05 cm e 1,37 cm, com destaque para o isolado ARFa14, o mais eficiente. Em contrapartida, os isolados das ARFe demonstraram maior variabilidade, com halos medindo entre 1,04 cm e 1,60 cm, evidenciando o isolado ARFe50 como o que apresentou o maior índice de solubilização.

Contudo, considerando a classificação adotada, todos os isolados demonstraram baixa solubilização, pois os valores observados ficaram abaixo do limiar estabelecido ($IS < 2$).

As diferenças entre os isolados das duas amostras de água residuária podem ser atribuídas à diversidade microbiana, bem como à composição e ao processo de geração dos efluentes. A variação composicional, resultante do processamento da farinha ou da fécula de mandioca, origina ambientes distintos que favorecem o crescimento de diferentes grupos microbianos (Ferrarez *et al.*, 2020). Esses fatores afetam diretamente a adaptação e a capacidade metabólica dos microrganismos, especialmente em processos como a solubilização de minerais, a qual é influenciada pela composição química da água residuária (Elijah *et al.*, 2014; Bhattacharyya *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2019).

O potássio está amplamente presente no solo e em águas residuárias sob formas complexas, como silicatos e feldspatos, de baixa disponibilidade para as plantas. Microrganismos solubilizadores de potássio (MSP) podem facilitar sua mobilização ao acidificarem o meio, promovendo a liberação do nutriente em formas assimiláveis, como demonstrado por Aldesuquy *et al.* (2023). A eficácia desses isolados bacterianos depende de fatores, a exemplo do pH do meio, da fonte de carbono e da natureza do composto potássico. Estudos recentes, como os de Zhang *et al.* (2022) e Lodi (2020), evidenciam que a acidificação induzida por MSP aumenta significativamente a solubilização de potássio a partir de minerais, como o feldspato.

Além desses fatores, a interação entre os microrganismos e a composição mineral do substrato também desempenha um papel fundamental. Estudos recentes indicam que o potencial de solubilização depende tanto do tipo de rocha utilizada quanto da cepa microbiana empregada. Meena *et al.* (2021) e Aldesuquy *et al.* (2023) reforçam que minerais ricos em potássio, como os feldspatos, são mais facilmente solubilizados do que silicatos mais complexos. Condições experimentais, como temperatura e pH, também afetam diretamente essa atividade. Meena *et al.* (2021) observaram maior eficiência na solubilização em temperaturas entre 25 °C e 30 °C e pH entre 6,5 e 8,0, destacando a importância do ajuste dessas variáveis para maximizar a atuação dos MSP.

Apesar dos avanços, ainda há uma lacuna na literatura em relação à solubilização de potássio por microrganismos isolados de águas residuárias, uma vez que a maioria dos estudos se concentra em rizobactérias com potencial para uso como biofertilizantes. Por exemplo, Saha *et al.* (2016) avaliaram 50 cepas de *Bacillus* e *Pseudomonas* quanto à capacidade de solubilização utilizando meio sólido Aleksandrov modificado com wollastonita como fonte de potássio. Apenas sete cepas demonstraram atividade solubilizadora, com índices variando entre 1,53 cm e 2,75 cm. Esses achados reforçam que essa capacidade é limitada a uma fração específica da microbiota. Assim, a otimização do uso de microrganismos na solubilização de potássio depende da compreensão das condições ideais para cada cepa, considerando variáveis como pH, composição do substrato e tipo de fonte de potássio, com implicações significativas para aplicações biotecnológicas eficientes.

Na análise preliminar da capacidade de solubilização de fosfato, observou-se que 88% dos isolados da ARFe e 83% dos isolados da ARFa apresentaram essa capacidade (Figura 8). Com base na classificação pelo Índice de Solubilização (IS), os isolados da ARFa demonstraram maior variabilidade nos halos de solubilização, oscilando entre 1,19 cm e 3,38 cm, com destaque para o isolado ARFa114 (3,38 cm). Em contraste, os isolados da ARFe apresentaram menor variabilidade e valores mais baixos, com halos variando de 1,33 cm a 2,08 cm, sendo o isolado ARFe04 o mais eficiente (2,08 cm).

Esses resultados indicam um maior potencial de solubilização de fosfato entre os isolados da ARFa, o que pode estar relacionado às diferenças dos tipos de solo das regiões de produção da mandioca e à seleção realizada durante o processamento, que vai até a obtenção da água residuária. Na agroindústria, a água residuária proveniente do processamento na fecularia, aliada aos solos presente nas raízes no momento do processamento, pode ser caracterizado por alta acidez e menor disponibilidade de fósforo, devido à presença de minerais, como caulinita e óxidos de ferro e alumínio, pode favorecer uma seleção de microrganismos com perfil microbiano distinto. Em contraste, a água residuária obtida no processamento da mandioca em farinha, pode apresentar uma maior variabilidade mineralógica, também relacionada ao solo presente nas raízes, podendo apresentar condições mais favoráveis à solubilização de fosfato. Dessa forma, as características edáficas específicas de cada região, juntamente com os diferentes métodos de obtenção da água residuária, influenciam diretamente o perfil microbiano e a capacidade de solubilização de nutrientes pelos isolados bacterianos (Rossi e Kanashiro, 2024; Panini *et al.*, 2024).

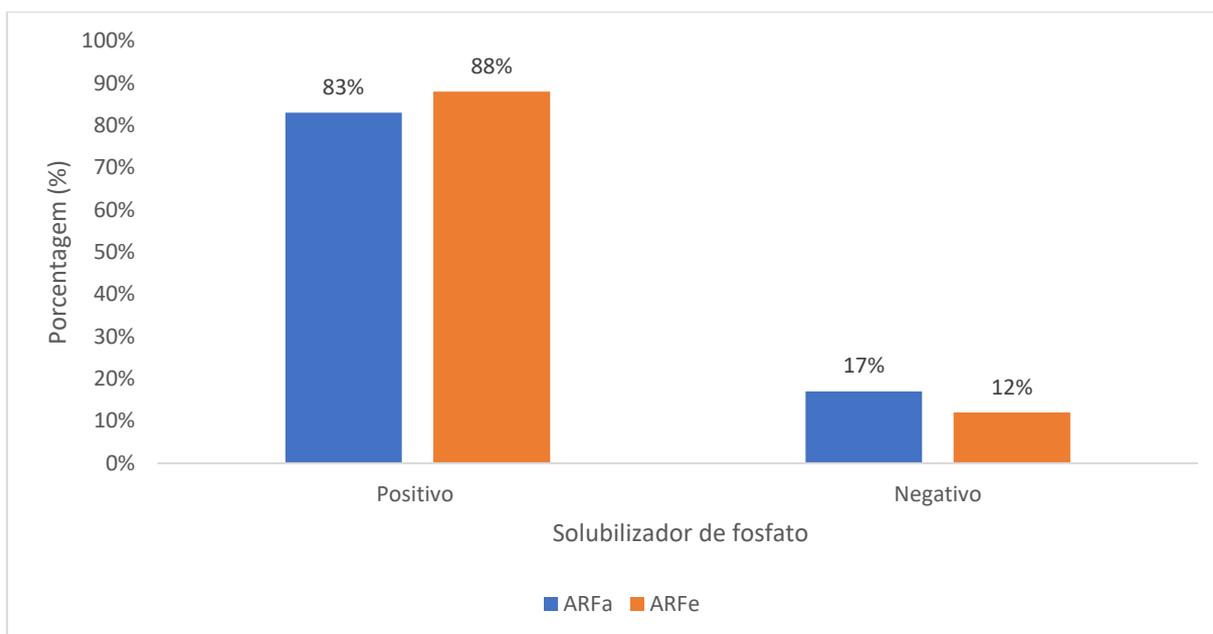


Figura 8 Porcentagem de isolados bacterianos das águas residuárias do processamento da mandioca com capacidade de solubilizar fosfato. ARFe:Água Residuária de fecularia e ARFa: Água Residuária de farinha.

Fonte: Elaborado pela autora

O meio NBRIP é amplamente utilizado em pesquisas microbiológicas para avaliação a solubilização de fosfato inorgânico empregando fosfato tricálcico como fonte de fósforo. A formação de halos claros ao redor das colônias bacterianas, após a incubação, é um indicativo visual clássico da capacidade solubilizadora, geralmente associada à produção de ácidos orgânicos (Gomes *et al.*, 2010). Essa metodologia consagrada na literatura científica oferece uma forma eficiente, prática e reproduzível para a triagem de microrganismos com potencial biotecnológico (Nautiyal, 1999; Liu *et al.*, 2015).

Embora estudos, como o de Abreu *et al.* (2017), indique que os resultados podem variar entre os meios sólido e líquido, especialmente devido à dinâmica de difusão dos compostos solubilizadores, o meio sólido permanece uma ferramenta fundamental para as etapas iniciais de triagem. Ele proporciona evidências claras e comparáveis do desempenho de diferentes isolados. No estudo citado, por exemplo, 17 de 30 isolados apresentaram halos de solubilização em meio sólido, com índices variando entre 1,00 cm e 3,71 cm, demonstrando a eficácia do método para detecção e diferenciação funcional.

No presente trabalho, a utilização do meio NBRIP em sua forma sólida mostrou-se adequada para a identificação de isolados bacterianos promissores isolados de águas residuárias da agroindústria da mandioca, alinhando-se com protocolos amplamente validados na literatura.

3.4 Capacidade de produção de sideróforos

A produção de sideróforos pelos isolados da ARFa e ARFe foi quantificada em micromolar (μM) conforme a metodologia descrita por Schwyn e Neilands (1987), utilizando *Bacillus subtilis* (CCD-04) como controle negativo e *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 13525) como controle positivo. Entre os isolados de ARFa, seis (ARFa35, ARFa64, ARFa84, ARFa97, ARFa101 e ARFa112), correspondendo a 5,22%, apresentaram produção elevada de sideróforos, com concentrações superiores a 200 μM , ultrapassando a média de *P. fluorescens* (ATCC 13525) (118,6 μM). Além disso, sete isolados (ARFa104, ARFa70, ARFa01, ARFa03, ARFa22, ARFa32 e ARFa81), equivalentes a 6,09%, foram classificados com produção média, exibindo valores entre 100 e 199 μM . Os demais isolados de ARFa demonstraram baixa ou nenhuma produção, com concentrações inferiores a 99 μM , assemelhando-se ao controle negativo, *Bacillus subtilis* (CCD-04), que apresentou 6,09 μM .

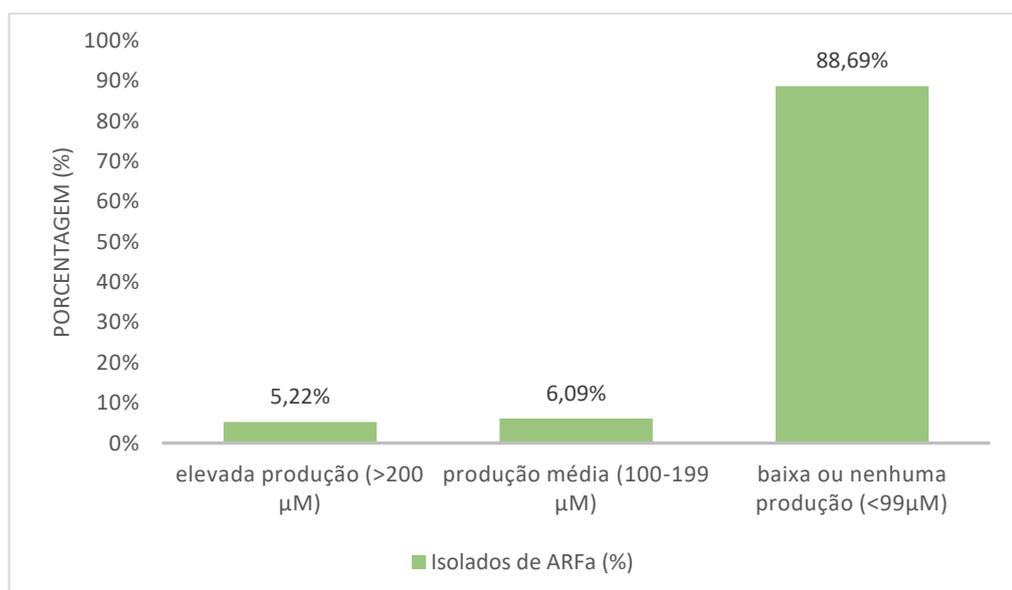


Figura 9 Porcentagem de isolados bacterianos da água residuária de indústria de farinha de mandioca (ARFa) com capacidade de produção de sideróforos.

Fonte: Elaborado pela autora.

Entre os isolados da ARFe, apenas dois (ARFe15 e ARFe38) (3,12%) apresentaram alta produção de sideróforos (>200 μM), enquanto três isolados (ARFe08, ARFe14 e ARFe22) (4,69%) foram classificados como produtores médios (100–199 μM). A maioria dos isolados (92,19%) demonstrou baixa produção, com valores inferiores a 99 μM . A classificação da capacidade de produção de sideróforos em alta, média e baixa foi baseada em metodologias previamente descritas na literatura, conforme critérios utilizados por Figueroa *et al.* (2015), Batista *et al.* (2021) e outros autores.

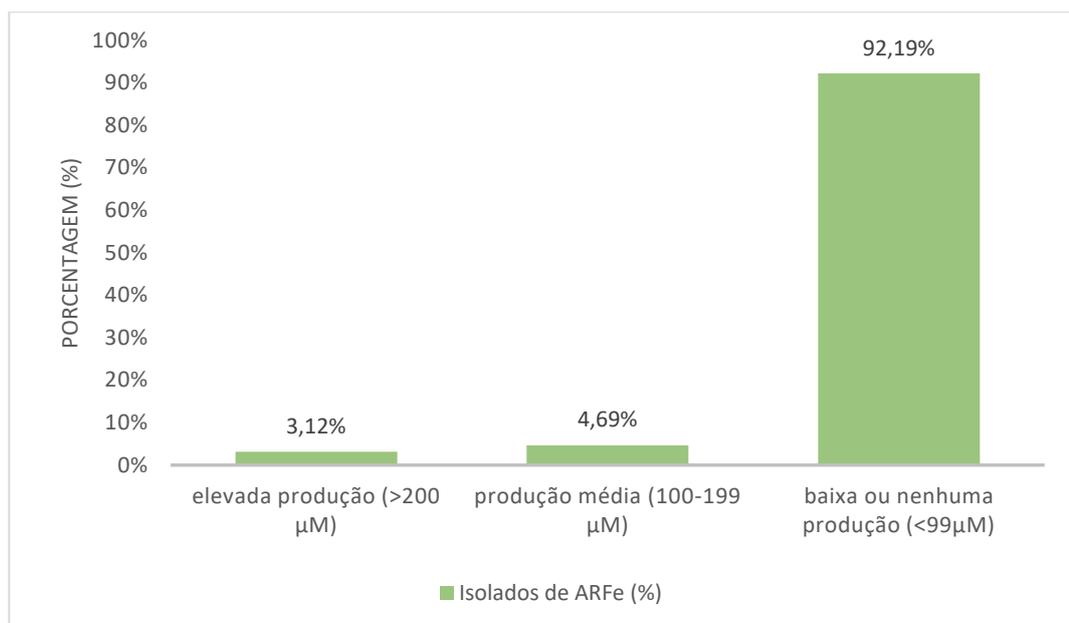


Figura 10 Porcentagem de isolados bacterianos da água residuária de indústria de fécula de mandioca (ARFe) com capacidade de produção de sideróforos

Fonte: Elaborado pela autora.

Os sideróforos são moléculas com elevada afinidade pelo ferro, capazes de formar complexos com esse mineral e, adicionalmente, quelar metais tóxicos, como alumínio e chumbo, comumente encontrados em águas residuárias do processamento de mandioca (ARM). Devido às suas propriedades químicas, esses compostos desempenham um papel fundamental na biorremediação de solos contaminados por metais pesados, contribuindo para a redução da toxicidade ambiental (Zheng *et al.*, 2017; Ajmal *et al.*, 2021). Além disso, a ação dos sideróforos está associada à promoção do crescimento vegetal, pois melhora a absorção de nutrientes e aumenta o conteúdo de clorofila em plantas cultivadas em solos contaminados. Por essa razão, os sideróforos têm sido cada vez mais utilizados como biofertilizantes, visto que estimulam o desenvolvimento das plantas e proporcionam uma abordagem sustentável para a mitigação dos impactos ambientais decorrentes da contaminação por metais pesados (Zheng *et al.*, 2017; Ajmal *et al.*, 2021; Schalk, 2024).

De forma semelhante, Souza (2025) relatou que, entre 90 isolados obtidos de solos de três localidades distintas, todos apresentaram capacidade de produzir sideróforos, com concentrações variando de 70,4 µM a 184,3 µM. Os isolados CAF85 e PNI141 destacaram-se pelas maiores concentrações, 173,3 µM e 176,5 µM, respectivamente, evidenciando variações significativas na produção entre os microrganismos avaliados. A produção de sideróforos desempenha um papel crucial na aquisição de ferro por microrganismos, especialmente em ambientes com baixa disponibilidade desse elemento, como as águas residuárias, sendo essencial para processos metabólicos, incluindo a fixação biológica de nitrogênio e o crescimento microbiano (Timofeeva, Galyamova e Sedykh, 2022). A baixa concentração de ferro impõe uma pressão seletiva que favorece microrganismos capazes de

sintetizar esses compostos quelantes, os quais têm ganhado destaque na ciência agrícola devido à sua capacidade de estimular o desenvolvimento de culturas importantes. Assim, pesquisas iniciais em laboratório são fundamentais para a seleção de cepas promissoras, sendo os ensaios em plantas uma etapa indispensável para validar a eficácia dos resultados obtidos e confirmar seu potencial para aplicações futuras na agricultura sustentável.

CONCLUSÃO

A avaliação microbiana das águas residuárias das agroindústrias de mandioca (fécula e farinha) revelou um total de 182 isolados bacterianos com relevante potencial agrícola. Desses, 63 a 74% mostraram capacidade para fixar nitrogênio, enquanto a solubilização de fosfato foi observada em 83 a 88% dos isolados e a solubilização de potássio ficou em 65 a 74%. Destacou-se também a elevada produção de sideróforos, especialmente entre os isolados provenientes da indústria de farinha, o que indica uma vantagem adicional no aumento da disponibilidade de ferro às plantas, essencial para o crescimento vegetal e resistência contra patógenos.

Esses resultados demonstram o potencial biotecnológico desses microrganismos para o desenvolvimento de biofertilizantes sustentáveis, já que reduzem a dependência de fertilizantes químicos e contribuem diretamente para a agricultura regenerativa. Recomenda-se que pesquisas futuras aprofundem a caracterização genética desses isolados e avaliem sua eficácia em diferentes culturas e condições edafoclimáticas.

Agradecimentos

Agradeço à Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) e ao Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LAMIBI) pela infraestrutura e pelo espaço disponibilizado para a realização deste estudo. Este trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Brasil, Código de Financiamento 001, por meio da concessão de bolsa de doutorado (DS). Agradeço também a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste projeto, cujo sucesso é fruto do esforço conjunto e da colaboração de toda a equipe.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. S. *et al.* Maize endophytic bacteria as mineral phosphate solubilizers. **Genetics and Molecular Research**, [s.l.], v. 16, n. 1, 2017.

AHMAD, M. *et al.* Potassium-solubilizing bacteria and their application in agriculture. *In*: MEENA, V. S.; MISHRA, P. K.; BISHT, J. K.; POOJA, R. (Eds.). **Potassium**

Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture. Nova Deli: Springer India, 2016. p. 293-313. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2_21. Acesso em: 06 jan. 2025.

AJMAL, A. W.; SAROOSH, S.; MULK, S.; HASSAN, M. N.; YASMIN, H.; JABEEN, Z.; NOSHEEN, A.; SHAH, S. M. U.; NAZ, R.; HASNAIN, Z. *et al.* Bacteria isolated from wastewater irrigated agricultural soils adapt to heavy metal toxicity while maintaining their plant growth promoting traits. **Sustainability**, [s.l.], v. 13, p. 7792, 2021.

ALDESUQY, A. H. *et al.* Potassium solubilizing microorganisms and their potential role in agriculture. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 30, p. 19856-19870, 2023.

ALMIRO, J. *et al.* Unearthing the plant-microbe quid pro quo in root associations with beneficial fungi. **New Phytol**, [s.l.], v. 234, n. 06, p. 1967-1976, jun. 2022.

BERG, G.; RYBAKOVA, D.; GRUBE, M.; KOBERL, M. The plant microbiome explored: Implications for agricultural sustainability and new insights. **Annual Review of Phytopathology**, [s.l.], v. 58, p. 199-226, 2020.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 33, n. 10, p. 200, 2017.

CHAN, D. C. K.; BURROWS, L. L. *Pseudomonas aeruginosa* FpvB é um transportador de alta afinidade para xenosideróforos Ferricromo e Ferrioxamina B. **mBio**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. e0314922, 28 fev. 2023.

DE PAULA, A. M.; BECKER, A. S.; SILVA, E. J.; VENDRUSCOLO, E. C. G.; SANTOS, M. F. Potencial de solubilização de potássio em rochas moídas por bactérias isoladas de área de mata. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 2013. **Anais [...]**. 2013.

DELANKA-PEDIGE, H. M. K.; JIN, X.; ZHANG, Y.; LIU, Y. Wastewater infrastructure for sustainable cities: assessment based on UN Sustainable Development Goals (SDGs). **Journal of Cleaner Production**, [s.l.], v. 312, 2020.

DOBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas.** Brasília: Embrapa-SPI, 1995. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/622470>. Acesso em: 03 fev. 2025.

ELIJAH, A. I. *et al.* Diversidade bacteriana e atividade de solubilização de fosfato em águas residuárias da agroindústria. **Journal of Environmental Management**, [s.l.], v. 148, p. 119-128, 2014.

FERREIRA, T. C. *et al.* Potencial de *Bacillus* spp. em promover o crescimento e controlar *Fusarium verticillioides* em milho. **Summa Phytopathologica**, [s.l.], v. 47, n. 4, p. 195-203, 2021.

FERRAREZ, J. A. *et al.* Características da manipueira e seu potencial de reutilização como biofertilizante. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 24, n. 3, p. 73-81, 2020.

GODINHO, B. T. V.; TAVARES, A. N. G.; LANA, U. G. de P.; SOUSA, S. M. de; PAIVA, C. A. de O.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A. **Isolamento e potencial uso de bactérias do gênero *Bacillus* na promoção de crescimento de plantas em condições de déficit hídrico.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2019. Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1114738/1/bol192.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2024.

GOMES, E. A.; SOUZA, F. A. de; SOUSA, S. M. de; VASCONCELOS, M. J. V. de; MARRIEL, I. E.; SILVA, U. C. da. **Prospecção de comunidades microbianas do solo ativas no aproveitamento agrícola de fontes de fósforo de baixa solubilidade**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/883157/1/doc107.pdf>. Acesso em: 19 fev. 2025.

HOSSAIN, M.S. *et al.* Microbiome analysis revealed distinct microbial communities occupying different sized nodules in field-grown peanut. **Front Microbiology**, [s.l.], v. 2, n. 14, p. 1075575, mar. 2023.

HUNGRIA, M.; SILVA, K. **Uso e eficiência de inoculantes para culturas agrícolas**. *Embrapa Soja – Documentos*, v. 438, 2022

HUNGRIA, A. S.; FARKAS, E.; NAGY, P. Synergistic effects of microbial consortia on plant growth promotion: A field study in Hungary. **Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 128, n. 3, p. 456-468, 2023

JÚNIOR FERNANDES, P. I. *et al.* Produção e comportamento reológico de exopolissacarídeos sintetizados por rizóbios isolados de guandu. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.45, n.12, p.1465-1471, dez. 2010.

LIU, Z. *et al.* Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from calcareous soils. **Applied Soil Ecology**, [s.l.], v. 96, p. 217-224, 2015.

LIU, Y. *et al.* Advances in Microbial Biofilm Research for Agricultural Applications. **Journal of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 131, n. 4, p. 1756-1768, 2021.

LODI, R. Solubilization of potassium by *Aspergillus niger* in culture media. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v. 44, p. 1234-1242, 2020.

LOPES, M. J. dos S. *et al.*, Biotecnologia microbiana: inoculação, mecanismos de ação e benefícios às plantas. **Research, Society and Development**, [s.l.], v. 10, n. 12, e356101220585, 2021.

MA, J. *et al.* Impact of foliar application of syringic acid on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under heavy metal stress-insights into nutrient uptake, redox homeostasis, oxidative stress, and antioxidant defense. **Front Plant Sci.** [s.l.], v. 25, n. 13, p. 920120, ago. 2022.

MEENA, V. S. *et al.* Potassium solubilizing microorganisms and their role in plant nutrition: A review. **Soil Biology and Biochemistry**, [s.l.], v. 156, p. 108131, 2021.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, [s.l.], v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.

OLIVEIRA, R. T.; SOUZA, M. J. Impact of untreated agro-industrial effluents on soil and water quality: A case study. **Journal of Environmental Management**, [s.l.], v. 280, p. 111688, 2021.

PANINI, R. L., *et al.* Classificação de solos e caracterização de atributos físicos de solos de uma topossequência do Arenito Caiuá. **Observatório de la Economía Latinoamericana**, [s.l.], 2024.

QUARESHI, T. M.; WAHEED, A.; MUMTAZ, S. Bacteria isolated from wastewater irrigated agricultural soils adapt to heavy metal toxicity while maintaining their plant growth promoting traits. **Sustainability**, [s.l.], v. 13, n. 14, p. 7792, 2021.

RODRIGUES, J. A.; VIEIRA, L. M. Microbial diversity in industrial effluents and its potential for biotechnological applications. **Journal of Environmental Biotechnology**, [s.l.], v. 15, n. 4, p. 245-257, 2020.

RODRIGUEZ, H. *et al.* Phosphate solubilizing microorganisms: Current knowledge and future perspectives. **Applied Soil Ecology**, [s.l.], v. 172, p. 104-313, 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104313>.

ROSSI, M.; KANASHIRO, M.M. Os solos da Ilha do Cardoso, Cananéia, Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil: uma revisão. **Hoehnea**, [s.l.], v.51, e252024, 2024.

SANTOS, J. D.; SILVA, E. V.; MORAIS, L. Potential of potassium-solubilizing bacteria for increasing nutrient availability to plants. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s.l.], v. 274, p. 24-28, 2019.

SAHA, M. *et al.* Identification and characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from Indo-Gangetic Plains of India. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 7, p. 202-209, 2016.

SCHWYN, B.; NEILANDS, J. B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, [s.l.], v. 160, p. 47-56, 1987.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3rd ed. Cambridge: Academic Press, 2008.

SILVA, E. P.; BARROS, Y. C.; SANTOS, A. F. J. Mitigação do déficit hídrico em plantas de milho por *Bacillus* sp. isolados de plantas endêmicas da caatinga. **Scientific Electronic Archives**, [s.l.], v. 16, n. 6, 2023.

SILVA, M. J.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants for tropical soils: Effects on the production of staple food and bioenergy crops. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, [s.l.], v. 20, n. 2, p. 1-15, 2020.

SOUZA, M. M. *et al.* Prospecting and evaluating antimicrobial resistance and metal tolerance of microorganisms isolated from cave soil in Serra de Carajás – PA. **Contribuciones a las ciencias sociales**, [s.l.], v. 16, n. 12, p. 30273-30290, 2023.

SOUZA, L. de. **Bioprospecção e avaliação de rizobactérias com potencial de promoção de crescimento vegetal para a cultura do feijoeiro**. Orientadora: Fabiana Gisele da Silva Pinto. 2025. 99 f. Dissertação (Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2025.

TIMOFEEVA, A. M.; GALYAMOVA, M. R.; SEDYKH, S. E. Bacterial siderophores: Classification, biosynthesis, perspectives of use in agriculture. **Plants**, [s.l.], v. 11, n. 22, 2022.

VASILAKOU, K.; NIMMEGEERS, P.; YAO, Y.; BILLEN, P.; VAN PASSEL, S. Fatores globais de caracterização espaço-temporal para eutrofização de água doce em cenários de mudanças climáticas. **A Ciência do Ambiente Total**, [s.l.], 2024.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, [s.l.], v. 255, n. 2, p. 571-586, 2003.

WANG, X.; LI, Y.; ZHANG, J. Impact of wastewater discharge on microbial communities and water quality in urban rivers. **Water Research**, [s.l.], v. 80, p. 213-221, 2015.

ZHANG, H. *et al.* Influence of pH on Nitrogen-Fixing Bacteria and Their Potential in Bioinoculant Development. **Environmental Biotechnology**, [s.l.], v. 15, n. 2, p. 220-230, 2023.

ZHANG, L. *et al.* Solubilization of potassium by *Aspergillus niger* and its effect on plant growth. **Biology and Fertility of Soils**, [s.l.], v. 58, p. 205-217, 2022.

ZHENG, Y.; XUE, Q.-Y.; XU, L.-L.; XU, Q.; LU, S.; GU, C.; GUO, J.-H. A screening strategy of fungal biocontrol agents towards Verticillium wilt of cotton. **Biol. Control**, [s.l.], 2011, v. 56, p. 209-216.

ARTIGO 2 – ANÁLISE METAGENÔMICA E FUNCIONAL DE COMUNIDADES MICROBIANAS EM ÁGUA RESIDUÁRIA DE AGROINDÚSTRIAS DE MANDIOCA

RESUMO

O processamento da mandioca, atividade essencial para a economia brasileira, gera grandes volumes de água residuária com alta carga orgânica e potencial poluidor, representando um desafio ambiental relevante. Tradicionalmente, a gestão desses efluentes tem se concentrado em análises físico-químicas, enquanto o perfil microbiano, especialmente por meio de abordagens metagenômicas e de predição funcional, permanece pouco explorado. Este estudo busca preencher essa lacuna, caracterizando as comunidades bacterianas presentes em águas residuárias oriundas de dois tipos de processamento agroindustrial da mandioca: farinheira (ARFa) e fecularia (ARFe). Para isso, foi realizado o sequenciamento metagenômico por amplificação do gene 16S rRNA, associado à predição funcional e à avaliação da diversidade metabólica, utilizando o sistema Biolog EcoPlate®, o que permite investigar tanto a composição taxonômica quanto o potencial metabólico das comunidades microbianas. Os resultados revelaram que os filos dominantes foram Proteobacteria, Bacteroidota e Firmicutes, com prevalência dos gêneros *Gemmatimonas*, *Nannocystis* e *Bacillus*. Apesar de variações pontuais relacionadas à disponibilidade de nutrientes e à composição química dos efluentes, os perfis taxonômicos e funcionais mantiveram-se estáveis entre os anos de 2022 e 2024. A forte correlação linear entre o número de substratos utilizados e a diversidade funcional ($r = 0,99999$; $p < 0,001$) indica que a capacidade metabólica das comunidades microbianas está associada à presença de consórcios com múltiplas vias metabólicas. Análises multivariadas, como PCA e Bray-Curtis, revelaram perfis metabólicos robustos e especializados, sugerindo que os efluentes apresentam potencial para uso como substratos em processos biotecnológicos. Esses achados reforçam a importância da valorização desses resíduos dentro de uma perspectiva de economia circular e sustentabilidade ambiental, além de ressaltar a necessidade de pesquisas aprofundadas para o desenvolvimento de protocolos padronizados de tratamento e revalorização desses resíduos.

Palavras-chave: Diversidade. Predição metabólica. Composição microbiana. Água residuária.

INTRODUÇÃO

A agroindústria da mandioca (*Manihot esculenta*) apresenta grande relevância para a economia brasileira, uma vez que abastece diferentes setores industriais e alimentares com uma variedade de subprodutos. Contudo, o processamento dessa raiz gera grandes volumes de águas residuárias, capazes de compor até 30% da massa total processada (McCallum *et al.*, 2017). Além do alto potencial poluente em função do teor de compostos orgânicos e tóxicos, essa água residuária representa também uma fonte promissora de biomassa para aplicações biotecnológicas, possibilitando pesquisas voltadas à valorização de resíduos e à mitigação de impactos ambientais (Guo, 2019; Delforno, 2019).

Tradicionalmente, a caracterização da água residuária de mandioca tem se limitado às análises físico-químicas, como determinação de demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), pH e concentrações de cianeto e nutrientes (Vilvert

et al., 2022; Tomoto, 2024). Embora essas métricas sejam fundamentais para indicar a carga poluente, não capturam em profundidade a riqueza microbiana e o potencial biotecnológico característico ao consórcio microbiano presente no efluente. Nesse contexto, novas abordagens têm sido empregadas para elucidar os mecanismos e as rotas metabólicas que tornam esses microrganismos aliados na conversão de resíduos em produtos de valor agregado.

No âmbito da biotecnologia, a metagenômica figura como uma ferramenta estratégica para analisar comunidades microbianas complexas em ambientes de alta carga orgânica, a exemplo das águas residuárias de mandioca *in natura*. Ao fornecer informações sobre a composição e o potencial genético de populações microbianas, a metagenômica permite a identificação de microrganismos e vias metabólicas capazes de converter compostos tóxicos em substâncias bioativas ou em intermediários de interesse, como bioinsumos, enzimas de aplicação industrial e fontes energéticas (Pessoa Filho, 2010; Silva *et al.*, 2023).

Ao integrar a metagenômica, que identifica e analisa os genomas dos microrganismos presentes na água residuária, com ferramentas de predição funcional baseadas em bioinformática, é possível prever e compreender os processos moleculares, revelando como os genes ativos influenciam as transformações químicas e metabólicas nesse meio. Dessa forma, torna-se possível correlacionar genes específicos à capacidade de degradação de compostos recalcitrantes ou à síntese de metabólitos com potencial para aplicação na indústria alimentícia, farmacêutica, biocombustíveis ou de agroindústria (Ibekwe e Kennedy, 2010; Zhou *et al.*, 2022). Por meio dessa integração, avanços relevantes são obtidos na geração de produtos de maior valor agregado, como ácidos orgânicos, biopolímeros e biossurfactantes, a partir de resíduos tradicionalmente subutilizados.

Paralelamente, as avaliações funcionais, como as realizadas por meio do sistema Biolog EcoPlate®, têm se mostrado ferramentas complementares à análise metagenômica, permitindo investigar a versatilidade metabólica das comunidades microbianas presentes. Essa abordagem possibilita a mensuração da capacidade dos microrganismos em metabolizar diferentes fontes de carbono, fornecendo um perfil detalhado de utilização de substratos (Miao *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2018). A partir desses dados, é possível identificar microrganismos promissores com potencial para degradar compostos tóxicos ou converter carboidratos em precursores químicos (de Paula *et al.*, 2019). Assim, a correlação entre a diversidade genética revelada pela metagenômica e a atividade metabólica efetiva demonstrada pelo Biolog EcoPlate® torna-se essencial para o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas voltadas ao reaproveitamento da água residuária, possibilitando sua aplicação na biorremediação e na produção de metabólitos de interesse industrial.

Apesar dos avanços recentes, a literatura ainda apresenta lacunas significativas na caracterização metagenômica e funcional das águas residuárias de mandioca *in natura* em

diferentes regiões brasileiras, dificultando tanto o estabelecimento de protocolos padronizados de tratamento quanto a implementação de processos de valorização biotecnológica. Muitos estudos concentram-se em resíduos sólidos ou misturas de efluentes, negligenciando o potencial inexplorado do efluente líquido e suas diversas aplicações. Esse cenário evidencia a necessidade de pesquisas específicas voltadas para essa matriz, impulsionando o desenvolvimento de soluções inovadoras que conciliem viabilidade econômica e sustentabilidade ambiental.

Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo analisar, de forma integrada, a composição microbiana e o perfil metabólico da água residuária *in natura* oriunda de diferentes agroindústrias de mandioca, utilizando técnicas de metagenômica e o sistema Biolog EcoPlate®. A hipótese é de que a compreensão detalhada das comunidades microbianas e suas rotas metabólicas, aliada aos dados funcionais, possa subsidiar o desenvolvimento de processos biotecnológicos mais eficientes para o tratamento desse efluente. Além disso, espera-se fomentar a economia circular na cadeia produtiva da mandioca, agregando valor a um resíduo frequentemente associado a impactos ambientais negativos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta dos resíduos

Os resíduos das agroindústrias de processamento de mandioca para a avaliação do consumo de fontes de carbono Biolog Ecoplate e metagenômica foram coletados nos anos de 2022 e 2024, em uma agroindústria de fécula de mandioca (ARFe) e de farinha de mandioca (ARFa). As amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em garrafa do tipo pet e refrigeradas em caixa térmica para transporte até o Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LAMIBI) na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste).

2.2 Biolog EcoPlate

A avaliação funcional das comunidades microbianas das águas residuárias da agroindústria da mandioca foi realizada utilizando o sistema Biolog EcoPlate, seguindo a metodologia do fabricante. Cada placa EcoPlate contém 31 diferentes fontes de carbono em triplicata, totalizando 96 poços, incluindo um controle negativo (sem fonte de carbono). Para a inoculação, uma alíquota de 120 µL de suspensão da água residuária diluída (diluição seriada final de 10^{-4}) foi adicionada em cada poço. A atividade metabólica foi avaliada por meio da redução do corante tetrazólio, que indica o potencial redox, conforme descrito por

Ibekwe e Kennedy (2010). As placas foram incubadas por cinco dias, com leituras diárias da densidade óptica (D.O.) a 590 nm.

2.3 Análise da comunidade bacteriana pelo sequenciamento de Amplicon

Uma alíquota de 0,2 g foi retirada de cada amostra para extrair o DNA pelo método de tampão (Kageyama *et al.*, 2015) e purificada com o Kit de purificação PCR da Promega (Promega Co., EUA). A concentração de DNA foi verificada por nanodrop. As sequências do gene 16S rRNA foram analisadas por PCR de amplicon usando um par de primers V3/V4 (Klindworth *et al.*, 2013). A sequência do primer *forward* foi V3 (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') e o *reverse* foi V4 (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'), com o adaptador de *overhang* adicionado (Illumina Co.), seguido da construção da biblioteca com barcodes recomendados pelo mesmo grupo. Foi feita uma purificação e equalização da biblioteca, estabelecendo-se um mínimo de 4 ng μl^{-1} para dar procedimento. Em seguida, a biblioteca foi sequenciada no Genome Quebec, Co., Canadá, utilizando o Illumina MiSeq PE 300, e os dados de análise de sequenciamento de amplicon foram processados com o pipeline Qiime2-2023.8 (<https://qiime2.org/>) (Bolyen *et al.*, 2018). Esse método foi empregado para avaliar a abundância relativa dos grupos de bactérias a nível de gênero e filo das águas residuárias. Para a classificação metataxonômica, o DNA bacteriano foi avaliado utilizando os bancos de dados Silva e Green genes, cuja atribuição foi realizada pela ferramenta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). A predição das funções metabólicas foi determinada pelo FAPROTAX (Louca *et al.*, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização das comunidades microbianas presentes nas águas residuárias das agroindústrias da mandioca torna-se interessante para entender os processos de degradação da matéria orgânica e identificar potenciais aplicações biotecnológicas. Sendo assim, a análise metagenômica das águas residuárias revelou uma abundância relativa dos filos bacterianos dominantes, presentes em todas as amostras, as quais foram Proteobacteria, Bacteroidota e Firmicutes (Figura 11). Esses grupos foram identificados tanto na ARFa quanto na ARFe, independentemente do ano de coleta, e frequentemente estão associados à degradação de matéria orgânica e à transformação de nutrientes. Essa constância na composição taxonômica das águas residuárias sugere que, apesar das variações possíveis nos processos de obtenção dos resíduos e de influências regionais ou temporais, a composição química dos efluentes tende a selecionar microrganismos com funções degradativas semelhantes. Estudos recentes, como os de Quintero-Díaz e Gil-Posada (2024), corroboram essa constatação, indicando uma homogeneidade na composição dos resíduos

oriundos de agroindústrias de mandioca. Em seu estudo, os autores focaram na análise das águas residuárias (AR) geradas pelo processamento da mandioca, em batelada, coletando amostras de diferentes regiões produtoras na Colômbia. Eles identificaram que, apesar das variações regionais e dos processos específicos de produção, a composição química dos efluentes tende a selecionar microrganismos com funções degradativas semelhantes, o que resulta em perfis microbianos homogêneos.

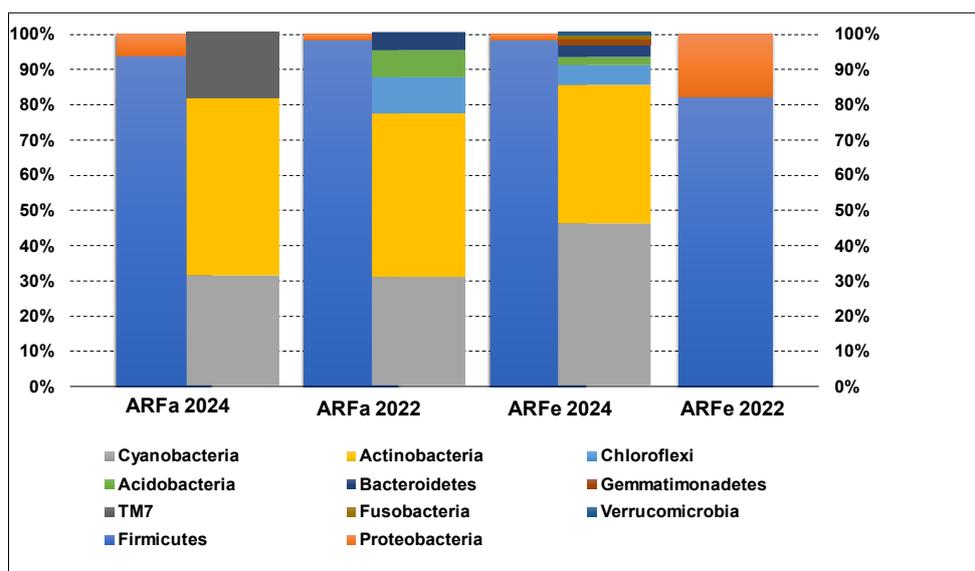


Figura 11 Abundância relativa de filos bacterianos dominantes na água residuária de agroindústria de farinha de mandioca (ARFa) e de fécula de mandioca (ARFe) nos anos de 2022 e 2024.
Fonte: Elaborado pela autora

No nível de gêneros, evidenciou-se a predominância de *Gemmatimonas*, *Nannocystis*, *Bacillus*, em ambos os conjuntos de amostras, embora com variações na abundância relativa entre ARFa e ARFe (Figura 12). Observou-se uma maior predominância de *Nannocystis* em ARFe e *Gemmatimonas* em ARFa, o que pode refletir uma maior disponibilidade de determinados substratos orgânicos ou condições físico-químicas específicas que favoreçam o crescimento desse gênero, pH neutro a ligeiramente alcalino, elevada concentração de oxigênio dissolvido e disponibilidade de substratos lipídicos e ácidos graxos. Ademais, as variações observadas entre as coletas de 2022 e 2024 podem indicar mudanças temporais no perfil dos resíduos, possivelmente, decorrentes de alterações nos processos industriais ou variações na composição da matéria-prima, evidenciando a dinâmica adaptativa das comunidades microbianas em resposta às condições ambientais do efluente (Ibekwe e Kennedy, 2010; Li *et al.*, 2023).

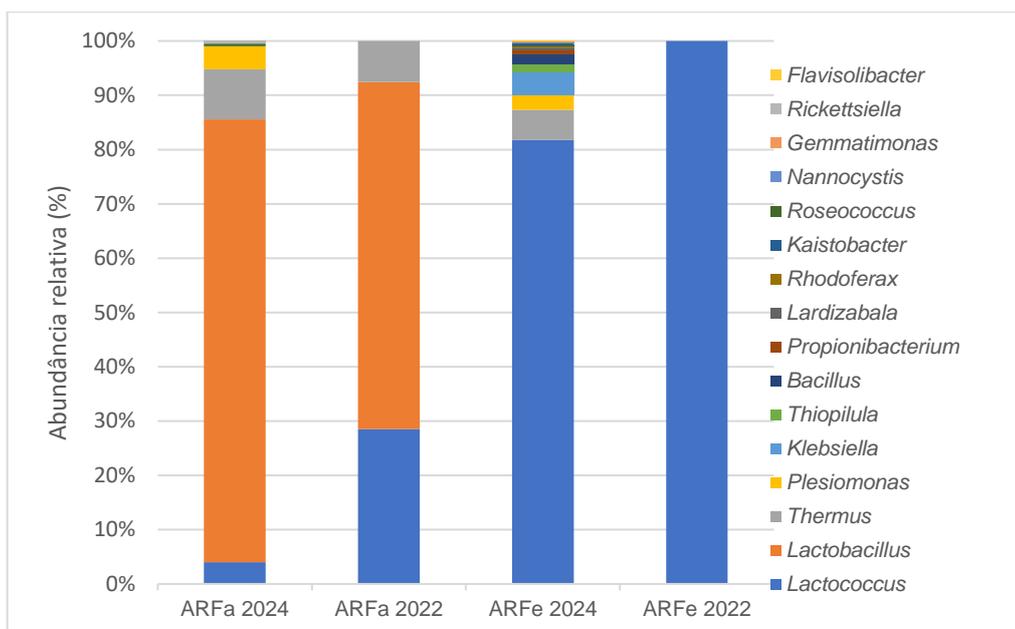


Figura 12 Abundância relativa de gêneros bacterianos dominantes na água residuária de agroindústria de farinha de mandioca (ARFa) e de fécula de mandioca (ARFe) nos anos de 2022 e 2024.

Fonte: Elaborado pela autora.

Na Figura 13, são apresentados os resultados das predições metabólicas em águas residuárias, baseadas em um total de 811.228 sequências (100%), a partir das quais foram calculadas as porcentagens correspondentes à quantidade de unidades atribuídas a cada função, como fermentação, quitinólise e desnitrificação. Os dados evidenciam diferenças entre as amostras, com destaque especial para a ARFe. Em 2024, a atividade fermentativa em ARFe foi predominante, representando aproximadamente 0,29% do total das leituras, valor significativamente superior aos observados nas amostras da ARFa, que variaram entre 0,04% e 0,05%. De maneira semelhante, a atividade quitinolítica foi identificada exclusivamente em ARFe 2024, correspondendo a cerca de 0,006% das funções previstas, o que sugere uma maior disponibilidade de substratos contendo quitina ou compostos estruturalmente semelhantes nesse efluente. Processos relacionados à desnitrificação, embora presentes em menores proporções, foram também predominantemente identificados em ARFe, indicando diferenças nas capacidades metabólicas, possivelmente, associadas à distinta composição química dos efluentes dos processos avaliados.

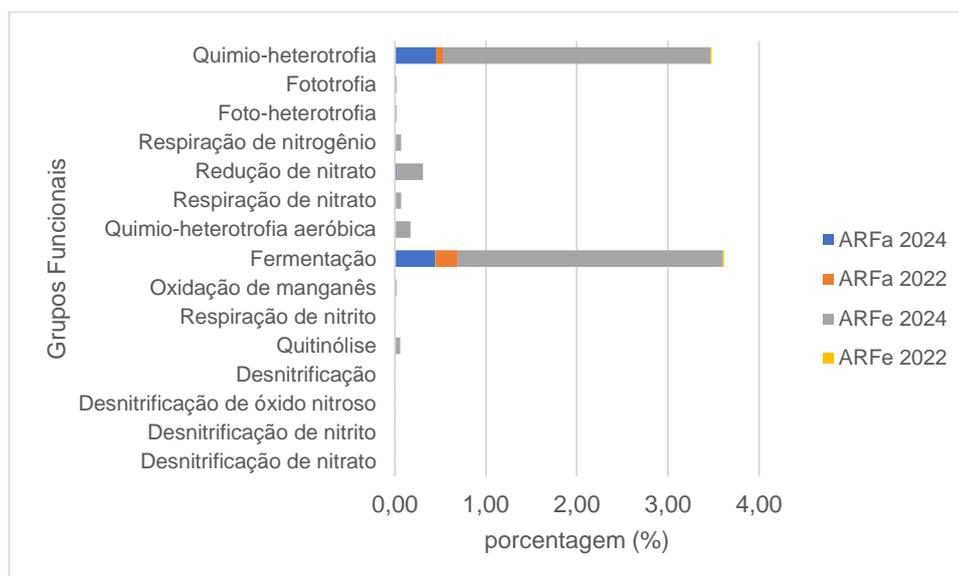


Figura 13 Predição funcional presente na água residuária de agroindústria de farinha (ARFa) e de fécula (ARFe) de mandioca nos anos de 2022 e 2024.

Fonte: Elaborado pela autora.

Esses resultados são consistentes com a literatura, uma vez que os gêneros predominantes, como *Nannocystis* e *Bacillus*, possuem vias metabólicas que possibilitam a degradação de compostos complexos e a produção de enzimas específicas para processos como fermentação e desnitrificação (Németh *et al.*, 2021; Tong *et al.*, 2023). Em particular, espécies de *Bacillus* são reconhecidas pela capacidade de produzir diversas enzimas hidrolíticas (por exemplo, amilases, proteases e quitinases), favorecendo a fermentação e a quebra de substratos complexos (Stoyancheva *et al.*, 2023). Já as espécies de *Nannocystis*, apresentam vias relacionadas à desnitrificação e metabolização de compostos orgânicos, que contribuem para a remoção de nitrogênio e a degradação de moléculas recalcitrantes (Németh *et al.*, 2021; Tong *et al.*, 2023). Ademais, a *Gemmatimonas*, também identificada em níveis relevantes nas amostras, pode se adaptar a diferentes condições físico-químicas e utilizar ampla variedade de substratos, o que corrobora sua maior atividade fermentativa em ARFe (Andrade *et al.*, 2020).

A associação entre os perfis taxonômicos e a predição funcional revela uma clara relação entre a composição das comunidades microbianas das águas residuárias (Figuras 11 e 12) e suas capacidades metabólicas específicas (Figura 13). Sendo assim, a predominância de grupos bacterianos, como *Gemmatimonas*, *Nannocystis* e *Bacillus*, reconhecidos por suas atividades metabólicas relacionadas à fermentação, desnitrificação e quitinólise, está diretamente associada às funções identificadas nas análises preditivas. Embora as amostras ARFa e ARFe apresentem similaridades quanto à composição taxonômica geral, as diferenças observadas na expressão das atividades metabólicas, especialmente a maior atividade fermentativa e a presença exclusiva da atividade quitinolítica em ARFe, sugerem

uma composição química diferenciada dos resíduos, provavelmente devido a uma maior diversidade e disponibilidade de substratos específicos na ARFe.

Essas diferenças possuem implicações biotecnológicas significativas. A predição funcional encontrada em ARFe, caracterizada pela elevada atividade fermentativa, indica um elevado potencial desses resíduos para a produção de bioinsumos, a exemplo de biofertilizantes, bem como seu aproveitamento para geração de biogás. Esse potencial se deve à reconhecida capacidade dos microrganismos fermentadores em converter matéria orgânica complexa em compostos bioativos e nutrientes solúveis (Andrade *et al.*, 2020). Ademais, processos, como a quitinólise e a desnitrificação, presentes de forma mais expressiva também em ARFe, apontam para aplicações promissoras em estratégias biotecnológicas, permitindo a redução eficiente de poluentes orgânicos e nutrientes em excesso, além de favorecer a reabilitação de áreas degradadas (Quintero-Díaz e Gil-Posada, 2024; Stoyancheva *et al.*, 2023). Dessa forma, os resultados sugerem que a predição funcional identificada reflete diretamente a composição microbiana e a disponibilidade de substratos nas diferentes águas residuárias.

No presente estudo, também foi avaliado o perfil metabólico das comunidades microbianas presentes nas águas residuárias provenientes da agroindústria da mandioca, utilizando a técnica Biolog EcoPlate, que possibilita a análise do perfil fisiológico a nível de comunidade (CLPP). Os resultados indicaram que, no ano de 2022, as amostras ARFa e ARFe apresentaram uma similaridade de 93,94%, correspondendo a uma “impressão digital” quase idêntica nas placas (considerando que 100% representariam amostras idênticas e 0% a completa oposição entre elas), bem como uma diversidade funcional de 80,65% (em uma escala que varia de 0% a 100%, em que valores menores indicam baixa diversidade e maiores indicam alta diversidade). Em 2024, observou-se um aumento, com as amostras evidenciando 95,82% de similaridade e 90,32% de diversidade funcional.

Sendo assim, a Figura 12 demonstra a aptidão dos microrganismos em metabolizar diversas fontes de carbono ao longo do tempo, evidenciando seu potencial metabólico e funcional.

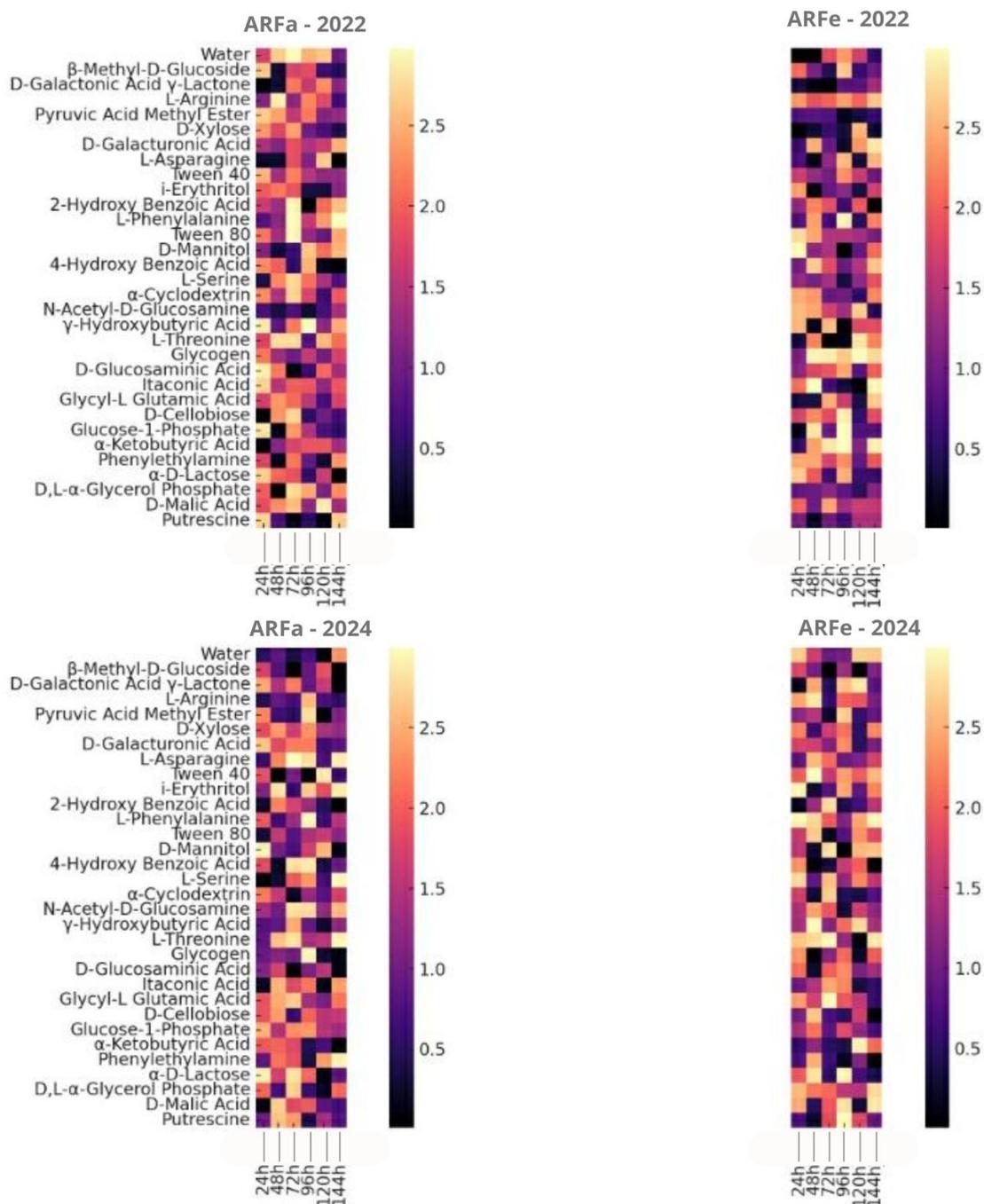


Figura 14 Heatmaps comparativos da utilização de substratos de carbono em microbiomas das águas residuárias dos processos de obtenção de farinha de mandioca (ARFa) e de fécula de mandioca (ARFe) nos anos de 2022 e 2024.

A comparação entre os anos de 2022 e 2024, tanto para a ARFa quanto para a ARFe, revela um padrão geral de utilização de substratos bastante semelhante, reforçando os resultados obtidos nas análises de CLPP. Apesar disso, pequenas variações pontuais no consumo de fontes de carbono foram observadas, perceptíveis pelas diferenças na intensidade de coloração das células (mais claras ou mais escuras), o que reflete discretamente variações na intensidade de utilização de cada substrato. Ainda assim, os perfis metabólicos das águas residuárias dos dois processos apresentaram mais semelhanças do

que divergências, indicando um comportamento funcional consistente ao longo do tempo. Esses achados corroboram estudos anteriores que apontam para a estabilidade funcional das comunidades microbianas, mesmo em cenários ambientais distintos (Gonçalves et al., 2021), sugerindo uma capacidade funcional conservada e um padrão previsível de adaptação e consumo de carbono.

Complementarmente, os dados demonstram que o metabolismo microbiano atinge seu pico após 120 horas de incubação, período que coincide com a maior utilização da maioria dos substratos testados. A hipótese de alternância no consumo de fontes de carbono — em que os microrganismos passariam a explorar novas fontes à medida que esgotam as anteriores — não se confirma, uma vez que a composição dos substratos foi mantida constante ao longo do experimento. Da mesma forma, as pequenas flutuações observadas não podem ser atribuídas a fatores ambientais externos, como qualidade da água, disponibilidade de nutrientes ou variações climáticas, pois todas essas variáveis foram rigorosamente controladas no delineamento experimental (Gonçalves et al., 2021; Andrade et al., 2022).

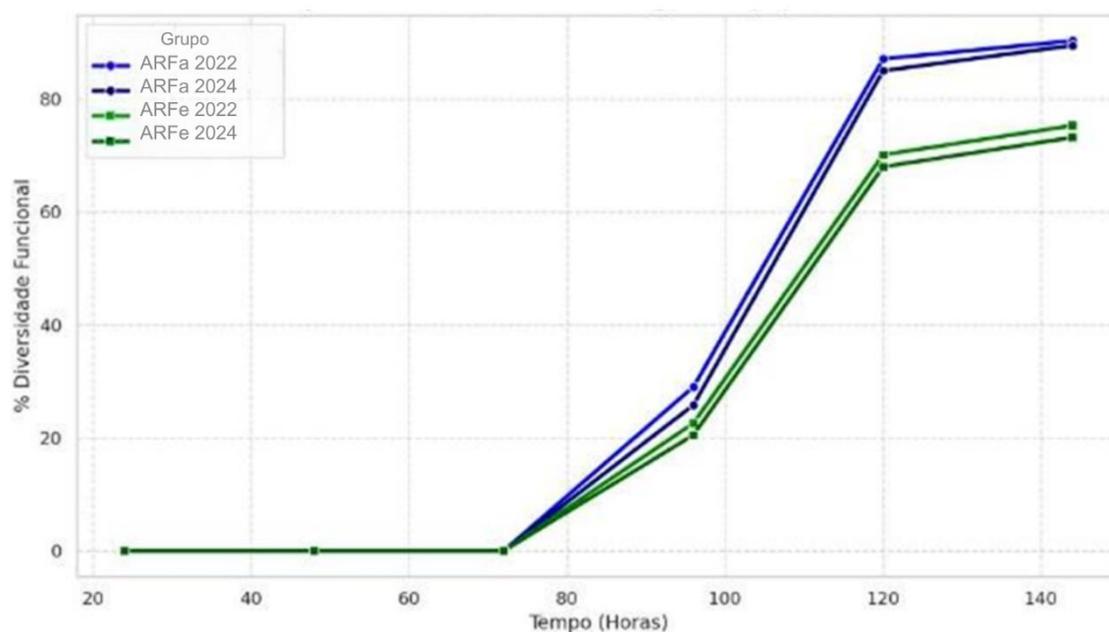


Figura 15 Evolução da diversidade funcional ao longo do tempo da comunidade microbiana das águas residuárias dos processos de obtenção da farinha (ARFa) e da fécula (ARFe) nos anos de 2022 e 2024.

Esses resultados (Figura 15) evidenciaram um aumento progressivo da atividade metabólica, revelando fases distintas de consumo das fontes de carbono: a fase de latência (0-72 horas), caracterizada pela ausência de aumento significativo na diversidade funcional, indicando um período inicial de adaptação dos microrganismos às condições ambientais; fase de crescimento metabólico acelerado (96-120 horas), marcada por um aumento expressivo

da diversidade funcional; e, por fim, uma fase de estabilização (>120 horas), na qual os valores de diversidade atingem um valor máximo e permanecem estáveis.

A partir de 96 horas, todas as amostras apresentaram incremento significativo na diversidade funcional, com as amostras provenientes do processo de obtenção da farinha (ARFa 2022 e ARFa 2024) alcançando aproximadamente 90% de diversidade, superiores às amostras do processo de obtenção da fécula (ARFe 2022 e ARFe 2024), que atingiram valores próximos a 80%. Essas diferenças sugerem variações na composição química dos efluentes ou na diversidade entre as duas regiões avaliadas.

Esses resultados corroboram estudos anteriores, como o de Souza *et al.* (2020), que utilizaram o Biolog EcoPlate para analisar a dinâmica funcional de comunidades microbianas em águas residuárias agroindustriais provenientes do processamento de frutas. Os autores observaram que ambientes com maior diversidade de fontes de carbono apresentam maior diversidade metabólica e maior capacidade adaptativa dos microrganismos, ressaltando a importância da diversidade funcional como um indicativo robusto da atividade metabólica e do potencial biotecnológico dos efluentes. No mesmo estudo, ao avaliarem águas residuárias do processamento de mandioca, os autores destacam que essa capacidade funcional está diretamente relacionada ao potencial desses resíduos para aplicações em processos biotecnológicos sustentáveis. O maior nível de diversidade funcional identificado nas amostras de ARFa sugere um potencial significativo desses efluentes para diversas aplicações biotecnológicas, incluindo processos de biorremediação e a produção de bioinsumos, como biofertilizantes, biopesticidas e bioestimulantes. Por sua vez, o perfil metabólico específico observado nas amostras de ARFe, caracterizado por maior atividade fermentativa e quitinolítica, indica outras possibilidades de aproveitamento, como a produção de enzimas específicas e a valorização dos resíduos por meio da fermentação anaeróbia, contribuindo para uma gestão mais eficiente e sustentável desses efluentes (Andrade *et al.*, 2020; Stoyancheva *et al.*, 2023). Esses achados reforçam a hipótese de que a diversidade funcional pode atuar como um indicador confiável da atividade metabólica das comunidades microbianas presentes nas águas residuárias da agroindústria da mandioca.

A análise de correlação (Figura 16) entre o número de substratos utilizados e a diversidade funcional das comunidades microbianas presentes nas AR revelou uma forte correlação linear positiva. Os pontos experimentais (em azul) ajustaram-se perfeitamente à linha de tendência linear (tracejada em vermelho), com coeficiente de correlação próximo ao ideal ($r \approx 1$). Esse resultado indica que a diversidade funcional aumenta proporcionalmente ao número de substratos utilizados, reforçando a hipótese de que ambientes com maior diversidade e disponibilidade de carbono favorecem uma ampliação significativa da diversidade metabólica microbiana.

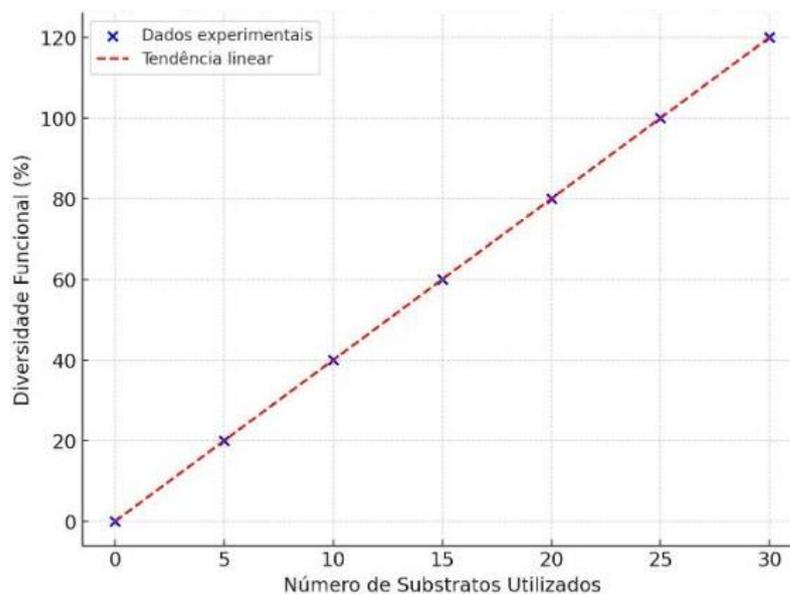


Figura 16 Correlação linear entre o número de substratos utilizados e a diversidade funcional das comunidades microbianas presentes em águas residuárias da agroindústria da mandioca, obtida por meio do sistema Biolog EcoPlate.

Esse padrão indica que as comunidades microbianas presentes nas águas residuárias dos diferentes processos da mandioca demonstram uma elevada capacidade adaptativa e metabólica para explorar novas fontes de carbono. Essa característica tem implicações importantes para aplicações biotecnológicas, como a produção de bioinsumos, por meio da conversão de resíduos orgânicos em compostos de valor agregado, e processos de biorremediação, que se beneficiam de uma ampla gama de atividades metabólicas para a degradação eficiente de contaminantes. Esse comportamento fortalece as observações anteriores, evidenciando que a diversidade funcional pode ser um robusto indicador da riqueza metabólica e do potencial tecnológico dos efluentes agroindustriais analisados.

A Análise de Componentes Principais (PCA), aplicada aos perfis metabólicos das comunidades microbianas presentes nas águas residuárias da agroindústria da mandioca (Figura 17), revelou que o primeiro componente principal (PC1) explicou a maior parte da variação observada nos dados (97,61%), enquanto o segundo componente (PC2) teve contribuição reduzida (2,21%). A amostra ARFe 2024 destacou-se nitidamente no eixo positivo da PC1, diferenciando-se de forma significativa das demais amostras. Essa clara distinção reforça resultados anteriores que apontaram maior atividade fermentativa e quitinolítica nesta amostra, possivelmente decorrente da disponibilidade diferenciada de substratos específicos, como quitina e compostos fermentáveis presentes no efluente do processamento de fécula em 2024.

Por outro lado, as amostras ARFa 2024 e ARFe 2022 apresentaram agrupamento próximo, sugerindo similaridade em seus perfis metabólicos. Já a amostra ARFa 2022 mostrou-se moderadamente afastada dessas duas, principalmente devido ao segundo componente principal (PC2), indicando que há diferenças metabólicas adicionais que não

foram plenamente capturadas pela PC1. Ainda assim, é importante salientar que a relativa proximidade entre ARFa 2024 e ARFe 2022 não implica necessariamente uma menor heterogeneidade na composição química dos efluentes ou na diversidade dos substratos disponíveis. Variáveis adicionais, não contempladas pela análise, podem contribuir para diferenças mais sutis, não claramente reveladas pela PCA.

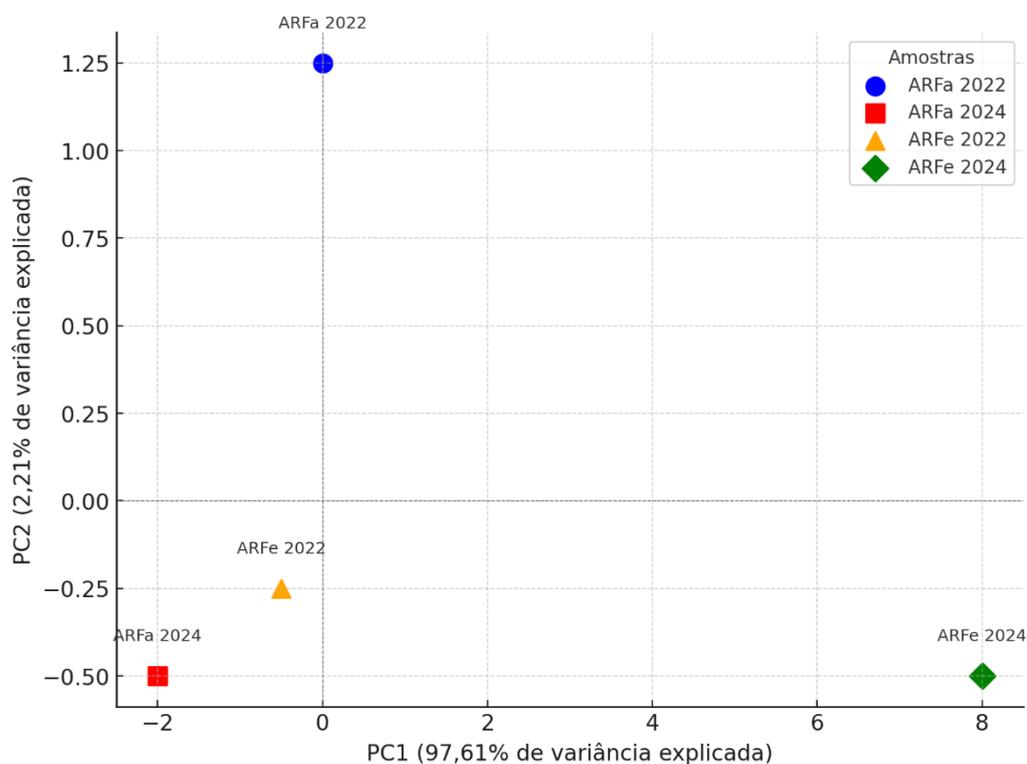


Figura 17 Análise de Componentes Principais (PCA) dos perfis metabólicos das comunidades microbianas em águas residuárias da agroindústria da mandioca (farinha e fécula), 2022 e 2024.

Contudo, análises estatísticas complementares, incluindo o teste de Mann-Whitney ($p = 0,141$) e a análise de distância euclidiana, não revelaram diferenças estatisticamente significativas nos perfis metabólicos entre as amostras. Ainda assim, essas análises destacaram diferenças pontuais relacionadas a fatores químicos específicos dos efluentes, tais como a composição orgânica, disponibilidade de fontes de carbono solúveis e complexas, pH, nutrientes minerais e níveis de oxigênio dissolvido. Esses fatores são determinantes para a seleção das comunidades microbianas e de suas funções metabólicas específicas, conforme apontado em estudos anteriores (Yang et al., 2018; Souza et al., 2020).

Adicionalmente, a aplicação de métodos estatísticos avançados (PCA, PERMANOVA e análise de correlação) corroborou a hipótese de estabilidade funcional das comunidades microbianas estudadas. Esses métodos confirmaram que as diferenças regionais e temporais são mínimas e que os perfis funcionais apresentam uma consistência significativa. Tais achados sugerem a viabilidade da adoção de estratégias padronizadas para

tratamento desses efluentes, essenciais para reduzir custos operacionais e facilitar a implementação de tecnologias de revalorização dos resíduos. A importância dessa estabilidade funcional microbiana na eficácia dos processos de biorremediação já foi destacada em estudos anteriores (Santos *et al.*, 2021).

As diferenças observadas possuem implicações biotecnológicas importantes. A elevada atividade fermentativa detectada especialmente na amostra ARFe 2024, sugere seu potencial para aplicações em processos de fermentação aeróbica e anaeróbia, incluindo a produção de bioinsumos, enzimas hidrolíticas, biogás (Andrade *et al.*, 2020). Por outro lado, a diversidade funcional, relativamente maior das amostras de ARFa, sinaliza um potencial mais amplo para processos biotecnológicos diversos, especialmente relacionados à biorremediação e à produção de biofertilizantes, devido à presença consistente de gêneros benéficos, como *Bacillus*, reconhecido por promover a solubilização de nutrientes e estimular o crescimento de plantas (Quintero-Díaz e Gil-Posada, 2024; Stoyancheva *et al.*, 2023).

A estabilidade funcional, demonstrada ao longo dos anos avaliados, reforça ainda mais o potencial das AR para aplicações padronizadas em processos biotecnológicos. Essa estabilidade indica que, independentemente das pequenas variações temporais ou geográficas, os perfis metabólicos das comunidades microbianas tendem a ser robustos e consistentes, permitindo a implementação de tecnologias eficientes para tratamento e valorização desses resíduos. Estudos prévios enfatizam que comunidades microbianas estáveis e com perfis funcionais bem estabelecidos são mais eficazes na remoção e degradação de poluentes orgânicos e nutrientes em excesso, fortalecendo o potencial dessas comunidades em estratégias sustentáveis de biorremediação (Santos *et al.*, 2021; Tong *et al.*, 2023).

A análise de coordenadas principais (PCoA), utilizando a métrica Bray-Curtis (Figura 18), evidenciou claramente o agrupamento das amostras coletadas em ARFa (2022 e 2024), demonstrando significativa similaridade nos perfis microbianos desses efluentes ao longo do período analisado. Embora as amostras de ARFe (2022 e 2024) tenham apresentado uma dispersão maior no gráfico, indicando uma variação temporal na composição microbiana desses efluentes, a proximidade relativa das amostras da água residuária da farinha reforça a hipótese de que os fatores determinantes para a estrutura das comunidades microbianas estão predominantemente relacionados às características químicas específicas dos resíduos, tais como disponibilidade de substratos orgânicos e nutrientes, mais do que à localização geográfica propriamente dita (Yang *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2021; Tong *et al.*, 2023).

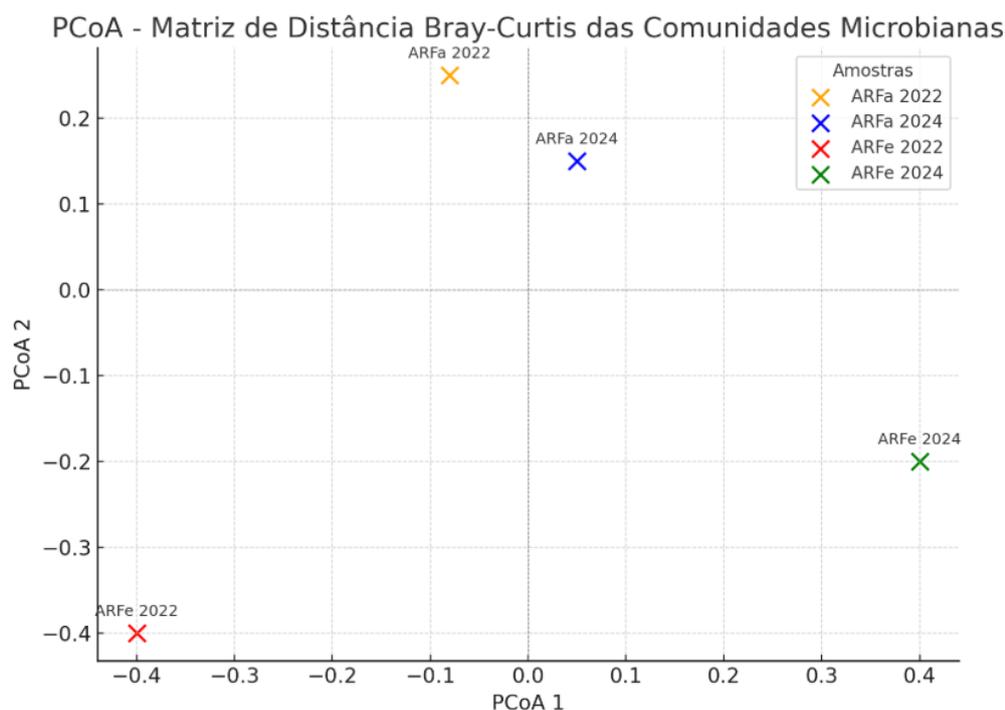


Figura 18 Análise de Coordenadas (Bray-Curtis) e Agrupamento das comunidades microbianas em águas residuárias da agroindústria da mandioca farinha (ARFa) e fécula (ARFe), 2022 e 2024.

Os resultados obtidos neste estudo indicaram relativa estabilidade dos perfis taxonômicos e funcionais das comunidades microbianas presentes nas ARFa e ARFe ao longo dos anos de 2022 e 2024. Além disso, a forte correlação observada entre a diversidade funcional e o número de substratos utilizados reforça que ambientes com maior diversidade e disponibilidade de substratos promovem uma ampliação significativa do potencial metabólico dessas comunidades. Esse achado corrobora os resultados de Souza *et al.* (2020), que demonstraram comportamento similar em efluentes agroindustriais comparáveis.

CONCLUSÃO

As comunidades microbianas das águas residuárias da agroindústria da mandioca exibiram estabilidade e elevada adaptabilidade, caracterizando consórcios especializados com potencial para aplicações biotecnológicas. A robusta correlação entre diversidade funcional e disponibilidade de substratos reforça a viabilidade desses consórcios para estratégias de biorremediação, produção de biofertilizantes e conversão de resíduos agroindustriais em produtos de valor agregado. Assim, a valorização biotecnológica desses efluentes emerge como uma abordagem promissora para a implementação de práticas sustentáveis e a promoção da economia circular no setor agroindustrial.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, L. R. S. *et al.* Integrated biorefinery and life cycle assessment of cassava processing residue – from production to sustainable evaluation. **Plants**, [s.l.], v.11, n.24, p.3577, 2022.
- ANDRADE, L. R. S. *et al.* Oyster shell-based alkalization and photocatalytic removal of cyanide as low-cost stabilization approaches for enhanced biogas production from cassava starch wastewater. **Process Safety and Environmental Protection**, [s.l.], v.139, p.47-59, 2020.
- BOLYEN, E. *et al.* Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nature Biotechnology**, [s.l.], v. 37, n. 8, p. 852-857, 2018.
- DELFORNO, T. P. **Microbiologia de águas residuárias industriais**. São Paulo: Editora Blucher, 2019.
- de PAULA, R. G. *et al.* Seleção de hospedeiros microbianos projetados para bioprodutos de valor agregado a partir de lignocelulose. **Biotechnol Adv.**, [s.l.], v. 37, n. 06, p. 107347, nov. 2019.
- DE QUINTERO-DÍAZ, M.; GIL-POSADA, C. Homogeneity in the Composition of Cassava Processing Wastewater from Agroindustries in Colombia. **Journal of Cleaner Production**, [s.l.], v. 315, p. 128142, 2024.
- GUO, W. *Et al.* Electrochemical nitrogen fixation and utilization: theories, advanced catalyst materials and system design. **Chem Soc Rev.**, [s.l.], v. 48, n. 24, p. 5658-5716, dez. 2019.
- IBEKWE, A. M.; KENNEDY, A. C. Fatty acid methyl ester (FAME) profiles as a tool to investigate community structure of poultry processing wastewater. **Journal of Applied Microbiology**, [s.l.], v.109, n.3, p.906-917, 2010.
- KAGEYAMA, K., KOMATSU, T., e SUGA, H. Refined PCR protocol for detection of plant pathogens in soil. *J. Gen.* **Plant Pathology**, [s.l.], 69, p. 153-160, 2003.
- KLINDWORTH, A. *et al.* Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. **Nucleic Acids Research**, [s.l.], v. 41, n. 1, p. e1, 2013.
- LI, Q.; ZHAO, J.; WANG, L.; HU, S. Microbial Degradation of Organic Compounds in Juice and Beverage Processing Wastewater. **Journal of Cleaner Production**, [s.l.], v. 274, p. 123456, 2023.
- McCALLUM E.J. *et al.* Combatendo doenças relevantes para a agricultura na mandioca (*Manihot esculenta*). **Curr Opin Plant Biol.**, [s.l.], v. 38, p. 50-58, ago. 2017.
- MIAO, L. *et al.* Microbial carbon metabolic functions of biofilms on plastic debris influenced by the substrate types and environmental factors. **Environ Int.**, [s.l.], p. 143-106007, out. 2020.
- NÉMETH, B.; VARGA, Z.; FARKAS, A.; KOVÁCS, G. Metabolic versatility of *Bacillus* and *Pseudomonas* strains in the biodegradation of complex organic compounds from industrial effluents. **Journal of Environmental Management**, [s.l.], v. 263, p. 110389, 2020.

PESSOA FILHO, A. **Metagenômica: conceitos e aplicações na agroindústria**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2010.

QUINTERO-DÍAZ, J. C.; GIL-POSADA, J. O. Batch and semi-continuous treatment of cassava wastewater using microbial fuel cells and metataxonomic analysis. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [s.l.], v.47, n.7, p.1057-1070, 2024.

SANTOS, F. *et al.* Microbial community stability and functional predictability in bioremediation processes. **Biotechnology Advances**, [s.l.], v.39, art.107675, 2021.

SILVA, P. R. *et al.* Técnicas moleculares aplicadas ao estudo de comunidades microbianas em resíduos agroindustriais. **Revista Brasileira de Microbiologia**, [s.l.], v.54, n.2, p.235-248, 2023.

SOUZA, R. C. *et al.* Functional dynamics of microbial communities in agroindustrial wastewater treatment assessed by Biolog EcoPlate™. **Environmental Technology & Innovation**, [s.l.], v.20, p.101136, 2020.

STOYANCHEVA, G. *et al.* Metagenomic analysis of bacterial, archaeal and fungal diversity in two-stage anaerobic biodegradation for production of hydrogen and methane from corn steep liquor. **Microorganisms**, [s.l.], v.11, n.5, p.1263, 2023.

TOMOTO, A. L. da S. **Compostos antimicrobianos de resíduo agroindustrial: Produção em reator AnSBR e nanoencapsulação**. Orientadora: Simone Damasceno Gomes. 2024. 175 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2024.

VILVERT, R. M. **Obtenção de bacteriocina de bactérias lácticas em água residuária de indústria de fécula de mandioca**. Orientadora: Simone Damasceno Gomes. 2019. 93f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2019.

TONG, T. *et al.* Microbial community structure and functional prediction in five full-scale industrial park wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, [s.l.], v.904, p.166529, 2023.

YANG, Y. *et al.* Activated sludge microbial community and treatment performance of wastewater treatment plants in industrial and municipal zones. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s.l.], v.17, n.2, p.436, 2020.

ZHU, L.; LI, Y.; WU, H.; ZHANG, Y. Seasonal Variations of Microbial Functional Diversity in Urban-Impacted River Sediments Using Biolog EcoPlate. **Science of the Total Environment**, [s.l.], v. 634, p. 202-210, 2018.

ZHOU, X.; LI, Y.; CHEN, Z.; WANG, L. Microbial Diversity and Metabolic Pathways in Wastewater Treatment from Chemical and Cosmetic Industries. **Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 56, n. 4, p. 2101-2110, 2022.

ARTIGO 3 – AVALIAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE AGROINDÚSTRIA PROCESSADORA DE MANDIOCA COMO SUBSTRATO SUSTENTÁVEL PARA A PRODUÇÃO DE FITO-HORMÔNIO ÁCIDO INDOL-3-ACÉTICO POR *Priestia aryabhatai*

RESUMO

Este estudo avaliou o potencial biotecnológico da água residuária do processamento da mandioca, caracterizada por alta carga orgânica e elevada concentração de açúcares, como substrato para fermentação microbiana visando à produção de ácido indol-3-acético (AIA), fito-hormônio essencial para o desenvolvimento vegetal. Amostras de águas residuárias foram coletadas em duas agroindústrias processadoras de mandioca: uma produtora de fécula (ARFe) e outra de farinha (ARFa), representando diferentes subprodutos da cadeia produtiva. Os experimentos foram conduzidos sob condições controladas de fermentação, utilizando duas formulações de suplementação nutricional: S1, composta por glicerol, nitrato de amônio e extrato de levedura, e S2, contendo caseína, ureia, sacarose e fosfato de potássio. As culturas foram monitoradas durante 36 horas, com evidência de crescimento exponencial em todas as condições testadas. Embora a ARFa tenha promovido um início de crescimento mais acelerado, o rápido esgotamento dos nutrientes resultou em um declínio abrupto da viabilidade celular; por outro lado, a ARFe proporcionou um crescimento mais estável e prolongado. Entre as suplementações, S2 demonstrou superior viabilidade celular em comparação a S1. Notavelmente, a produção de AIA foi significativamente maior nos cultivos realizados com água residuária, especialmente na ARFa, em relação ao meio tradicional, independentemente da suplementação empregada. Esses resultados evidenciam a viabilidade do uso da água residuária como substrato sustentável em processos fermentativos, o que contribui para a valorização de resíduos agroindustriais e promove a economia circular na agricultura.

Palavras-Chave: Economia circular. Sustentabilidade. Biotecnologia. Aproveitamento de resíduo.

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta*) é uma cultura fundamental para o Brasil e diversos países em desenvolvimento, sendo uma das principais fontes de carboidratos para milhões de pessoas. Sua resistência a solos pobres e condições climáticas adversas torna-a essencial para a segurança alimentar, especialmente em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia e América Latina (FAO, 2023). No Brasil, a mandioca desempenha um papel fundamental na agricultura familiar, com produção destacada em estados como Pará, Bahia e Paraná (CONAB, 2023).

A produção global de mandioca gera milhões de toneladas de água residuária por ano, especialmente em países em desenvolvimento, onde o descarte inadequado desse resíduo representa uma ameaça ambiental significativa. Apesar de a mandioca ter grande relevância econômica, seu processamento industrial resulta em elevados volumes de água residuária, subproduto rico em compostos orgânicos que, quando descartado

inadequadamente, pode causar impactos ambientais significativos (Watthier *et al.*, 2019; Rojo *et al.*, 2024).

No entanto, essa água residuária apresenta potencial biotecnológico para a produção de biofertilizantes e outros bioprodutos agrícolas (Santos *et al.*, 2018; Almeida *et al.*, 2017). Sua composição química inclui nutrientes essenciais, como açúcares fermentescíveis, nitrogênio e minerais, que podem ser aproveitados em processos biotecnológicos (Wagh *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2023).

Fatores, como a variedade da mandioca, as condições do solo e os métodos de processamento, podem afetar a concentração desses compostos, influenciando diretamente a eficiência da produção de metabólitos bioativos, a exemplo do ácido indol-3-acético (AIA). Além disso, diferenças regionais na composição da água residuária, a saber, variações nos níveis de açúcares, minerais e pH, podem impactar a eficiência fermentativa, tornando necessária a adaptação dos processos biotecnológicos para otimizar sua utilização (Shahid *et al.*, 2022).

Adicionalmente, a presença de metais pesados, como cádmio e chumbo, em resíduos agroindustriais, representa uma preocupação ambiental, destacando-se a necessidade de estratégias sustentáveis para sua remoção ou imobilização (Shahid *et al.*, 2022). Nesse contexto, a escolha de microrganismos, como *Priestia aryabhatai* (anteriormente conhecida como *Bacillus aryabhatai*), emergem como ferramentas promissoras para a bioconversão de resíduos, devido à sua capacidade de fixar nitrogênio e produzir fito-hormônios, a exemplo do AIA, que desempenham um papel crucial no crescimento vegetal e na fertilidade do solo (Gupta *et al.*, 2020; Wagh *et al.*, 2021).

Além da produção de AIA, diversas cepas de *Priestia aryabhatai*, por exemplo, a cepa KEX505, apresentam potencial para a biorremediação de metais pesados e para a biofertilização, consolidando sua posição como uma alternativa sustentável na gestão de resíduos agroindustriais. Embora a capacidade de produzir AIA seja uma característica comum na espécie, os níveis de atividade podem variar entre os isolados, com cepas provenientes de ambientes desafiadores – como a BPR-9 – frequentemente demonstrando maior tolerância a metais pesados e eficiência na degradação de compostos tóxicos. Em comparação com microrganismos amplamente utilizados na bioconversão de resíduos, como *Bacillus subtilis* – reconhecido por sua robustez, formação de esporos e ação promotora do crescimento vegetal (Hashem, Tabassum e Abd Allah, 2019) – e *Pseudomonas fluorescens*, que se destaca pela versatilidade metabólica e eficácia na biodegradação de compostos tóxicos (Wasi, Jeelani e Ahmad, 2008), *Priestia aryabhatai* diferencia-se ao combinar traços funcionais de ambas as abordagens. Essa multifuncionalidade, que engloba desde a promoção do crescimento vegetal - por meio da solubilização de nutrientes e produção de sideróforos - até a alta tolerância a ambientes extremos, amplia

significativamente suas aplicações na biotecnologia agrícola, além de reforçar seu potencial como solução inovadora e sustentável na gestão de resíduos agroindustriais.

O AIA é uma auxina vegetal fundamental para o desenvolvimento das plantas, que auxilia o alongamento celular, formação de raízes e adaptação (Duca *et al.*, 2014). A produção de AIA por microrganismos rizosféricos, como *P. aryabhatai*, tem sido amplamente estudada; entretanto, o uso de resíduos agroindustriais, a exemplo do substrato para essa biossíntese, permanece pouco explorado. Estudos sugerem que a água residuária de mandioca pode servir como meio de cultivo para a produção de metabólitos bioativos, a exemplo do AIA, contribuindo para a redução de custos e a promoção da sustentabilidade (Maróstica e Pastore, 2006; Oliveira *et al.*, 2019). Entretanto, a variabilidade na composição química da água residuária, dependendo da região de origem, pode afetar significativamente a eficiência do processo fermentativo, o que representa uma lacuna na literatura científica.

Além disso, embora a produção de AIA por *P. aryabhatai* tenha sido relatada, os mecanismos metabólicos envolvidos, especialmente em relação à dependência ou independência do L-triptofano como precursor, ainda não são totalmente compreendidos. A elucidação dessas vias metabólicas poderia fornecer subsídios essenciais para a otimização da biossíntese da produção de AIA em diferentes substratos. Outro aspecto relevante é a capacidade de *P. aryabhatai* BPR-9 de interagir com metais pesados presentes na água residuária, como cádmio e chumbo, reduzindo sua biodisponibilidade no ambiente (García-Fraile *et al.*, 2023). No entanto, os mecanismos genéticos e metabólicos envolvidos nesse processo ainda necessitam de maior investigação.

Diante desse contexto, este estudo teve como objetivo explorar o potencial da água residuária como substrato para a biossíntese de AIA por *P. aryabhatai* (CCMMIAB-UNIO 423), avaliando a influência da composição química do resíduo e da suplementação de nutrientes no crescimento microbiano e na produção do fito-hormônio. Além disso, buscou-se investigar a capacidade de *P. aryabhatai* de modular a disponibilidade de nutrientes e a adsorção de metais pesados na água residuária, visando promover práticas agrícolas sustentáveis e aprimorar a gestão eficiente de resíduos agroindustriais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e armazenamento

Foram coletadas amostras de água residuária de duas indústrias de processamento de mandioca, uma agroindústria de farinha (ARFa) e outra de fécula (ARFe). A coleta foi realizada em uma única ocasião, no final de cada processo, sendo as amostras homogeneizadas, acondicionadas em garrafa pet e refrigeradas em caixa térmica para

transporte até o Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LAMIBI) na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) e armazenadas em freezer -4°C até sua utilização.

2.2 Caracterização físico-química da água residuária

A caracterização físico-química da água residuária do processamento de mandioca foi realizada por meio de parâmetros pré-estabelecidos (Tabela 3). Os métodos utilizados para a realização das análises são descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Eaton, Clesceri e Greenberg, 2005), com exceção dos açúcares totais, que foram determinados por Dubois *et al.* (1956).

Tabela 3 Composição físico-química das águas residuárias das indústrias processadoras de mandioca

Parâmetro	ARFa (g L ⁻¹)	ARFe (g L ⁻¹)
pH	3,92	4,02
DQO bruta	16,831	7,741
Carbono orgânico total	4,720	4,115
Nitrogênio amoniacal	0,102	0,014
Nitrogênio total	0,896	0,246
Açúcares totais	14,78	5,000
Ácido láctico	0,230	3,830
Ácido acético	0,047	1,053
Sólidos totais	58,500	6,817

ARFa= Água residuária de farinheira; ARFe= Água residuária de fecularia; DQO= Demanda Química de Oxigênio.

2.3 Quantificação de metais

Os teores totais dos metais cádmio (Cd), chumbo (Pb), ferro (Fe), magnésio (Mg), potássio (K), cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn) foram quantificados por meio de digestão nitroperclórica, conforme o protocolo estabelecido pela *Association of Official Analytical Collaboration* (AOAC, 2023). As análises foram conduzidas seguindo os procedimentos descritos na 22ª edição do *Official Methods of Analysis* da AOAC, garantindo a exatidão e a confiabilidade dos resultados obtidos.

2.4 Microrganismo e preparação do inóculo

O microrganismo utilizado foi a bactéria *Priestia aryabattai* que está depositada na Coleção de Cultura de Microrganismos Multifuncionais de Interesse Ambiental e Biotecnológico (CCMMIAB) do LAMIBI com o código (CCMMIAB-UNIO 423). O cultivo de *P. aryabattai* foi realizado em frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 100 mL de Caldo Nutriente (CN). Os frascos foram mantidos em agitador rotativo tipo shaker a 150 rpm na

temperatura de 30 °C durante 24 horas. Após o período de incubação, a densidade óptica (D.O.) da cultura foi ajustada para 0,5 a 600 nm, para garantir uniformidade no inóculo para os experimentos subsequentes.

2.5 Otimização do uso de água residuária de indústria de processadora de mandioca para a produção de *P. aryabattai* e Ácido Indolacético (AIA)

A água residuária coletada nos estados de São Paulo e Paraná foi descongelada em temperatura ambiente e submetida à esterilização por calor úmido a 121 °C por 30 minutos para assegurar a eliminação de contaminantes e neutralização de compostos. Sua utilização no processo de fermentação submersa foi avaliada sob duas condições para cada local de coleta: água residuária sem suplementação (SS) e água residuária com suplementação (S1 e S2), conforme a Tabela 4. Após a adição dos suplementos, o pH foi ajustado para 7,0, e submetido à esterilização por calor úmido a 121 °C por 15 minutos.

Tabela 4 Nutrientes usados na suplementação das águas residuárias das indústrias de farinha de mandioca (ARFa) e de fécula de mandioca (ARFe)

Nutrientes (g.L ⁻¹)	Suplementação 1 (S1)	Suplementação 2 (S2)	Caldo Nutriente (controle)
Glicerol	2,0	-	-
Nitrato de Amônio	1,0	-	-
Extrato de Levedura	1,0	-	-
Caseína	-	1,5	-
Ureia	-	0,5	-
Sacarose	-	1,0	-
Fosfato de Potássio	0,5	0,5	-
Triptofano	0,1	0,1	-
Peptona	-	-	5,0
Extrato de Carne	-	-	3,0
Cloreto de Sódio	-	-	5,0

2.6 Fermentação submersa

A fermentação submersa foi realizada em frascos Erlenmeyer de 250 mL com volume de trabalho de 170 mL, com a adição de 1% do inóculo bacteriano preparado, conforme item 2.1. Cada experimento foi realizado em duplicata, sendo os frascos incubados em agitador rotativo por 48 horas, a 150 rpm, 30 °C. Amostras foram coletadas em intervalos de tempo específicos para análises subsequentes, incluindo a avaliação da curva de crescimento microbiano, contagem de células viáveis e produção de AIA.

2.7 Curva de crescimento bacteriano em substratos de água residuária de mandioca com e sem suplementação

Para a curva de crescimento cada frasco Erlenmeyer foi preparado conforme item 2.6. Em seguida, foi colocado em agitador rotativo a 150 rpm e 30 °C. Em intervalos de hora em hora (T0 a T12), e nos tempos T24, T36 e T48 horas de incubação, foram retiradas alíquotas de 1 mL para leitura da DO em espectrofotômetro a 600 nm para acompanhamento da curva de crescimento do microrganismo. Como controle negativo, foram utilizados apenas os substratos sem a adição do microrganismo para calibração do equipamento. Os valores de DO de cada coleta foram utilizados para construção de uma curva de crescimento em função do tempo de incubação. As fases de crescimento (lag, log, estacionária e declínio) foram determinadas a partir da análise da curva.

2.8 Contagem de células viáveis – Unidades Formadoras de Colônias (UFC mL⁻¹)

Para determinação do número de células viáveis (UFC mL⁻¹), foi retirada uma alíquota de 1 mL de cada Erlenmeyer nos tempos T0, T6, T12, T24, T36 e T48 horas. Cada alíquota foi ressuspensa em 9 mL de solução salina 0,85% para realização de diluições seriadas de 10⁻¹ a 10⁻⁷, sendo, posteriormente, retirados 100 µL das diluições 10⁻⁵, 10⁻⁶ e 10⁻⁷ para a semeadura em Ágar Nutriente, utilizando a técnica de *spread-plate*. O plaqueamento foi realizado em duplicata e as placas foram incubadas a 30 °C por 24 horas.

Após o período de incubação, foi selecionada a diluição que continha entre 30 e 300 colônias para contagem. O número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) foi registrado e a concentração de células viáveis foi calculada utilizando a fórmula:

$$\text{UFC.mL}^{-1} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ de colônias} \times \text{fator de diluição}}{\text{volume inoculado (em mL)}}$$

2.8 Produção de Ácido Idol-3-Acético (AIA)

Para a avaliação da produção do ácido indol-3-acético (AIA), foi utilizado o método colorimétrico da metodologia de Gordon e Weber (1951) e Silva *et al.* (2023) com modificações. Uma alíquota de 500 µL foi retirada dos Erlenmeyer em períodos de hora em hora (T0 a T12) e nos tempos T24, T36, T48, transferido para eppendorf estéreis e centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos para obtenção do sobrenadante. Posteriormente, foram transferidos 100 µL do sobrenadante com 100 µL do reagente de Salkowski (50 mL de ácido perclórico a 35% e 1 mL de FeCl₃ a 0,5 M), em uma microplaca de 96 poços, incubado no escuro por 30 minutos, para realizar a leitura em espectrofotômetro com DO a 540 nm. O ensaio foi realizado em triplicata.

A concentração de AIA foi determinada pela leitura comparando com os valores da curva padrão de AIA comercial (0, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 uM), com a equação da curva linear $y = 0,0002x + 0,0437$ (R^2 0,9961) na quantificação de auxinas produzidas *P. aryabattai* crescido nos diferentes substratos.

Os dados foram submetidos à análise estatística Anova e as médias foram comparadas ao teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do programa *Sisvar* Ltda. (Ferreira, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Cinética de crescimento microbiano

Nos experimentos de fermentação submersa, foram utilizados Caldo Nutriente (CN) como controle e água residuária de dois processos distintos, fecularia (ARFe) e farinha (ARFa), avaliadas sob três condições: sem suplementação (SS), com Suplementação 1 (S1) e com Suplementação 2 (S2). O crescimento de *Priestia aryabhatai* (CCMMIAB-UNIO 423) variou conforme o substrato e a suplementação, refletindo diferenças na composição química e na disponibilidade de nutrientes.

A escolha dos suplementos foi estrategicamente alinhada e fundamentada na composição físico-química inicial da água residuária, visando otimizar a relação carbono/nitrogênio (C/N) para valores próximos ao ideal de 3/1, amplamente reconhecido como adequado em processos fermentativos industriais (Pereira e Neto, 2007; García *et al.*, 2020; Sharma *et al.*, 2021). A escolha das fontes suplementares considerou tanto a rápida assimilação metabólica quanto a liberação gradual de nutriente, garantindo um fornecimento balanceado de energia e percussores essenciais para o crescimento de *P. aryabhatai* e a produção de ácido indol-3-acético (AIA). Esse equilíbrio foi alcançado por meio da combinação de fontes de carbono prontamente disponíveis, como glicerol e sacarose, e fontes de nitrogênio orgânico e inorgânico, como nitrato de amônio, ureia e caseína, otimizando o ambiente fermentativo para atender às demandas metabólicas iniciais e sustentadas do microrganismo (Hungria *et al.*, 2010; Wagh *et al.*, 2021).

Os efeitos dessas diferentes suplementações sobre o crescimento microbiano variaram conforme a origem da água residuária utilizada. Na água residuária de farinha de mandioca (ARFa), observou-se um crescimento acelerado nas primeiras 24 horas, enquanto, na água residuária de fécula de mandioca (ARFe), o crescimento foi mais estável ao longo do tempo, sugerindo que a composição química inicial do substrato impacta diretamente a cinética de crescimento.

Na Figura 19, é apresentada a cinética de crescimento do *P. aryabhatai* na água residuária de fecularia, ao longo de 48 horas, o que evidencia a influência dos diferentes tratamentos na viabilidade celular durante o período fermentativo.

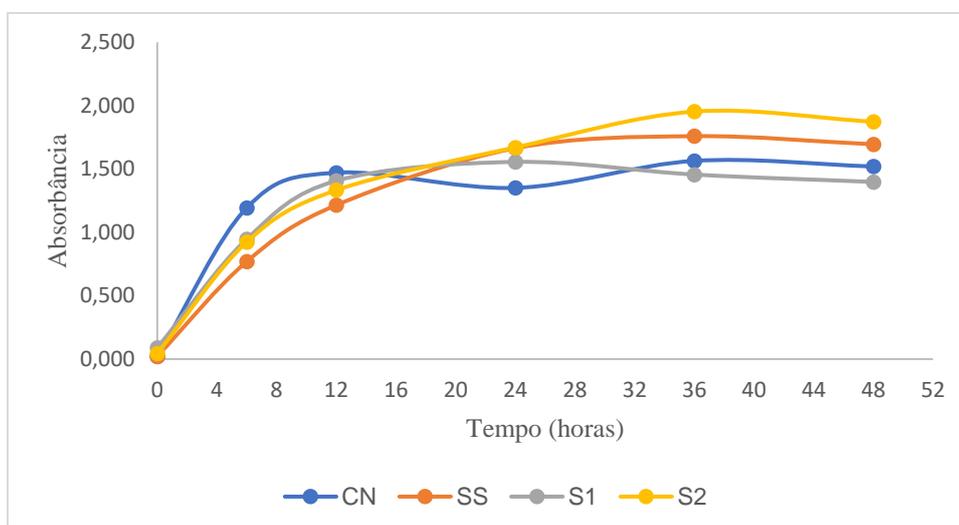


Figura 19 Curva de crescimento de *Priestia aryabhatai* utilizando como substrato a água residuária coletada da fecularia (ARFe)
CN= Caldo Nutriente; SS= Sem Suplementação; S1= Suplementação 1; S2= Suplementação 2.

Tabela 5 Células viáveis (UFC mL⁻¹) de *Priestia aryabhatai* utilizando como substrato a água residuária de fecularia

Tempo (horas)	Caldo Nutriente	Sem Suplementação	Suplementação 1	Suplementação 2	Tempo (horas)
0	$8,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$8,0 \times 10^5$	0
12	$2,6 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$2,5 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	12
24	$1,7 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$	$3,6 \times 10^7$	$5,3 \times 10^8$	24
36	$8,5 \times 10^7$	$1,6 \times 10^8$	$4,3 \times 10^7$	$1,0 \times 10^8$	36
48	$1,2 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$3,4 \times 10^7$	$1,6 \times 10^8$	48

A água residuária de fecularia (ARFe) apresentou crescimento exponencial de *P. aryabhatai* até 24 horas em todas as condições avaliadas, com diferenças significativas pelo teste de Tukey, conforme o tipo de suplementação utilizada.

A ARFe sem suplementação (SS) apresentou crescimento exponencial até 24 horas de fermentação, atingindo uma viabilidade celular $3,8 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ (Tabela 5), seguido por uma fase estacionária sustentada até 36 horas com um leve declínio ao final das 48 horas. Esse padrão de crescimento pode ser atribuído à composição da ARFe, que apresenta uma DQO moderada ($7,74 \text{ g L}^{-1}$) e concentrações elevadas de açúcares totais ($5,0 \text{ g L}^{-1}$), sustentando o crescimento inicial sem necessidade de suplementação adicional. A composição rica em açúcares da ARFe fornece uma fonte de carbono facilmente assimilável para *P. aryabhatai* (PB1), promovendo crescimento inicial robusto. Estudos recentes indicam que *P. aryabhatai* possui genes que facilitam a metabolização de açúcares simples, o que explica o crescimento observado sem suplementação adicional (Nsa e Omolere, 2023).

No substrato S1, o crescimento máximo foi observado com 20 horas de fermentação, seguido pela fase estacionária. A composição de S1, contendo glicerol (2 g L⁻¹), nitrato de amônio (1 g L⁻¹) e extrato de levedura (1 g L⁻¹), favoreceu o crescimento inicial. Embora o glicerol seja uma fonte de carbono viável, sua rápida metabolização pode levar ao esgotamento precoce dos nutrientes. Além disso, a presença de nitrato de amônio pode ter influenciado o pH do meio, alcalinizando-o, o que afeta o crescimento bacteriano (Hungria *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2021; Lee *et al.*, 2022).

Em contraste, o substrato S2 permaneceu em fase de crescimento exponencial até as 36 horas de fermentação, mantendo-se elevado até as 48 horas avaliadas (1,6x10⁸ UFC mL⁻¹). A presença de caseína (1,5 g L⁻¹), ureia (0,5 g L⁻¹), sacarose (1 g L⁻¹) e fosfato de potássio (0,5 g L⁻¹) o que pode ter garantido a liberação gradual de nutrientes e menor acúmulo de metabólitos tóxicos. A combinação de fontes de carbono e nitrogênio de liberação lenta, como caseína e ureia, proporciona um fornecimento contínuo de nutrientes, sustentando o crescimento bacteriano por períodos mais longos. Estudos recentes sugerem que *P. aryabhatai* possui mecanismos para metabolizar proteínas e compostos nitrogenados complexos, o que pode explicar o desempenho observado com essa suplementação (Zhang *et al.*, 2020; Wagh *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2023).

Comparando os tratamentos, SS e S2 apresentaram crescimento máximo superior ao controle (CN) e ao tratamento S1, evidenciando o potencial do ARFe como alternativa aos meios de culturas convencionais. Entre SS e S2, o substrato S2 destacou-se por sustentar a fase exponencial por mais tempo. Em 24 horas de fermentação, a viabilidade celular no S2 foi de 5,3x10⁸ UFC mL⁻¹, superior ao SS (3,8x10⁸ UFC mL⁻¹), refletindo sua composição nutricional mais balanceada (Zhang *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2023).

A análise estatística da ARFe, após 36 horas de fermentação (Tabela 17), correspondente ao final da fase estacionária e início do declínio, revelou que o substrato SS sustentou significativamente o crescimento de *P. aryabhatai* (p<0,05), atingindo 1,6x10⁸ UFC mL⁻¹, superior ao controle e a S1, estatisticamente semelhantes a S2 (Tabela 6). Esses achados corroboram estudos prévios, como os de Damasceno *et al.* (2003), Barros, Ponezi e Pastore (2008) e Gama *et al.* (2022), que utilizaram água residuária como meio de cultivo, associada a diferentes fontes de carbono e nitrogênio, para promover o crescimento microbiano e a produção de metabólitos secundários.

Tabela 6 Viabilidade celular de *Priestia aryabhatai* em diferentes formulações de água residuária de fecularia após 36 horas de fermentação

SUBSTRATO	UFC.mL ⁻¹
Caldo Nutriente (controle)	8,6x10 ⁷ b
Sem Suplementação	1,61x10 ⁸ a
Suplementação 1	4,30x10 ⁷ c
Suplementação 2	1,06x10 ⁸ b

Letras diferentes indicam diferenças estatística significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

A superioridade do SS sugere que a água residuária de mandioca pode sustentar o crescimento microbiano sem necessidade de suplementação adicional, reduzindo custos e tornando o processo mais sustentável como pode ser observado na Tabela 3. O uso de substratos renováveis, como a água residuária, minimiza impactos ambientais e melhora a viabilidade econômica de bioprocessos fermentativos, alinhando-se aos princípios da bioeconomia circular. Entretanto, a queda na viabilidade celular, após 36 horas ($1,27 \times 10^8$ UFC mL⁻¹), indica a necessidade de estratégias para estabilização do bioproduto visando aplicações comerciais.

A Figura 20 apresenta a curva de crescimento de *P. aryabhatai* utilizando a água residuária proveniente do processo de obtenção de farinha de mandioca (ARFa), que apresentou crescimento mais acelerado nas primeiras 24 horas, refletindo sua maior DQO ($16,83$ g L⁻¹) e disponibilidade de matéria orgânica. Entretanto, seu crescimento foi seguido por um declínio mais abrupto em comparação à ARFe.

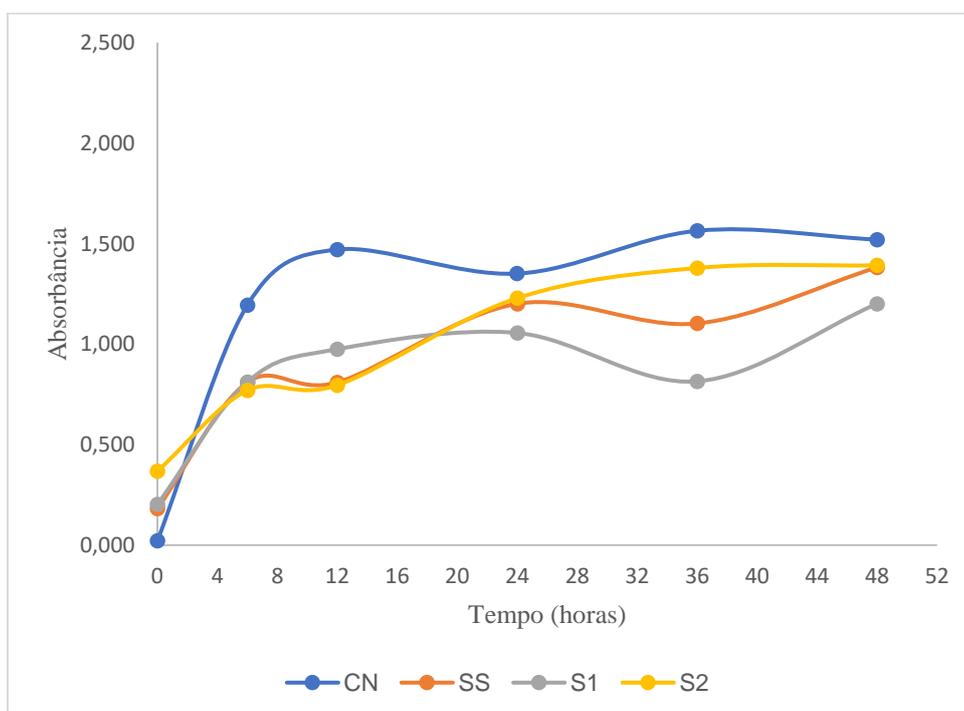


Figura 20 Curva de crescimento de *Priestia aryabhatai* utilizando como substrato a água residuária coletada na farinha
CN= Caldo Nutriente; SS= Sem Suplementação; S1= Suplementação 1; S2= Suplementação 2.

Tabela 7 Células viáveis (UFC mL⁻¹) de *Priestia aryabhatai* utilizando como substrato a água residuária da farinha.

Tempo (horas)	Caldo Nutriente	Sem Suplementação	Suplementação 1	Suplementação 2	Tempo (horas)
0	8,0 x 10 ⁶	4,0 x 10 ⁵	5,0 x 10 ⁵	3,5 x 10 ⁵	8,0 x 10 ⁶
12	2,6 x 10 ⁸	1,1 x 10 ⁸	1,2 x 10 ⁸	1,2 x 10 ⁸	2,6 x 10 ⁸
24	1,7 x 10 ⁸	4,1 x 10 ⁸	6,5 x 10 ⁸	6,3 x 10 ⁸	1,7 x 10 ⁸
36	8,5 x 10 ⁷	2,8 x 10 ⁸	1,5 x 10 ⁸	5,3 x 10 ⁸	8,5 x 10 ⁷
48	1,2 x 10 ⁸	3,9 x 10 ⁶	7,5 x 10 ⁷	1,9 x 10 ⁷	1,2 x 10 ⁸

Para o substrato SS, o crescimento exponencial foi observado até 24 horas (4,1x10⁸ UFC mL⁻¹) (Tabela 7), seguido por uma queda para 3,9x10⁶ UFC mL⁻¹, após 48 horas, possivelmente, devido ao esgotamento rápido de nutrientes e acúmulo de compostos inibitórios. A alta DQO da ARFa indica uma abundância inicial de nutrientes, promovendo crescimento rápido. No entanto, o esgotamento desses nutrientes, aliado ao possível acúmulo de subprodutos tóxicos, pode ter causado a queda acentuada na viabilidade celular (Pereira *et al.*, 2019; Wagh *et al.*, 2022).

No tratamento S1, o crescimento máximo foi observado em 24 horas (6,6x10⁸ UFC mL⁻¹), seguido por uma redução para 1,5x10⁸ UFC mL⁻¹ em 36 horas e estabilização relativa até as 48 horas (7,5x10⁸ UFC mL⁻¹) avaliadas. A inclusão de extrato de levedura pode ter favorecido uma maior resistência ao estresse metabólico (Santos *et al.*, 2023). Esse extrato oferece vitaminas e fatores de crescimento que podem contribuir para a resistência ao estresse e para a preservação da viabilidade celular. Pesquisas recentes evidenciam o papel do extrato de levedura na promoção da saúde celular e na redução de efeitos tóxicos em culturas bacterianas (Varize, 2018).

O substrato S2 demonstrou o melhor desempenho, atingindo 6,3x10⁸ UFC mL⁻¹ em 24 horas mantendo-se elevado até 36 horas (5,3x10⁸ UFC mL⁻¹). Diferentemente dos outros tratamentos, a massa celular manteve-se relativamente alta ao final do experimento (1,98x10⁸ UFC mL⁻¹ em 48 horas), sugerindo liberação gradual e sustentada de nutrientes. A combinação de fontes de carbono e nitrogênio de liberação lenta, como caseína e ureia, proporciona um fornecimento contínuo de nutrientes, sustentando o crescimento bacteriano por períodos mais longos, o que proporciona um ambiente mais estável para o crescimento de *P. aryabhatai*, assim como na avaliação com a ARFe (Tabela 7). A presença de fosfato de potássio pode ter ajudado a manter o pH ideal, enquanto a combinação de fontes de carbono e nitrogênio sustentou o crescimento bacteriano (Pereira e Neto, 2007; Wagh *et al.*, 2021).

Estudos anteriores, como Nguyen (2021) e Barbosa (2011), também observaram que a água residuária de processamento de mandioca pode sustentar o crescimento bacteriano devido à sua composição rica em nutrientes. Em particular, Barbosa (2011) destacou que a água residuária possui compostos nitrogenados e fosfatados que favorecem o metabolismo microbiano.

A análise estatística dos dados e viabilidade celular de *P. aryabhatai* após 36 horas de fermentação em diferentes formulações da ARFa revelou diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 8). O substrato ARFa S2 destacou-se, apresentando a maior viabilidade celular ($5,3 \times 10^8$ UFC mL⁻¹), enquanto os substratos SS e S1 não diferiram estatisticamente entre si, nem SS em relação ao CN.

Tabela 8 Viabilidade celular de *Priestia aryabhatai* em diferentes formulações de água residuária de farinha após 36 horas de fermentação

SUBSTRATO	UFC.mL⁻¹
Caldo Nutriente	$8,6 \times 10^7$ c
Sem Suplementação	$2,83 \times 10^8$ bc
Suplementação 1	$1,50 \times 10^8$ b
Suplementação 2	$5,30 \times 10^8$ a

Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

A melhor eficiência do substrato ARFa S2 pode ser atribuída à sua composição complementar, que proporcionou uma liberação gradual e equilibrada de nutrientes essenciais, como fontes de carbono e nitrogênio, além de minerais que auxiliam o metabolismo microbiano. Estudos recentes indicam que a suplementação adequada do meio de cultura pode melhorar a viabilidade celular e a produção de metabólitos de interesse. Por exemplo, Varize *et al.* (2019) demonstraram que a adição de aminoácidos específicos em mostos de melão e xarope de cana-de-açúcar aumentou a viabilidade de leveduras industriais durante a fermentação alcoólica.

Em contraste, os substratos ARFa SS não apresentaram diferenças significativas em relação ao CN, sugerindo que a ausência ou a insuficiência de suplementação não forneceu os nutrientes necessários para otimizar o crescimento e a viabilidade de *P. aryabhatai*. Sousa (2013) avaliou a produção de biomassa de *Bacillus* sp. RAB9 por fermentação submersa, destacando a importância da composição do meio de cultivo para otimizar o crescimento bacteriano. Da mesma forma, Santos (2018) desenvolveu um bioprocesso para a formulação de aditivo probiótico composto de esporos de *Bacillus subtilis*, utilizando subprodutos agroindustriais (farelo de trigo, farelo de soja e melão de cana), enfatizando a relevância da escolha adequada dos componentes do meio para maximizar a viabilidade e produtividade bacteriana. Esses resultados destacam a importância da formulação do substrato na fermentação microbiana. A escolha adequada dos componentes do meio pode influenciar diretamente a viabilidade celular e a eficiência do processo fermentativo, aspectos cruciais para aplicações industriais que visam à produção de metabólitos de interesse biotecnológico.

3.2 Viabilidade celular das diferentes amostras de águas residuárias do processamento da mandioca

A viabilidade celular de *P. aryabhatai*, após 36 horas de fermentação, em diferentes formulações de água residuária de farinha (ARFa) e de fecularia (ARFe), está apresentada na Tabela 9. Os resultados indicam que tanto a suplementação quanto a origem da água residuária de mandioca influenciaram significativamente a composição química dos substratos, o que, por sua vez, determinou a quantificação microbiana.

Tabela 9 Viabilidade celular de *Priestia aryabhatai* em diferentes formulações de água residuária de farinha (ARFa) e fécularia (ARFe) após 36 horas de fermentação

SUBSTRATO	UFC.mL ⁻¹
Caldo Nutriente (controle)	8,60x10 ⁷ c
SS – ARFa	2,83x10 ⁸ b
S1 - ARFa	1,50x10 ⁸ c
S2 – ARFa	5,30x10 ⁸ a
SS – ARFe	1,61x10 ⁸ bc
S1 – ARFe	4,30x10 ⁷ bc
S2 – ARFe	1,06x10 ⁸ c

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

O maior crescimento microbiano foi observado no tratamento ARFa-S2 ($5,3 \times 10^8$ UFC mL⁻¹), estatisticamente superior aos demais ($p < 0,05$). Esse resultado é atribuído à composição balanceada da suplementação S2 (caseína, ureia, sacarose e fosfato de potássio), que garantiu uma liberação controlada de nutrientes essenciais, promovendo maior estabilidade ao longo do tempo (Silva *et al.*, 2020).

No tratamento ARFa-SS, realizado sem suplementação, observou-se uma contagem microbiana elevada ($2,8 \times 10^8$ UFC mL⁻¹), sem diferenças estatisticamente significativas em comparação ao ARFe-SS ($1,6 \times 10^8$ UFC mL⁻¹). Esses resultados sugerem que ambas as águas residuárias, mesmo sem suplementação, sustentaram o crescimento microbiano, possivelmente em virtude da presença de açúcares fermentescíveis e compostos nitrogenados residuais. Entretanto, enquanto o ARFe-SS manteve uma curva de crescimento estável, o ARFa-SS apresentou um declínio acentuado na viabilidade celular após 36 horas, possivelmente decorrente a um rápido esgotamento precoce dos nutrientes e do acúmulo de metabólitos inibitórios (Shahid *et al.*, 2022; Wagh *et al.*, 2021).

A suplementação S1 (glicerol, nitrato de amônio e extrato de levedura) apresentou desempenho inferior ao da S2. O crescimento em ARFa-S1 ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹) foi estatisticamente semelhante aos tratamentos ARFe-S2 ($1,1 \times 10^8$ UFC mL⁻¹) e ARFe-S1 ($4,3 \times 10^7$ UFC mL⁻¹), sugerindo que a rápida assimilação dos nutrientes pode ter limitado o crescimento a longo prazo. O nitrato de amônio, embora eficiente como fonte de nitrogênio,

pode ter sido rapidamente metabolizado, resultando em esgotamento precoce dos recursos (Afonso *et al.*, 2020).

O controle (Caldo Nutriente) apresentou crescimento inferior ($8,6 \times 10^7$ UFC mL⁻¹), estatisticamente semelhante aos tratamentos ARFa-S1, ARFe-S2 e ARFe-S1. Esse achado reforça o potencial da água residuária como alternativa viável ao CN para cultivo fermentativo (Etesami e Glick, 2024).

Na Figura 21 são apresentadas as curvas de crescimento de *P. aryabhattai* nos diferentes substratos ao longo de 48 horas, destacando diferenças na cinética de crescimento entre ARFa e ARFe.

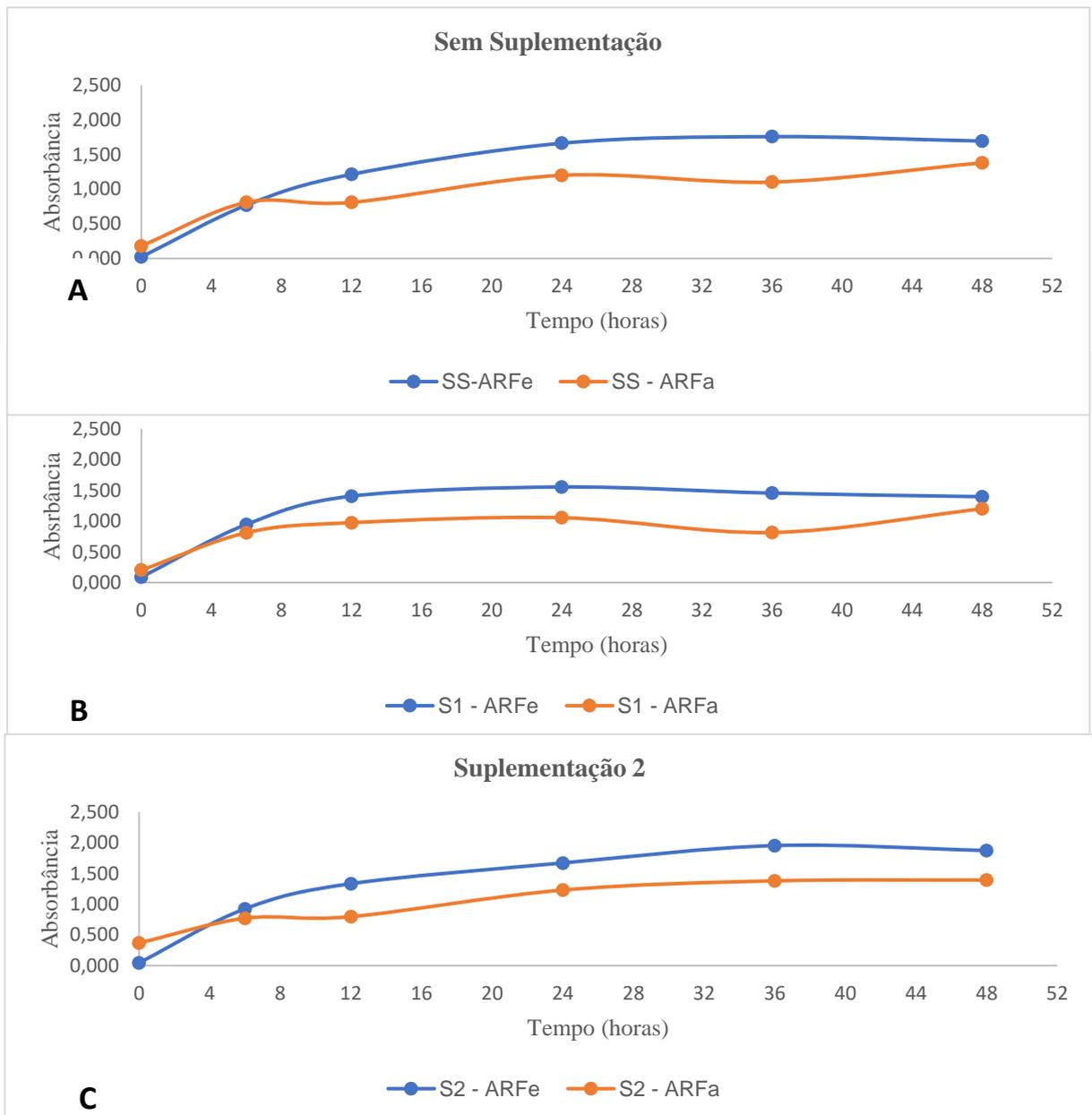


Figura 21 Curva de crescimento de *Priestia aryabhattai* em água residuária da fecularia (ARFe) e da farinha (ARFa).

A=Curva de crescimento sem suplementação (SS); B= Curva de crescimento suplementação 1 (S1); C=Curva de crescimento suplementação 2(S2).

A ARFa apresentou crescimento mais acelerado nas primeiras 24 horas, especialmente no tratamento SS, possivelmente devido à diferença da demanda química de oxigênio (DQO) entre as amostras o que pode indicar uma maior disponibilidade inicial de matéria orgânica. Contudo, esse crescimento foi seguido por um declínio abrupto, particularmente nos tratamentos sem suplementação, sugerindo esgotamento rápido dos nutrientes e acúmulo de metabólitos inibitórios, como ácidos orgânicos e compostos fenólicos da mandioca (Shahid *et al.*, 2022; Wagh *et al.*, 2021).

Por outro lado, a ARFe demonstrou crescimento mais equilibrado, com fase estacionária prolongada e menor taxa de declínio na viabilidade celular. Esse comportamento pode ser atribuído à sua composição química mais estável, que favorece a liberação gradual de nutrientes e reduz o impacto de metabólitos tóxicos (Etesami e Glick, 2024).

A suplementação S2 foi a mais eficiente em ambos os substratos, garantindo maior estabilidade e crescimento sustentado. O equilíbrio entre carbono, nitrogênio e fosfato foi essencial para minimizar o impacto do acúmulo de metabólitos tóxicos e evitar variações abruptas no pH, o que cria um ambiente favorável ao crescimento microbiano (Zhang *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2023).

3.3 Produção de Ácido Indol-3-acético (AIA)

Atualmente, não há registros na literatura científica sobre o uso da água residuária de mandioca como meio de cultivo ou suplementação para a produção de ácido indol-3-acético (AIA) por microrganismos. Entretanto, alguns microrganismos presentes na rizosfera, tais como *P. aryabhatai* KEX505, apresentam a capacidade de sintetizar AIA, uma auxina relacionada com a promoção do crescimento vegetal (Giassi, Kiritani e Kupper, 2016; Srithaworn *et al.*, 2023). O AIA desempenha um papel importante no desenvolvimento das plantas, influenciando processos fisiológicos, como o desenvolvimento radicular, a absorção de nutrientes e a resistência ao estresse abiótico (Duca *et al.*, 2014). No presente estudo, foi identificada a produção de AIA por *P. aryabhatai* em todos os substratos (Tabela 10).

Os resultados indicam que as águas residuárias foram mais eficientes para a produção de AIA em comparação ao caldo nutriente. A síntese máxima do fito-hormônio ($963,17 \mu\text{M mL}^{-1}$) foi registrada no T2 da fase de crescimento bacteriano. A maior produção foi obtida na fermentação da ARFa, em que os valores ficaram entre 3923,17 e 4208,17 $\mu\text{M mL}^{-1}$, seguida pela fermentação da ARFe, com valores entre 1833,17 e 2571,50 $\mu\text{M mL}^{-1}$, todos registrados no T3. Apesar das variações nas quantidades sintetizadas, não houve diferença estatística quando comparada à água residuária suplementada e não suplementada para um mesmo processo de obtenção do produto final obtido a partir da mandioca.

Tabela 10 Produção de Ácido Indolacético-3-acético (AIA) por *Priestia aryabhatai* em diferentes substratos

SUBSTRATO	AIA ($\mu\text{M mL}^{-1}$)
Caldo Nutriente	963,17 d
ARFe – sem <i>P. aryabhatai</i>	206,50 e
ARFe – sem suplementação	2241,50 bc
ARFe – suplementação 1	1833,17 c
ARFe – suplementação 2	2571,50 b
ARFa – sem <i>P. aryabhatai</i>	723,17 de
ARFa – sem suplementação	4208,17 a
ARFa – suplementação 1	4149,83 a
ARFa – suplementação 2	3923,17 a

Média. Letras diferentes expressam diferenças significativas entre os substratos (Teste de Tukey: $p < 0,05$).

A composição da ARFa foi determinante para sua maior eficiência na produção de AIA em comparação à ARFe. Estudos, como Shahid *et al.* (2022), demonstram que a presença de compostos, a exemplo do glicerol, fosfatos e aminoácidos, promove significativamente a biossíntese de AIA, fornecendo os precursores e cofatores essenciais para essa via metabólica. Além disso, substratos ricos em matéria orgânica, como a água residuária de mandioca, oferecem uma base nutricional favorável que, quando suplementada, pode potencializar ainda mais a produção de AIA, corroborando os resultados superiores observados no tratamento S2 para os substratos analisados. A utilização de biofertilizantes à base de microrganismos produtores de fito-hormônios, como o *P. aryabhatai*, tem sido amplamente estudada como uma alternativa sustentável para reduzir a dependência de fertilizantes químicos sintéticos, visto que promove um manejo agrícola mais eficiente e ambientalmente responsável (Jasim *et al.*, 2014; García-Fraile *et al.*, 2023).

A presença de aminoácidos neutros também foi associada à promoção da secreção de AIA, sugerindo que a cepa utilizada é capaz de sintetizar esse fito-hormônio por vias metabólicas independentes de L-triptofano. Esse comportamento ressalta o potencial biotecnológico de *P. aryabhatai* em ambientes ricos em resíduos, evidenciando sua aplicabilidade na bioconversão de substratos agroindustriais. O L-triptofano é amplamente reconhecido como um precursor do AIA, e sua concentração elevada geralmente está associada a um aumento na biossíntese desse fito-hormônio. No entanto, cepas bacterianas podem utilizar uma ou mais vias biossintéticas do AIA, que podem ser dependentes ou independentes de L-triptofano (Duca *et al.*, 2014; Jasim *et al.*, 2014). Desse modo, a biossíntese na água residuária de farinheira pode estar relacionada à via independente do L-triptofano, uma vez que os tratamentos S1 e S2, mesmo com a adição desse aminoácido, não resultaram em valores superiores ao tratamento SS. Por outro lado, na ARFe, a produção de

AIA foi mais elevada no tratamento S2 em comparação aos tratamentos SS e S1, sugerindo uma dependência do L-triptofano na via biossintética predominante nessa condição.

3.4 Resultados da análise de metais na água residuária de mandioca

A análise dos teores de metais presentes na água residuária de mandioca, tanto na forma bruta quanto após o tratamento com *P. aryabhattai*, revelou diferenças significativas na composição química entre as amostras provenientes de fecularia e farinha. Esses resultados destacam o potencial da água residuária como substrato rico em nutrientes essenciais para o crescimento microbiano e vegetal, além de sua capacidade de atuar como um meio de cultivo alternativo e sustentável. Na Tabela 11 são apresentados os teores de metais encontrados nas amostras de água residuária.

Tabela 11 Quantificação de metais na água residuária bruta e inoculada com *Priestia aryabhattai*

Metais		ARFa-bruta	ARFa- <i>P. aryabhattai</i>	ARFe-bruta	ARFe- <i>P. aryabhattai</i>	CONAMA nº 430/2011
Cálcio	g.L⁻¹	0,5	0,38	0,14	0,12	não regulado
Magnésio	g.L⁻¹	0,41	0,44	0,15	0,16	não regulado
Potássio	g.L⁻¹	3,47	4,15	1,12	1,44	não regulado
Ferro	mg.L⁻¹	6,19	7,67	3,83	2,91	5,0
Cobre	mg.L⁻¹	0,53	0,55	0,87	0,36	1,0
Zinco	mg.L⁻¹	2,97	3,71	1,31	1,81	5,0
Manganês	mg.L⁻¹	3,1	3,62	1,33	1,66	2,0
Cádmio	mg.L⁻¹	0,118	0,173	0,081	0,036	0,1
Chumbo	mg.L⁻¹	1,03	0,97	0,13	0,042	0,1

ARFa=Água residuária de farinha de mandioca; ARFe=Água residuária de fécula de mandioca.

A comparação dos valores encontrados com os parâmetros regulatórios indicou que os níveis de cádmio, cobre, ferro e zinco permaneceram dentro dos limites permitidos para efluentes líquidos, favorecendo o uso da água residuária tratada como substrato para a produção de bioinsumos. No entanto, observou-se que as amostras de ARFa apresentaram concentrações de chumbo (1,03 mg L⁻¹ na amostra bruta e 0,97 mg L⁻¹ na inoculada) superiores ao limite máximo permitido de 0,5 mg L⁻¹, conforme estabelecido pela Resolução CONAMA nº 430/2011. Além disso, os níveis de manganês em todas as amostras (entre 1,33 mg L⁻¹ e 3,62 mg L⁻¹) também ultrapassaram o limite permitido de 1,0 mg L⁻¹. Esses resultados ressaltam a necessidade de estratégias para o controle da concentração de metais pesados durante o processo biotecnológico, garantindo que a água residuária possa ser utilizada de forma segura na formulação de bioinsumos. A capacidade de *P. aryabhattai* de reduzir metais, como cádmio e chumbo, na ARFe, pode ser atribuída a mecanismos, a exemplo da biosorção, a produção de sideróforos, a transformação enzimática e a formação de biofilmes. Isso sugere que a cepa pode mitigar a toxicidade desses contaminantes, ampliando seu potencial para aplicações tanto em biorremediação quanto no desenvolvimento de formulações agrícolas sustentáveis.

O potássio, um macronutriente fundamental para o metabolismo vegetal, apresentou um aumento significativo nas amostras tratadas com *P. aryabhattai*, especialmente na água residuária de SP (de 3,47 g L⁻¹ para 4,15 g L⁻¹). Esse resultado sugere que a bactéria pode facilitar a liberação ou retenção de potássio, tornando-o mais disponível para as plantas. Além disso, observou-se um aumento nas concentrações de zinco e manganês, micronutrientes essenciais para o crescimento vegetal. Na ARFa, o zinco aumentou de 2,97 mg L⁻¹ para 3,71 mg L⁻¹, enquanto o manganês passou de 3,10 mg L⁻¹ para 3,62 mg L⁻¹ após o tratamento. Esses achados corroboram estudos anteriores que destacam o papel de *P. aryabhattai* na solubilização de nutrientes e na promoção do crescimento vegetal (Etesami e Glick, 2024; Wagh *et al.*, 2021).

O ferro, um elemento presente em processos enzimáticos e fotossintéticos, apresentou comportamento variável entre as amostras. Na ARFa, houve um aumento na concentração de ferro após o tratamento (de 6,19 mg L⁻¹ para 7,67 mg L⁻¹), enquanto, na ARFe, observou-se uma redução (de 3,83 mg L⁻¹ para 2,91 mg L⁻¹). Essa diferença pode estar relacionada à composição inicial da água residuária e à capacidade da bactéria de interagir com os compostos presentes. O cobre, por sua vez, mostrou uma leve redução nas amostras de ARFe (de 0,87 mg L⁻¹ para 0,36 mg L⁻¹), o que pode indicar uma possível imobilização ou metabolização desse metal por *P. aryabhattai*.

A presença de metais pesados, como cádmio e chumbo, em resíduos agroindustriais é uma preocupação ambiental devido à sua toxicidade. Nas amostras de ARFe, o tratamento com *P. aryabhattai* resultou em uma redução significativa na concentração de cádmio (de 0,081 mg L⁻¹ para 0,036 mg L⁻¹) e chumbo (de 0,13 mg L⁻¹ para 0,042 mg L⁻¹). Esses resultados sugerem que a bactéria pode ter um papel na remoção ou imobilização desses metais, reduzindo sua disponibilidade no ambiente. No entanto, nas amostras de ARFa, houve um aumento na concentração de cádmio (de 0,118 mg L⁻¹ para 0,173 mg L⁻¹), o que pode indicar uma mobilização desse metal durante o processo fermentativo. Esse comportamento contrastante entre as amostras de ARFa e ARFe destaca a importância de considerar a variabilidade nos processos de obtenção e na composição da água residuária ao planejar aplicações biotecnológicas.

Os resultados evidenciam o potencial da água residuária de mandioca como substrato viável para a produção de biofertilizantes e bioprodutos agrícolas. A capacidade de *P. aryabhattai* em aumentar a disponibilidade de nutrientes essenciais, a saber, potássio, zinco e manganês no solo, destaca sua aplicação promissora na agricultura sustentável. Além disso, a redução de metais pesados, como cádmio e chumbo, nas amostras do ARFe, sugere um potencial para a contribuição na descontaminação de resíduos agroindustriais.

Contudo, o aumento na concentração de cádmio nas amostras de ARFa indica a necessidade de estudos mais aprofundados sobre os mecanismos de interação entre *P. aryabhattai* e os metais presentes na água residuária. Futuras pesquisas devem explorar os

genes e vias metabólicas envolvidos na imobilização ou remoção de metais pesados, bem como investigar como a variabilidade regional na composição da água residuária influencia a eficiência dos processos biotecnológicos.

Em síntese, a análise dos metais demonstra que *P. aryabhatai* pode modular a disponibilidade de nutrientes e a concentração de metais pesados, dependendo da origem do substrato. Esses achados reforçam o potencial da água residuária como recurso sustentável, mas destacam a necessidade de estudos adicionais para otimizar e escalonar o processo.

4 CONCLUSÃO

A água residuária de mandioca demonstrou potencial como substrato promissor e sustentável para o cultivo de *Priestia aryabhatai* e a biossíntese de AIA. A composição química dos diferentes processos influenciou a cinética microbiana, com a ARFa favorecendo o acúmulo de biomassa e a ARFe proporcionando maior estabilidade celular. A suplementação com caseína, ureia, sacarose e fosfato de potássio (S2) potencializou o crescimento bacteriano e a produção de AIA, indicando a importância da formulação nutricional no aprimoramento do processo fermentativo. Além disso, *P. aryabhatai* apresentou a capacidade de modular a disponibilidade de nutrientes, evidenciando seu potencial para aplicações na agricultura sustentável e em estratégias de biorremediação.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, L. *et al.* Aplicação de subprodutos agroindustriais como fontes de nitrogênio para a produção de soforolipídios por *Starterella bombicola*. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 14875-14887, mar. 2020.
- ALMEIDA, A.; SILVA, B. H.; OLIVEIRA, C.; SOUZA, D.; PEREIRA, E. Uso de água residuária para produção de bioetanol. **Revista Brasileira de Biotecnologia**, [S.l.], v. 15, n. 2, p. 50-65, 2017.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 22. ed. [S.l.]: AOAC, 2023.
- BARBOSA, M. **Estudo sobre a fermentação da água residuária**. Orientadora: Márcia Nunes Bandeira Roner. 2011. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- BARROS, Y. C.; PONEZI, A. N.; PASTORE, G. M. Produção de metabólitos microbianos a partir de água residuária. **Revista Brasileira de Biotecnologia**, [S.l.], v. 10, p. 25-32, 2008.
- BRASIL. **Resolução CONAMA nº 430, de 28 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre critérios, diretrizes e procedimentos para a avaliação da qualidade da água e do lançamento de efluentes; revoga a Resolução CONAMA nº 237, de 19 de setembro de 1999; e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 29 dez. 2011.

CHEN, Y.; ZHANG, L.; WANG, J.; LIU, W.; WU, X. Metabolic pathways of *Priestia aryabhatai* in bioremediation and plant growth promotion. **Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 25, p. 1123-1135, 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Análise do mercado de mandioca – agosto de 2023**. Brasília, DF: CONAB, 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br>. Acesso em: 4 fev. 2025.

DAMASCENO, S.; FREITAS, R.; OLIVEIRA, T.; GOMES, L. Bioconversão de resíduos agroindustriais: um estudo com água residuária. **Ciência Rural**, [S.l.], v. 33, p. 121-129, 2003.

DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DUCA, D.; LIU, W.; PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.l.], v. 106, n. 1, p. 85-125, 2014.

EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; GREENBERG, A. E. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21th. Ed. Washington, DC.: American Public Health Association, 2005.

ETESAMI, H.; GLICK, B. R. Bacterial indole-3-acetic acid: A key regulator for plant growth, plant-microbe interactions, and agricultural adaptive resilience. **Microbiological Research**, [S.l.], v. 281, p. 127602, 2024.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAO Statistical Yearbook 2023: World Food and Agriculture**. Rome: FAO, 2023. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/28cfd24e-81a9-4ebc-b2b5-4095fe5b1dab/content/cc8166en.html>. Acesso em: 8 fev. 2025.

GAMA, R. C. N. **Biorremediação de águas residuárias industriais via microalgas: efeitos da disponibilidade de nutrientes na produção de bioprodutos de valor agregado**. Orientadora: Maria Lúcia Calijuri. 2022. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2022. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/30604>. Acesso em: 24 mar. 2025.

GARCÍA, J. A.; LÓPEZ, M.; RAMÍREZ, J. C.; SÁNCHEZ, P. Efecto de la relación carbono/nitrógeno en la producción de metabolitos secundarios por *Streptomyces* sp. **Revista Colombiana de Biotecnología**, [S.l.], v. 22, n. 1, p. 5-14, 2020.

GARCÍA-FRAILE, P.; RAMOS, M.; FERNÁNDEZ, A.; MARTÍNEZ, I. Potential of *Priestia aryabhatai* for bioremediation and plant growth promotion. **Environmental Science and Pollution Research**, [S.l.], v. 30, p. 4567-4580, 2023.

GIASSI, V.; KIRITANI, C.; KUPPER, K. C. Bacteria as growth-promoting agents for citrus rootstocks. **Microbiological Research**, [S.l.], v. 190, p. 46-54, 2016.

GUPTA, R. S. *et al.* Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel *Bacillaceae* genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting

it only to the members of the *Subtilis* and *Cereus* clades of species. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, [s.l.], v. 70, n. 11, p. 5753-5798, 2020.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUSA, J. S.; PEDROSA, F. O. Inoculação com *Azospirillum* brasileiro: inovação em rendimento a um baixo custo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 12, p. 1197-1208, 2010.

JASIM, B. *et al.* Studies on the factors modulating indole-3-acetic acid production in endophytic bacterial isolates from *Piper nigrum* and molecular analysis of ipdc gene. **Journal of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 117, n. 3, p. 786–799, 2014.

MARÓSTICA JR, M. R.; PASTORE, G. M. Biotransformation of citronellol in rose-oxide using cassava wastewater as a medium. **Food Science and Technology**, [s.l.], v. 26, p. 690-696, 2006.

MANSINHOS, I. *et al.* Nutrient Deficiency-Induced Stress Improves Skincare Effects and Phytochemical Content of Green Extracts from Lamiaceae In Vitro Cultures. **Horticulturae**, [s.l.], v. 10, n. 9, p. 947, 2024.

NGUYEN, T. H. *et al.* Utilization of cassava wastewater for low-cost production of prodigiosin and evaluation of its bioactivities. **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 20, p. 6270, 2021.

NSA, I. Y.; OMOLERE, B. M. Draft genome sequence and annotation of *Priestia aryabhatai* strain BD1 isolated from a dye sediment. **Microbiology Resource Announcements**, [s.l.], v. 12, n. 2, p. e01175-22, 2023.

OLIVEIRA, B. N. C. *et al.* Influência da fermentação espontânea da água residuária no perfil de aminas bioativas e carotenoides durante a produção de tucupi. **Pesquisa Internacional em Alimentos**, [s.l.], v. 120, p. 209-216, 2019.

PEREIRA NETO, J. T. **Manual de compostagem: processo de baixo custo**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 81 p.

ROJO, B. J.; HERNÁNDEZ, J.; MARTÍNEZ, P.; RUIZ, E. Cassava Waste Pulp Valorization for Biohydrogen Production. **Circular Economy and Sustainability**, [S.l.], 2024.

SANTOS, R. F. **Desenvolvimento de bioprocesso para formulação de aditivo probiótico composto de esporos de *Bacillus subtilis***. Orientador: Carlos Ricardo Soccol. 2018. 132 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/xmlui/handle/1884/70908>. Acesso em: 24 mar. 2025.

SANTOS, J. C. dos *et al.* Peptide extract from spent yeast improves resistance of *Saccharomyces cerevisiae* to oxidative stress. **Biotechnology for Biofuels and Bioproducts**, [s.l.], v. 16, n. 1, p. 1-15, 2023.

SHAHID, M. *et al.* Stress-Tolerant *Priestia aryabhatai* Modulates Physio-Biochemical Mechanisms in Wheat. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [S.l.], v. 19, n. 17, p. 10883, 2022.

SHARMA, S.; TIWARI, P.; PANDEY, L. Optimization of Culture Conditions for the Production of Biosurfactants. In: SHARMA, Swati; PANDEY, Lalit (Eds.). **Microbial Enhanced Oil Recovery**. Singapura: Springer, 2021. p. 149-178.

SILVA, L. G.; FERREIRA, A. P.; MORAIS, T. A. Efeito da suplementação com diferentes fontes de nitrogênio e energia no crescimento de bactérias ácido-láticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 49, e20200007, 2020.

SOUSA, A. C. **Produção de biomassa de *Bacillus sp.* RAB9 por fermentação submersa.** Orientador: Carlos Ricardo Soccol. 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/5817>. Acesso em: 24 mar. 2025.

SRITHAWORN, M. *et al.* Zinc solubilizing bacteria and their potential as bioinoculant for growth promotion of green soybean (*Glycine max* L. Merr.). **PeerJ Hubs**, [s.l.], v. 11, e15128, 2023.

VARIZE, C. de S. **Aumento da tolerância de *Saccharomyces cerevisiae* a fatores estressantes da fermentação etanólica:** linhagens modificadas e suplementação de aminoácidos. Orientador: Luiz Carlos Basso. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/002884050>. Acesso em: 24 mar. 2025.

VARIZE, C. de S. *et al.* Suplementação de aminoácidos na fermentação alcoólica de mostos de melaço e xarope de cana-de-açúcar empregando linhagem industrial CAT-1. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, [s.l.], v. 7, n. 2, p. 265-274, 2019.

WAGH, V. S.; RAM, H.; DASTAGER, S. G. *Priestia veravalensis* sp. nov., isolated from a coastal sample. **Archives of Microbiology**, [s.l.], v. 203, n. 8, p. 4839-4845, 2021.

WATTHIER, M. *et al.* Decomposition of green manure with different grass: legume ratios. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [s.l.], v. 50, n. 13, p. 1663-1672, 2019.

ZHANG, G. *et al.* Isolation and Identification of Four Strains of Bacteria with Potential for Polyethylene and Polypropylene Biodegradation. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, [s.l.], v. 59, n. 10, p. 1-10, 2024.