



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS SÃO JOÃO DO PIAUÍ
CURSO LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LUCÉLIA DA PAZ ARAGÃO

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL DE RIZOBACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS OBTIDAS EM SOLOS
AGRÍCOLAS NO MUNICÍPIO DE SÃO JOÃO DO PIAUÍ

SÃO JOÃO DO PIAUÍ

2024

LUCÉLIA DA PAZ ARAGÃO

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL DE RIZOBACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS OBTIDAS EM SOLOS
AGRÍCOLAS NO MUNICÍPIO DE SÃO JOÃO DO PIAUÍ

Trabalho de Conclusão de Curso (artigo científico)
apresentado como exigência parcial para obtenção
do diploma do Curso de Licenciatura em Ciências
Biológicas do Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus São João
do Piauí.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jéssica Rodrigues da Silva.

SÃO JOÃO DO PIAUÍ

2024

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS OBTIDAS EM SOLOS AGRÍCOLAS NO MUNICÍPIO DE SÃO JOÃO DO PIAUÍ

Lucélia da Paz Aragão¹
Jéssica Rodrigues da Silva²

RESUMO

Na rizosfera estão presentes diversos tipos de bactérias, a interação dessas bactérias com as plantas permite obter benefícios como a fixação de nitrogênio que não beneficia somente as plantas, mas também o solo. Assim, as bactérias constituem a maior parte microbiana do solo, seja ela em número ou diversidade, podendo encontrar diversas espécies distintas. O objetivo foi realizar o isolamento de rizobactérias coletadas na horta didática do Instituto Federal do Piauí (IFPI) para caracterização morfofocultural na cidade de São João do Piauí. A coleta das bactérias deu-se por meio da coleta em três locais diferentes da banana-prata-anã, cana-de-açúcar, feijão caupi e BRS capiaçu na horta didática do IFPI, campus São João do Piauí. O isolamento foi realizado a partir da rizosfera das áreas de banana Prata Anã, cana-de-açúcar, BRS Capiacu e feijão-caupi no Laboratório de Biologia do IFPI, após a lavagem em água corrente e isoladas em meio de cultura NYDA, ainda foram submetidas a uma temperatura de aproximadamente 28°C por 48h, após esse período as mesmas foram repicadas, caracterizadas morfológicamente e foram submetidas ao teste Gram e identificá-las com positiva ou negativa. Totalizou-se 24 bactérias. sendo 20,8% de banana Prata anã, 20,8% de cana-de-açúcar, 25% de BRS Capiacu e 33,4% de feijão-caupi. As rizobactérias obtidas possuíam coloração e características distintas, as mesmas passaram pelo processo de caracterização morfofocultural, resultando na formação do dendograma para avaliar o grau de similaridade dessas bactérias, assim como os diferentes tipos e grupos, apresentando diversidade de morfologia cultural com oito grupos diferentes e contendo bactérias Gram positivas.

Palavras-chave: Colônias; Bactérias; Rizosfera; Controle biológico; Agricultura sustentável.

¹ Graduanda do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí campus São João do Piauí. luceliapaz75@gmail.com.

² Engenheira Agrônoma - Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Doutorado em Fitopatologia - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). jessica.silva@ifpi.edu.br

ABSTRACT

In the rhizosphere, various types of bacteria are present. The interaction of these bacteria with plants provides benefits such as nitrogen fixation, which benefits not only the plants but also the soil. Thus, bacteria constitute the largest microbial component of the soil, whether in number or diversity, and various distinct species can be found. The aim was to isolate rhizobacteria collected from the teaching garden of the Federal Institute of Piauí (IFPI) for morphocultural characterization in the city of São João do Piauí. The bacteria were collected from three different locations of banana-prata-anã, sugarcane, cowpea, and BRS capiaçu in the teaching garden of IFPI, São João do Piauí campus. Isolation was carried out from the rhizosphere of the banana Prata Anã, sugarcane, BRS Capiáçu, and cowpea areas in the IFPI Biology Laboratory, after washing with running water and isolating them in NYDA culture medium. They were incubated at approximately 28°C for 48 hours. After this period, they were subcultured, morphologically characterized, and subjected to the Gram test to identify them as positive or negative. A total of 24 bacteria were isolated, with 20.8% from banana Prata Anã, 20.8% from sugarcane, 25% from BRS Capiáçu, and 33.4% from cowpea. The obtained rhizobacteria displayed distinct colors and characteristics, and they underwent the morphocultural characterization process, resulting in the formation of a dendrogram to assess the degree of similarity among these bacteria, as well as the different types and groups, showing a diversity of cultural morphology with eight different groups, including Gram-positive bacteria.

Keywords: Colonies, Bacteria, Rhizosphere, Biological control; Sustainable agriculture

Data de aprovação: 03/09/2024

1 INTRODUÇÃO

A relação entre solo e planta é de grande importância, pois as plantas produzem exsudatos que trazem benefícios aos microrganismos e, consequentemente, o solo. A fixação biológica de nitrogênio destaca-se por beneficiar não só a planta envolvida, mas também a rizosfera, ao disponibilizar parte desse nitrogênio para outros organismos (Marchetti; Barp, 2015).

Os diversos sistemas de manejo do solo podem afetar a diversidade e a eficiência de bactérias nativas. Portanto, é importante realizar um levantamento da diversidade bacteriana em solos que são submetidos a diferentes métodos de manejo (Oliveira *et al.*, 2017).

Algumas bactérias presente na rizosfera são Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP) que podem promover o crescimento de plantas por meio de vários mecanismos, sendo pelo crescimento na disponibilidade de nutrientes na rizosfera, pela produção de substâncias reguladoras do crescimento, assim também como no controle de fitopatógenos. Como resultado, promovem um aumento na produção das plantas. (Perboni, 2014)

As bactérias constituem a maior parte da população microbiana do solo, tanto em número quanto em diversidade, existem inúmeros gêneros e espécies diferentes presentes (Rebière, 2015). Nos agroecossistemas rizobactérias podem ser encontradas de forma livre, associadas endofiticamente ou em simbiose com as plantas, essas bactérias desempenham papéis importantes, promovendo o crescimento de plantas, como também no controle de doenças (Silva *et al.*, 2022).

O uso de microrganismos para o controle de doenças em plantas tem sido amplamente estudado em todo o mundo, porém eles não são utilizados com bastante frequência nos campos de produção atualmente, os motivos pelos quais não está havendo o uso no campo pode ser a falta de conhecimento ou de informações e de resultados disponíveis. O objetivo do controle biológico em plantas é de ajudar a permanecer em níveis equilibrados as populações de organismos vivos, esses nas quais estão presentes nos meios de cultivo, sendo aproveitado inimigos naturais na utilização e mantendo a forma de controle de moléstias ou patógenos que acabam reduzindo a produtividade das plantas (Benetti, 2017).

A técnica da coloração Gram permite distinguir as bactérias não apenas pela forma, mas também pela sua capacidade de reter o corante de Gram (cristal violeta) e resistir à descoloração com álcool. Bactérias que mantêm o corante são chamadas Gram-positivas, enquanto aquelas que perdem o corante após o tratamento com álcool são denominadas

Gram-negativas (Moreira; Carvalho; Frota, 2015).

A parede bacteriana é crucial para que ocorra essa diferenciação, refletindo diferenças na composição química entre as bactérias Gram-positivas, que possuem uma camada espessa de peptidoglicano (ou mureína), e as Gram-negativas, que têm uma camada muito fina de peptidoglicano, mas uma estrutura de parede mais complexa quimicamente (Moreira; Carvalho; Frota, 2015).

O presente trabalho tem como objetivo realizar o isolamento de rizobactérias obtidas na horta didática do Instituto Federal do Piauí para caracterização morfocultural no município de São João do Piauí.

2 METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no município de São João do Piauí - PI, que está localizado na região sudeste do estado do Piauí. O município está caracterizado com clima semiárido quente e seco, sua vegetação é do tipo caatinga, sendo arbórea e arbustiva (IBGE, 2022).

2.1 COLETA E ISOLAMENTO DAS RIZOBACTÉRIAS

Inicialmente, com a utilização de um trado fez-se a coleta de rizobactérias na horta didática Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), *campus* São João do Piauí, a coleta foi desenvolvida por meio de zig zag, onde coletou-se em três locais diferentes da rizosfera da banana-prata-anã, cana-de-açúcar, feijão caupi e BRS capiaçu, para que fossem isoladas no laboratório de Biologia, no IFPI, *campus* São João do Piauí.

Para o isolamento de rizobactérias da rizosfera inicialmente fez-se a lavagem das raízes em água corrente e triturou-se as mesmas, após isso adicionou-se 0,5g de raízes trituradas em tubos contendo 100mL de solução salina (0,85% NaCl), procedendo-se à extração sob contínua agitação manual, por 1 minuto, à temperatura ambiente. Em seguida, foram realizadas a diluição em série dos extratos de solo (fator 10) e, de cada diluição, foi retirado uma alíquota de 50µL, que foi semeada em placas de Petri contendo meio sólido NYDA (extrato de levedura 5g, dextrose 10g, ágar 20g, água destilada 1000 ml), com o auxílio da alça de Drigalsky, incubando-se, em seguida, a 28°C. As colônias das rizobactérias que surgiram, foram repicadas para tubos de ensaio contendo meio de cultura NYDA.

2.2 CULTIVO E PRESERVAÇÃO DAS RIZOBACTÉRIAS

As rizobactérias isoladas foram cultivadas e preservadas por meio de repicagens periódicas tubo a tubo em meio NYDA para o uso contínuo nos ensaios realizados. Os

isolados de rizobactérias selecionados foram preservados em tubos criogênicos contendo água destilada esterilizada (ADE), sendo armazenados em temperatura ambiente.

2.3 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

Após o isolamento e a preservação das colônias, todas foram caracterizadas morfológicamente. Adotaram-se os seguintes critérios: forma (puntiforme, circular, irregular, filamentosa), elevação (espraiada, convexa baixa ou alta, bosselada, papilada), bordos (ondulados, fimbriados, inteiro ou denticulados), transparência (transparente, opaca ou translúcida), brilho (fosco ou brilhante), pigmentação (ausente ou presente), superfície (lisa ou rugosa) e a consistência (cremosa, mucóide ou quebradiça). Esses dados estão presentes na Tabela 1 presente nos Apêndices.

2.4 COLORAÇÃO GRAM

Ao realizar a caracterização morfológica das bactérias, as amostras foram submetidas ao teste Gram, onde utilizou-se os seguintes procedimentos: inicialmente, o esfregaço foi revestido pelo cristal violeta por 1 minuto, depois foi lavado com água. Em seguida, utilizou-se o lugol por 1 minuto e lavou-se novamente com água, após isso o esfregaço foi revestido com álcool por 30 segundos. Para finalizar o procedimento, foi aplicado a fucsina, num período de 30 segundos, lavou-se com água e foi colocado para secar e posteriormente observados em microscópio óptico.

2.5 SIMILARIDADE GENÉTICA

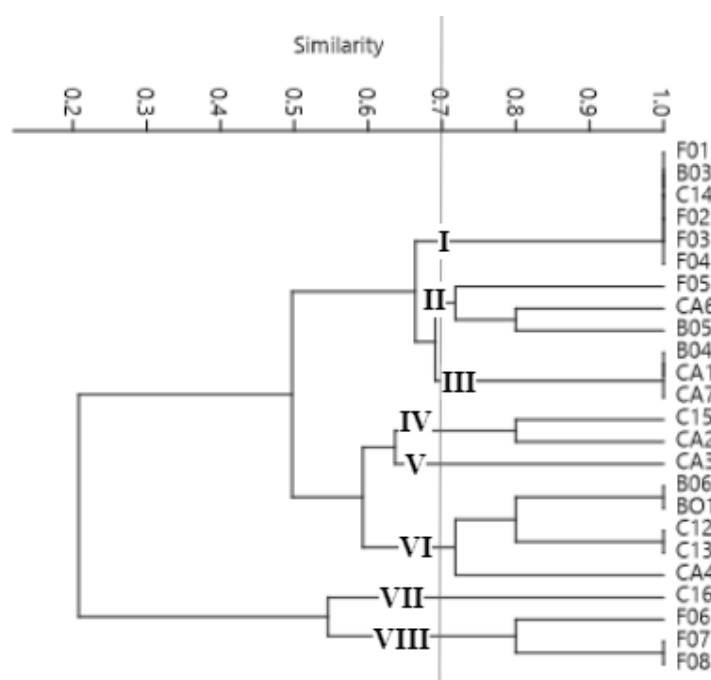
Os dados obtidos da caracterização morfocultural foram sujeitos a cálculos de similaridade e diversidade pelo método de UPGMA, utilizando índice de Jaccard para a construção do dendrograma, sendo produzido por meio do programa Past.

3. RESULTADOS

Diante dos resultados obtidos na caracterização morfológica, os mesmos foram utilizados para definição de oito grupos com 70% (setenta) de similaridade mutuamente. Oito coletividades (I, II, III, IV, V, VI, VII e VIII) com 70% (setenta) de semelhança diante da rizosfera de banana prata anã, cana-de-açúcar, BRS capiaçu e feijão-caupi respectivamente, totalizando um total de 5 (cinco) grupos que se distinguiram a partir da forma (puntiforme, circular, irregular, filamentosa), elevação (espraiada, convexa baixa ou alta, bosselada,

papilada), bordos (ondulados, fimbriados, inteiro ou denticulados), transparência (transparente, opaca ou translúcida), brilho (fosco ou brilhante), pigmentação (ausente ou presente), superfície (lisa ou rugosa) e a consistência (cremosa, mucóide ou quebradiça). Esses dados podem ser observados na Figura 1.

Figura 1. Levantamento e caracterização morfocultural de rizobactérias isoladas a partir de banana prata anã, cana-de-açúcar, BRS capiaçu e feijão-caupi cultivados na horta didática do IFPI campus São João do Piauí (FO: feijão caupi; BO: banana-prata-anã; C: cana-de-açúcar; CA: BRS capiaçu).

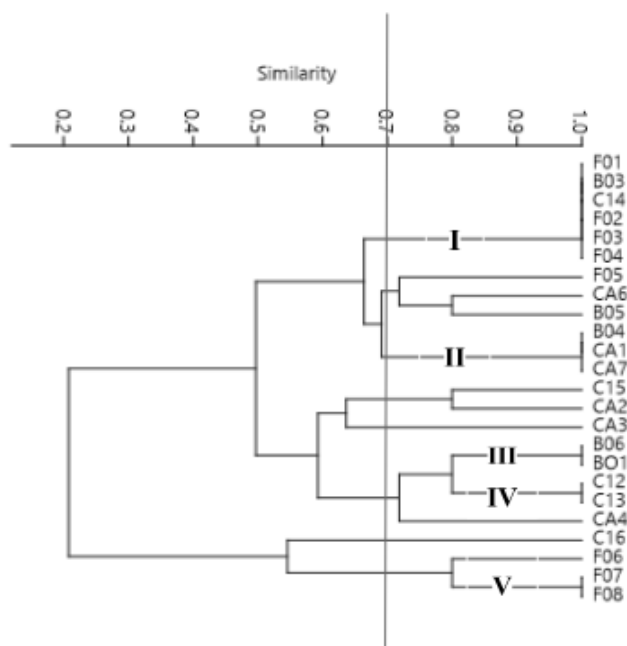


Programa Past (2024)

Resultados semelhantes também foram obtidos por Pinton *et al.*, 2010 que trabalhava com agrupamentos de rizobactérias isolados de hortaliças quanto a sua morfologia cultural. Os presentes autores obtiveram que as características morfológicas mais frequentes foram com relação a borda sendo lisa, a sua forma circular, a aparência homogênea e a falta de aderência da colônia no ambiente de cultivo.

Diante da obtenção desses oito grupos, obteve-se cinco grupos onde individualmente possuem características iguais, os mesmo possuem diferença de 79,16% na forma circular, 83,3% de bordos inteiros, 91,66% possuindo superfície lisa, 54,16% sendo transparentes, 62,5% brilhantes, 75% com pigmentação ausente, 66,66% das bactérias eram cremosas e todas elas possuíram 100% da coloração gram positiva (roxa), como representada na Figura 2.

Figura 2. Cinco grupos de bactérias que possuem características iguais.



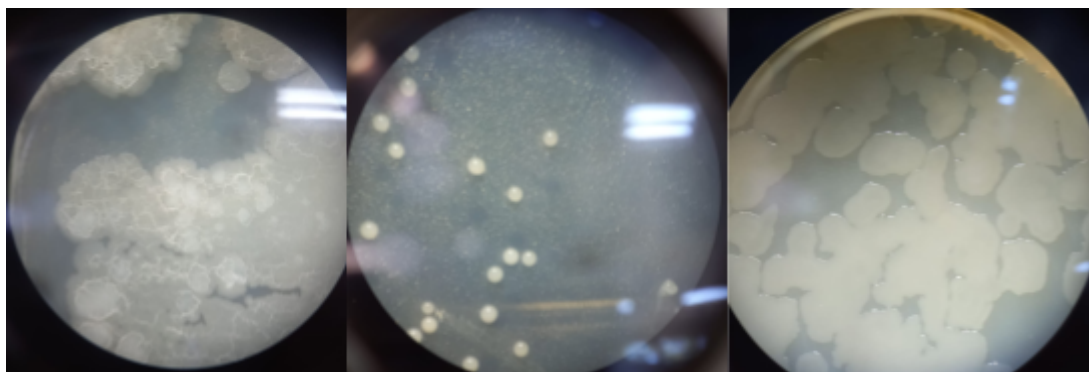
Programa Past (2024)

No dendograma, as bactérias apresentadas no grupo I, II, III e IV apresentam semelhanças por possuírem forma circular, a partir do grupo I foi identificado que as bactérias são transparentes, brilhantes e possuem pigmentação, além disso tem uma consistência mucóide. No grupo II são transparentes e brilhantes mas não possuem pigmentação presente, esse grupo também apresentou consistência com muco. O grupo III apresenta bordos inteiros e são opacos, porém brilhantes e sem pigmentação, as mesmas têm elevação convexa alta, e possuem sua consistência cremosa.

As bactérias do grupo IV formada pelos isolados de cana-de-açúcar são opacas, brilhantes e sem pigmentação, com consistência cremosa e elevação convexa baixa. O grupo V é que mais se diferencia dos demais grupos, pois possuem forma irregular, tem uma elevação espalhada com bordos denticulados, são translúcidas, com brilho fosco, sem pigmentação presente e tem uma consistência quebradiça.

Foram identificadas na caracterização dessas bactérias, que surgiram diversidades de colônias, possuindo colorações verdes, amarelas, laranja, e em grande parte a coloração branca e incolor. Assim como no estudo desenvolvido por Oliveira *et al.*, 2021, que avaliaram as características morfológicas de 40 rizobactérias isoladas de nódulos de leguminosas, resultou na predominância da cor branca, sendo a que mais se destacou dentre as rizobactérias obtidas. Na Figura 3 podem ser observadas alguns tipos de bactérias obtidas.

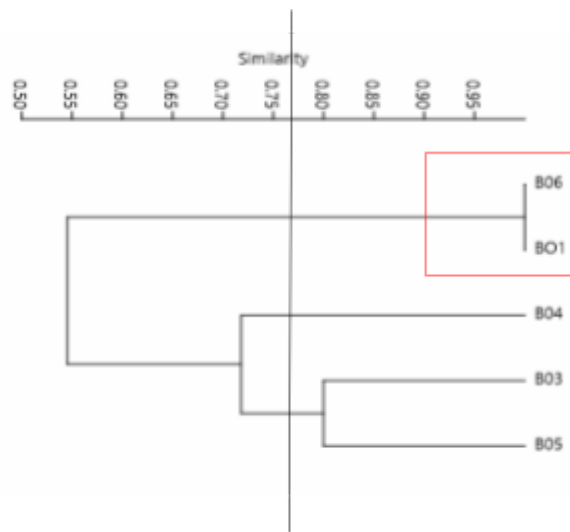
Figura 3. Diversidade de rizobactérias obtidas na caracterização das bactérias



Autoria própria (2024)

De acordo com os resultados obtidos, na rizosfera que colonizava as raízes no plantio de banana prata anã, pode-se observar os agrupamentos de 70% de similaridade das colônias. Nesse local foram obtidos três grupos de colônias, sendo que um desses grupos apresentou características idênticas entre elas, conforme está sendo representado na Figura 4.

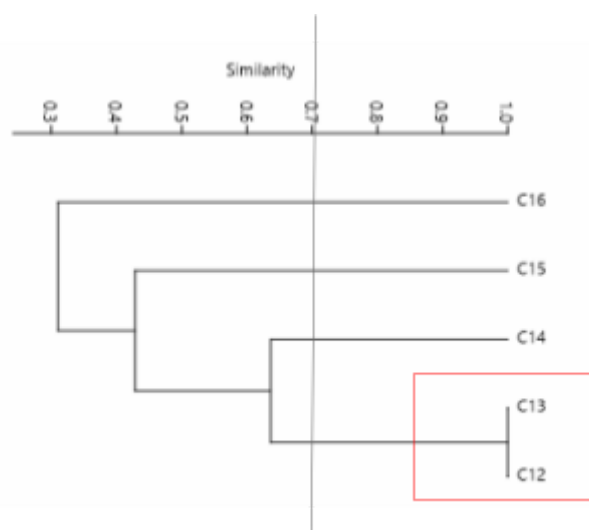
Figura 4. Levantamento e caracterização morfocultural de rizobactérias isoladas a partir de banana prata anã.



Programa Past (2024)

Na rizosfera em que estava presente o cultivo de cana-de-açúcar apresentou diversificações de colônias, diante da similaridade em 70%, podendo ser observado na Figura 5. O dendrograma aponta quatro grupos distintos, sendo que um desses grupos possuem semelhanças iguais.

Figura 5. Levantamento e caracterização morfocultural de rizobactérias isoladas a partir da cana-de-açúcar.

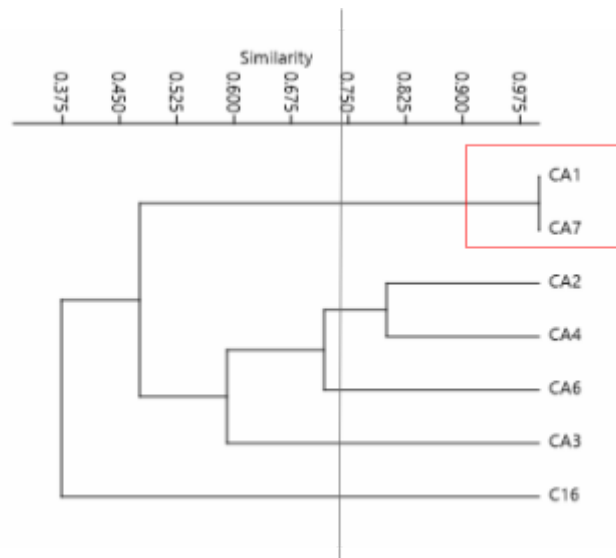


Programa Past (2014)

Na coleta desenvolvida na rizosfera do cultivo de BRS capiaçu, sendo observado também pela similaridade de 70%. Em relação às demais colônias, a mesma foi a que mais

apresentou grupos diversificados, possuindo cinco grupos distintos de bactérias, diante do que mostra a Figura 6. Um desses grupos apresentam morfologias idênticas.

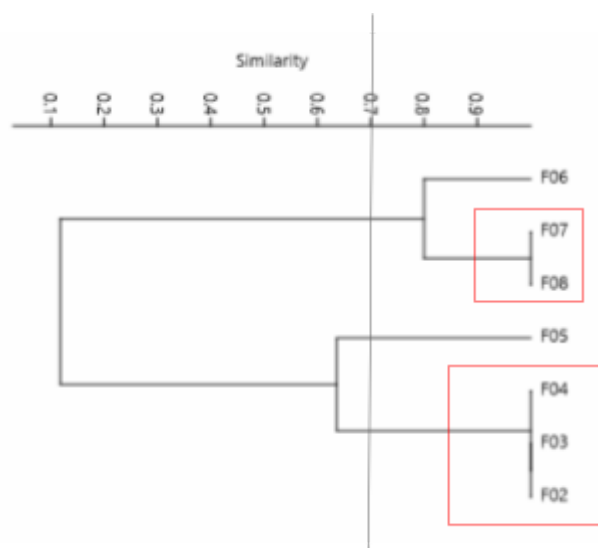
Figura 6. Levantamento e caracterização morfocultural de rizobactérias isoladas a partir do BRS capiaçu.



Programa Past (2024)

A análise feita diante das características morfológicas, com 70% de similaridade do feijão-caupi, apresentou três grupos distintos. Essa análise obteve-se a maior parte de bactérias semelhantes, sendo que nessas coletividades têm dois grupos de bactérias idênticas. Essas informações podem ser analisadas na Figura 7.

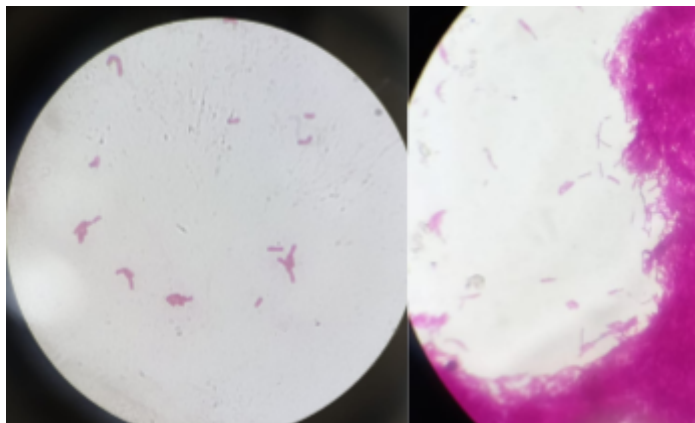
Figura 7. Levantamento e caracterização morfocultural de rizobactérias isoladas a partir do feijão-caupi.



Programa Past (2024)

Após os resultados obtidos das características morfológicas, fez-se o processo do teste Gram, para fazer identificar se essas bactérias eram Gram-positiva ou Gram-negativa. Essas colônias apresentaram-se sendo todas Gram-positivas, possuindo uma coloração roxa, como mostra a Figura 8.

Figura 8. Análises do teste Gram



Autoria própria (2024)

De acordo com isto, pode-se observar a grande diversidade de bactérias presentes no solo, e o quanto essas bactérias podem contribuir para o desenvolvimento dessas plantas. A utilização do dendrograma permitiu relacionar as diferenças de bactérias que podem estar presentes ou não em diferentes ambientes. Atualmente, diversos gêneros de rizobactérias podem ajudar em diferentes meios de ação, contribuindo para que a planta possa combater estresses abióticos e bióticos para produzir e sobreviver (Silva *et al.*, 2022).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho, as bactérias foram obtidas por meio da coleta de amostra das raízes das plantas da banana-prata-anã, da cana-de-açúcar, do BRS capiaçu e do feijão-caupi, utilizando o trado para a coleta dessas raízes. Assim sendo contabilizadas a quantidade de 24 bactérias. sendo 20,8% de banana Prata anã, 20,8% de cana-de-açúcar, 25% de BRS Capiáçu e 33,4% de feijão-caupi.

Para a caracterização das bactérias, e identificação das suas diferentes características morfológicas observou-se: a forma, podendo ser puntiforme, circular, irregular ou filamentosa, a elevação, sendo espalhada, elevada, convexa alta ou baixa, bosselada e papilada, os bordos, em ser ondulado, fimbriado, denticulado ou inteiro, sua transparência, analisando se eram transparente, opaca ou translúcida e o brilho, sendo fosco ou brilhante,

analisou-se a pigmentação, podendo ser ausente ou presente, a superfície podendo ser rugosa ou lisa e a cremosidade, se era cremosa, mucóide ou quebradiça.

O uso do dendrograma permitiu que observar a diversidade de bactérias que estão presentes no solo da horta didática do Instituto Federal do Piauí, campus São João do Piauí, assim possibilitou a identificação de diferentes rizobactérias que podem ser encontradas em rizosferas com plantio distintos, assim também como bactérias idênticas em um mesmo ambiente.

REFERÊNCIAS

BENETTI, Ricardo. Utilização de rizobactérias promotoras de crescimento em plantas em co-inoculação e na parte aérea da soja (*Glycine max*). 2017.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA . **Censo Brasileiro de 2022**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022.

MARCHETTI, Marithsa Maiara; BARP, Elisete Ana. Efeito rizosfera: a importância de bactérias fixadoras de nitrogênio para o solo/planta–revisão. **IGNIS Periódico Científico de Arquitetura e Urbanismo Engenharias e Tecnologia de Informação**, p. 61-71, 2015.

MOREIRA, José Luciano Bezerra; CARVALHO, Cibele Barreto Mano de; FROTA, Cristiane Cunha. Visualização bacteriana e colorações. 2015.

OLIVEIRA, G. S. et al. Diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi cultivado em solos com e sem a aplicação de biochar. 2017.

PERBONI, Anelise Tessari. Desempenho de plantas de canola originadas de sementes microbiolizadas com bactérias promotoras de crescimento. 2014.

PINTON, Rachel Pinton *et al.*, Caracterização morfocultural, biossíntese de autoindutor e formação de biofilme por rizobactérias de hortaliças. **Pesq. agropec.**, v.45, n.3. 2010.

REBIÈRE, Carolina. Identificação molecular e fenotípica de bactérias de solo rizosférico com tolerância ao fungicida Mancozeb, em Manaus, Estado do Amazonas, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 2, p. 7-7, 2015.

ROCHA, Lorrany de Souza. Avaliação do padrão comercial de bananas (Grand Naine e Prata Ana) cultivadas no Distrito Federal. 2018.

SILVA, Mariana Aguiar e cols. Rizobactérias multifuncionais: utilização na agricultura. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento** , v. 11, n. 4, 2022.

TAVEIRA, Karine dos Santos. Desempenho agrônômico de genótipos de bananeira no Distrito Federal. 2018.

APÊNDICES

TABELA

Tabela 1. Caracterização Morfológica das Rizobactérias

Bactérias	Forma					Elevação					Bordos			
	Puntiforme	Circular	Irregular	Filamentosa	Espraiada	Elevada	Convexa alta	Convexa baixa	Bosselada	Papilada	Ondulado	Fimbriado	Inteiro	Denticulado
BO1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
B03	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
B04	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
B05	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
B06	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
C12	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
C13	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
C14	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
C15	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
C16	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
CA1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
CA2	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
CA3	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
CA4	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
CA6	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
CA7	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
F01	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
F02	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
F03	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
F04	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
F05	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0

F06	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
F07	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
F08	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Bactérias	Brilho				Pigmentação		Superfície		Consistência		
	Opaca	Translúcida	Fosco	Brilhante	Ausente	Presente	Rugosa	Lisa	Cremosa	Mucóide	Quebradiça
BO1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
B03	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0
B04	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0
B05	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
B06	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
C12	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
C13	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
C14	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0
C15	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
C16	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
CA1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0
CA2	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
CA3	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
CA4	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
CA6	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
CA7	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0
F01	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0
F02	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0
F03	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0
F04	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0
F05	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0

F06	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
F07	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1
F08	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1