



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS  
CAMPUS PALMAS  
CURSO SUPERIOR DE BACHARELADO EM ENGENHARIA AGRÔNOMICA**

**MARIA CRISTINA KALIL ROCHA**

**CARACTERIZAÇÃO DA CEPA BAC-AMY (*Bacillus Amyloliquefaciens*) QUANTO À  
PRODUÇÃO DE SUBSTÂNCIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE  
PLANTA.**

**PALMAS  
2025**

**MARIA CRISTINA KALIL ROCHA**

**CARACTERIZAÇÃO DA CEPA BAC-AMY (*Bacillus Amyloliquefaciens*) QUANTO À  
PRODUÇÃO DE SUBSTÂNCIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE  
PLANTA.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Engenharia Agrônômica da Unidade *Campus* Palmas, do Instituto Federal do Tocantins, como exigência à obtenção do título de Bacharela em Engenharia Agrônômica.

Orientador: Dr. Alexandre Neves Franco.  
Coorientador: Dr. Rodrigo Vêras da Costa.

**PALMAS  
2025**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Bibliotecas do Instituto Federal do Tocantins**

---

R672c Rocha, Maria Cristina Kalil  
CARACTERIZAÇÃO DA CEPA BAC-AMY (Bacillus  
Amyloliquefaciens) QUANTO À PRODUÇÃO DE SUBSTÂNCIAS  
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTA / Maria Cristina Kalil  
Rocha. – Palmas, TO, 2025.  
56 p. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) –  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, Campus  
Palmas, Palmas, TO, 2025.

Orientador: Dr. Alexandre Neves Franco  
Coorientador: Dr. Rodrigo Véras da Costa

1. Bioinsumos. 2. Microbiologia Agrícola. 3. Zea mays. I. Franco,  
Alexandre Neves. II. Costa, Rodrigo Véras da. III. Título.

**CDD 630**

---

A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio, deste documento é autorizada para fins de estudo e  
pesquisa, desde que citada a fonte.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica do IFTO com os dados fornecidos pelo(a)  
autor(a).



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS  
CAMPUS PALMAS - TO  
COORDENAÇÃO DO CURSO SUPERIOR BACHARELADO EM ENGENHARIA AGRÔNOMICA

**MARIA CRISTINA KALIL ROCHA**

**CARACTERIZAÇÃO DA CEPA BAC-AMY (*Bacillus amyloliquefaciens*) QUANTO À PRODUÇÃO DE SUBSTÂNCIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso Superior Bacharelado em Engenharia Agrônômica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins - *Campus* Palmas - TO, como exigência à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Aprovado em: 04 de julho de 2025

**BANCA AVALIADORA**

**Prof. Dr. Alexandre Neves Franco**  
IFTO - Campus Palmas - TO.

**Prof. Dr. Joaquim José De Carvalho**  
IFTO - Campus Palmas - TO.

**Prof. Dr. Otavio Cabral Neto**  
IFTO - Campus Palmas - TO.

Palmas - TO, 04 de julho de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Neves Franco, Servidor**, em 04/07/2025, às 15:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Otavio Cabral Neto, Servidor**, em 04/07/2025, às 15:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Joaquim Jose de Carvalho, Servidor**, em 04/07/2025, às 15:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ifto.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ifto.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2827915** e o código CRC **E8308CDB**.



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS

Campus Palmas 310 Sul, Av. LO 5, s/n, esquina com a Avenida NS 10 - Plano Diretor Sul — CEP 77021-090 Palmas/TO - [portal.ifto.edu.br](http://portal.ifto.edu.br) — [reitoria@ifto.edu.br](mailto:reitoria@ifto.edu.br)

Referência: Processo nº 23236.014456/2025-55

SEI nº 2827915

## Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu querido pai, Jarrier Franklin Viana Rocha, e ao meu querido avô, Josias Araújo Rocha (*in memoriam*), cujos exemplos de força, amor e dignidade permanecem vivos em mim e me inspiram todos os dias.

## **Agradecimentos**

A Deus por ser o meu refúgio e fonte de vida.

Ao meu orientador Alexandre e coorientador Rodrigo Vêras, por todo o apoio e incentivo. Agradeço a oportunidade de orientação e por cada contribuição que marcou, de forma significativa e permanente meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao Instituto Federal do Tocantins pela estrutura de ensino e a todos os professores que fizeram parte da minha formação e me guiaram no caminho da excelência.

À minha família pelo apoio incondicional. Agradeço às minhas irmãs e mãe: Luiza, Mariana e Rose, pelo carinho e parceria. Agradeço em especial meu ao meu pai Jarrier (*in memoriam*), por ter sido minha maior fonte de incentivo, carinho e cuidado incondicional. Ao meu avô Josias (*in memoriam*), por ter sido meu grande exemplo de profissionalismo e dedicação. À minha avó Tereza, por todo o zelo e cuidado que tem por mim, pelo exemplo de dedicação e perseverança, e tornar possível a minha formação.

À Embrapa Pesca Aquicultura e Sistemas agrícolas e à Embrapa Milho e Sorgo por me proporcionarem todo o suporte necessário à realização do trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins (FAPT) pela concessão da bolsa. Agradeço ao pesquisador Valdinei, por cooperar com a viabilização do trabalho.

A todos os amigos do Laboratório de Fitopatologia e outros grupos da Embrapa: Micaele, Agnelia, Arthur, Pedro, Gustavo, João, Myria e Bia. Agradeço por todo o apoio, pelas horas de trabalho, ensinamentos e vivências compartilhadas.

Agradeço ao meu querido companheiro Levi, pelo apoio incondicional. Por acreditar no meu potencial e não me deixar desistir nos momentos mais difíceis.

Agradeço aos queridos colegas e pesquisadores dos laboratórios de Fitopatologia e Microbiologia do Solo: Gisele, Vitória, Victor, Fernanda, Denise, Laisla, Paula, José Edson, Dagma, Luciano, Christiane e Ivanildo. Vocês tornaram possível a realização desse trabalho e ampliaram minha percepção quanto às possibilidades profissionais.

Agradeço à dona Izabel e ao seu Nélio, por terem sido verdadeiros pais enquanto estive em Sete Lagoas, por terem me acolhido como filha e por me mostrarem que Deus cuida de nós nos mínimos detalhes.

À banca examinadora Dr. Joaquim Carvalho e Dr. Otávio Neto, por aceitarem o convite e contribuírem com o trabalho.

Muito obrigada!

## RESUMO

A crescente demanda por práticas agrícolas sustentáveis tem incentivado o desenvolvimento de alternativas que reduzam a dependência de insumos químicos e promovam maior equilíbrio nos sistemas produtivos. Nesse contexto, os bioinsumos microbianos surgem como uma estratégia promissora, destacando-se pelo seu potencial na promoção de crescimento vegetal e aumento da resiliência das plantas frente a estresses ambientais. Este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização funcional da cepa *Bacillus amyloliquefaciens* (Bac-Amy), isolada no Estado do Tocantins, quanto a sua capacidade de promoção de crescimento em plantas, bem como, sua tolerância a estresses abióticos. Foram conduzidos testes para avaliação da produção de ácido indolacético (AIA), capacidade de fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, formação de biofilme, produção de exopolissacarídeos (EPS) e crescimento sob condições de estresse salino e hídrico. Também foi realizado um ensaio em câmara de crescimento para avaliar a capacidade da cepa em promover o desenvolvimento de plantas de milho (*Zea mays*). A cepa Bac-Amy demonstrou elevada produção de AIA, desempenho positivo na fixação de nitrogênio e alta eficiência na solubilização de fósforo em meio líquido. Embora tenha apresentado formação de biofilme classificada como fraca, a produção significativa de EPS e a capacidade de crescer sob altas concentrações de NaCl (até 10%) e atividade de água reduzida ( $a_w$  0,897) indicam uma elevada tolerância a condições adversas. No experimento em câmara de crescimento, Bac-Amy proporcionou incrementos às variáveis morfológicas do sistema radicular, com desempenho semelhante ao de cepas comerciais já aplicadas no mercado. Esses resultados indicam que a Bac-Amy possui características desejáveis para uso como bioinsumo multifuncional, reunindo propriedades que favorecem tanto o crescimento das plantas quanto sua adaptação a estresses ambientais.

**Palavras-chave:** Bioinsumos. Microbiologia Agrícola. *Zea mays*.

## ABSTRACT

The growing demand for sustainable agricultural practices has driven the development of alternatives that reduce dependence on chemical inputs and promote greater balance in production systems. In this context, microbial bioinputs emerge as a promising strategy, distinguished by their potential to promote plant growth and enhance plant resilience to environmental stresses. This study aimed to perform a functional characterization of the strain *Bacillus amyloliquefaciens* (Bac-Amy), isolated in the State of Tocantins, regarding its ability to promote growth plants as well as its tolerance to abiotic stresses. Tests were conducted to evaluate indole-3-acetic acid (IAA) production, biological nitrogen fixation capacity, phosphate solubilization, biofilm formation, exopolysaccharide (EPS) production, and growth under saline and drought stress conditions. Additionally, a growth chamber assay was performed to assess the strain's capacity to enhance the development of maize plants (*Zea mays*). The Bac-Amy strain demonstrated high IAA production, positive performance in nitrogen fixation, and high efficiency in phosphate solubilization in liquid medium. Although classified as a weak biofilm former, significant EPS production and the ability to grow under high NaCl concentrations (up to 10%) and reduced water activity ( $a_w$  0.897) indicate strong tolerance to adverse conditions. In the growth chamber experiment, Bac-Amy promoted increases in morphological variables of the root system, performing similarly to commercial strains already applied in the market. These results indicate that Bac-Amy possesses desirable characteristics for use as a multifunctional bioinput, combining properties that favor both plant growth and adaptation to environmental stresses.

**Keywords:** Biological inputs. Agricultural Microbiology. *Zea mays*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cromatograma obtido no sequenciamento do gene <i>gyrA</i> da cepa Bac-Amy .....	29
Figura 2 - Produção de AIA em microplaca Deep Well .....	30
Figura 3 - Fixação de Nitrogênio .....	32
Figura 4 - Mineralização de fosfato pela formação de halo claro ao redor das colônias em meio com fósforo orgânico .....	34
Figura 5 - Formação de Biofilme .....	36
Figura 6 - Formação de formação de colônias mucosas: indicativos da produção de EPS .....	38
Figura 7 - Produção de precipitado em etanol absoluto .....	38
Figura 8 - Crescimento das colônias em meio enriquecido com NaCl .....	39
Figura 9 - Crescimento das colônias em meio enriquecido com sorbitol .....	40
Figura 10 - Condução de experimento em câmara de crescimento .....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIA.	Ácido Indolacético
ANOVA.	Análise de Variância
AS <sub>1</sub> .	Área de Superfície - raízes com diâmetro de raízes diâmetro entre 0,0 e 1,0 mm
AS <sub>2</sub> .	Área de Superfície - raízes com diâmetro de raízes diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm
AS <sub>3</sub> .	Área de Superfície - raízes com diâmetro de raízes diâmetro entre 2,0 e 4,5 mm
AST.	Área de Superfície Total
Aw.	<i>Water Activity</i>
Bac-Amy.	Cepa da bactéria <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
BLASTn	<i>Basic Local Alignment Search Tool - nucleotide</i>
CaCl <sub>2</sub> .	Cloreto de Cálcio
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O.	Cloreto de Cálcio Di-hidratado
CT.	Comprimento Total
DL.	Dextrógiros-Levógiros (forma racêmica de aminoácidos)
DO.	Densidade Óptica
Doa.	Densidade óptica da absorbância
Docn.	Densidade óptica do controle negativo
EMBRAPA.	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPS.	Exopolissacarídeos
FeSO <sub>4</sub>	Sulfato Ferroso
FeCl <sub>3</sub> .	Cloreto de Ferro
IS.	Índice de Solubilização
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .	Fosfato Dipotássico
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .	Fosfato Monopotássico
LB.	Luria Bertani (meio de cultura bacteriano)
MgCl <sub>2</sub> .	Cloreto de Magnésio
MgSO <sub>4</sub> .	Sulfato de Magnésio
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.	Sulfato de Magnésio Heptahidratado
MnSO <sub>4</sub> .	Sulfato de Manganês
MPCP.	Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas

MSF.	Microrganismos Solubilizadores de Fosfatos
N.	Nitrogênio
$\text{Na}_6\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_{24}\text{P}_6$ .	Fitato de sódio
NCBI.	National Center for Biotechnology Information
NFb.	<i>Nitrogen Free Broth</i> (meio livre de nitrogênio)
NIBRIP.	National Botanical Research Institute of Phosphate
$\text{Na}_2\text{MoO}_4$ .	Molibdato de Sódio
NaCl.	Cloreto de Sódio
P.	Fósforo
SISVAR.	Sistema de Análise de Variância
TSA.	Tryptic Soy Agar (Ágar Triptona Soja)
TSB.	Tryptic Soy Broth (Caldo Triptona Soja)
UFC.	Unidades Formadoras de Colônias
UV/VIS.	Ultravioleta/Visível
VR.	Volume de Raiz

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1 Problematização</b> .....	<b>14</b>
<b>1.2 Objetivos</b> .....	<b>16</b>
1.2.1 Objetivo Geral .....	16
1.2.2 Objetivos Específicos .....	16
<b>1.3 Justificativa</b> .....	<b>17</b>
<b>2 DESENVOLVIMENTO</b> .....	<b>19</b>
<b>2.1 Revisão de Literatura</b> .....	<b>19</b>
2.1.1 O papel dos bioinsumos microbianos na promoção de uma agricultura sustentável .....	19
2.1.2 Microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCPs) .....	20
2.1.3 O gênero Bacillus e suas vantagens biotecnológicas na agricultura .....	21
<b>2.2 Metodologia</b> .....	<b>22</b>
2.2.1 Identificação Molecular .....	22
2.2.2 Produção de ácido indolacético (AIA) .....	22
2.2.3 Fixação de nitrogênio .....	23
2.2.4 Solubilização de fosfatos .....	24
2.2.5 Formação de biofilme .....	25
2.2.6 Produção de exopolissacarídeos (EPS) .....	26
2.2.7 Tolerância ao estresse salino .....	26
2.2.8 Tolerância ao estresse hídrico .....	27
2.2.9 Teste de promoção de crescimento de milho em câmara de crescimento .....	27
2.2.10 Análise estatística .....	28
<b>2.3 Resultados e Discussão</b> .....	<b>29</b>
2.3.1 Identificação Molecular .....	29
2.3.2 Produção de ácido indolacético (AIA) .....	30
2.3.3 Fixação de nitrogênio .....	33
2.3.4 Solubilização de fosfatos .....	34
2.3.5 Formação de biofilme .....	36
2.3.6 Produção de exopolissacarídeos (EPS) .....	37
2.3.7 Tolerância ao estresse salino e hídrico .....	39
2.3.8 Teste de promoção de crescimento de milho em câmara de crescimento .....	41
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>45</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>46</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura moderna enfrenta grandes desafios, como a busca por conciliar o abastecimento da crescente demanda por alimentos com a redução dos impactos ambientais gerados pela produção agrícola (FAO, 2022).

O uso intensivo de fertilizantes e pesticidas químicos protagoniza o cenário preocupante desses impactos, principalmente relacionados à degradação do solo, poluição dos recursos hídricos e aos potenciais riscos à saúde humana e animal (FAO, 2022).

O Estado do Tocantins tem se destacado como um importante polo agrícola do Brasil, especialmente para a produção de grãos como soja, milho e arroz, além de expressivo potencial de expansão das atividades agropecuárias (FRAGOSO; CARDOSO, 2022).

Apesar desse crescimento contínuo, o estado e outras regiões que compreendem o cerrado de baixa altitude, possuem limitações no rendimento dos cultivos de grãos em função de fatores abióticos decorrentes de estresse hídrico, tipo de solo e baixos níveis de fertilidade (BARROSO *et al.*, 2017). Além disso, observa-se a crescente busca por meios de produção mais seguros e sustentáveis do ponto de vista ambiental, tendo sido um dos principais alvos de pesquisas do setor agrícola na atualidade (CANTARELLI; MORENO, 2024).

Nesse sentido, o uso de Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas (MPCP) nas culturas agrícolas apresenta-se como forte aliada para aumento de produtividade, por seu potencial na redução dos efeitos de déficit hídrico e salinidade, na produção de hormônios vegetais e no controle de patógenos (DIAS; SANTOS, 2022; GOMES *et al.*, 2016).

A bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* é um habitante do solo que possui grande potencial para promover o crescimento de plantas, contribuindo para a melhoria do desempenho e da produtividade das culturas. Essa espécie bacteriana é conhecida por suas múltiplas capacidades benéficas, como a produção de fito-hormônios, que estimulam o desenvolvimento das raízes, e a solubilização de nutrientes, como fósforo e potássio, tornando-os mais acessíveis para as plantas (SAHARAN; NHERA, 2011; CHEN; LIU, 2019).

Além disso, *B. amyloliquefaciens* também pode produzir compostos antimicrobianos que ajudam a proteger as plantas contra patógenos, contribuindo para o controle biológico de doenças, o que reduz a necessidade de defensivos químicos (SOMERS; VANDERLEYDEN; SRINIVASAN, 2004; CHUNG *et al.*, 2008; NOVO *et al.*, 2018; IDRIS *et al.*, 2002).

O estudo da caracterização de cepas de *B. amyloliquefaciens* é fundamental para explorar e potencializar suas propriedades de interesse agrônomo. Este processo envolve

análise genética, fisiológica e bioquímica das cepas, permitindo a identificação das características específicas que contribuem para a promoção do crescimento das plantas e a supressão de patógenos (WU *et al.*, 2024).

A caracterização detalhada de cepas bacterianas com potencial possibilita a avaliação de sua capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais, incluindo variações de temperatura, umidade e tipo de solo (ROCHA *et al.*, 2021).

Essa avaliação é particularmente relevante para garantir a eficácia dos bioinsumos aplicados em diversas regiões agrícolas e culturas. A seleção de cepas com bom desempenho em condições específicas permite a aplicação direcionada desses microrganismos, maximizando seus benefícios e garantindo uma maior previsibilidade nos resultados (HASHIM; TABASSUM; ALLAH, 2019).

Portanto, a caracterização de cepas de *B. amyloliquefaciens* e o desenvolvimento de tecnologias baseadas em bioinsumos são fundamentais para a transição para uma agricultura mais sustentável e eficiente. Tais pesquisas permitem não apenas aumentar a produtividade agrícola, mas também reduzir o impacto ambiental e promover práticas de manejo mais seguras e ecológicas, como apontado por Kloepper e Schroth (1978).

Assim, a caracterização funcional de cepas promissoras, como a Bac-Amy, permite a seleção de microrganismos com maior eficiência agronômica, viabilizando o desenvolvimento de bioinsumos adaptados a condições específicas de cultivo e contribuindo para a consolidação de sistemas produtivos sustentáveis.

## 1.1 Problematização

O agronegócio sofre grande pressão para se tornar sustentável e reduzir seus impactos ambientais. Isso se deve ao aumento da conscientização mundial acerca de questões como desmatamento, mudanças climáticas e preservação ambiental. Nesse cenário, normas internacionais como o regulamento da União Europeia sobre produtos livres de desmatamento exigem que as empresas comprovem a conformidade ambiental de seus produtos (MORALLES, 2023).

Segundo Kischner *et al.* (2018), a sustentabilidade no agronegócio envolve a adoção de práticas que minimizem o uso de agroquímicos, promovam a conservação da biodiversidade e otimizem o uso dos recursos disponíveis.

A aplicação dos biofertilizantes oferece diversas vantagens para a agricultura. Além de promover o crescimento das plantas, os MPCP contribuem para a melhoria da qualidade do solo, favorecem a sustentabilidade da produção e auxiliam no enfrentamento dos desafios da agricultura moderna (SAMANTARAY, 2024). Dessa forma, o emprego de bioinsumos pode auxiliar na restauração de solos degradados e no aumento da resiliência das plantas a estresses abióticos, como a seca (VURUKONDA; GIOVANARDI; STEFANI, 2018).

Esses produtos mostram-se essenciais para a modelagem de uma agricultura mais ecológica. No entanto, é sabido que os microrganismos, em especial as bactérias, apresentam uma ampla variedade genética causada por fatores ambientais e interações específicas com seus hospedeiros, o que interfere diretamente no seu desempenho como MPCP, limitando a sua aplicação na agricultura (LONHIENNE; WATANAROJANAPORN; JAEMSAENG, 2020). Por essa razão, é essencial que estudos sejam conduzidos com microrganismos isolados do mesmo ambiente para o qual se pretende destinar a aplicação de um bioinsumo formulado.

A compatibilidade do microrganismo a condições ambientais específicas do local de sua aplicação é crucial para garantir a eficácia e a sustentabilidade dos biofertilizantes (OLIVEIRA *et. al.*, 2024). Estudos como o de Bashan *et al.* (2014) demonstram que microrganismos isolados localmente apresentam maior eficiência na promoção do crescimento das plantas e na supressão de patógenos, evidenciando a importância de caracterizar cepas regionais para o desenvolvimento de tecnologias agrícolas inovadoras e ecologicamente responsáveis.

Diante do exposto, a questão que norteia este trabalho é procurar saber se: a cepa Bac-Amy, isolada no Tocantins, possui características que a qualificam como um bioinsumo eficiente na promoção de crescimento vegetal e na tolerância a estresses abióticos?

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial da cepa Bac-Amy (*Bacillus amyloliquefaciens*) quanto à produção de fatores de promoção de crescimento vegetal.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar a produção de hormônio ácido indolacético (AIA);
- b) Avaliar a capacidade de fixação de nitrogênio;
- c) Avaliar a capacidade de solubilização de fosfatos;
- d) Avaliar a capacidade de formação de biofilme;
- e) Avaliar a produção de exopolissacarídeos (EPS);
- f) Avaliar o desenvolvimento da cepa sob condição de estresse hídrico e salino;
- g) Avaliar a capacidade de promoção de crescimento de milho em câmara de crescimento.

### 1.3 Justificativa

No Tocantins, desafios relacionados ao clima, práticas de manejo e fitossanidade impactam a produtividade agrícola e reforçam a necessidade de soluções integradas para o avanço do setor (FRAGOSO; CARDOSO, 2022). Junto a esses desafios está a crescente exigência pela adoção de práticas de manejo mais sustentáveis que envolvam a redução do uso de agroquímicos e fertilizantes industriais (FAO, 2022).

Fragoso e Cardoso (2022) ressaltaram que os desafios da agricultura no Tocantins demandam pesquisas em áreas diversas como taxonomia, ecologia, genética e biotecnologia. A busca por bactérias capazes de potencializar o desenvolvimento das plantas é uma estratégia sustentável para o aumento de produtividade e envolve etapas de isolamento inicial dos microrganismos, caracterização e introdução no sistema solo-planta (LEE *et al.*, 2025).

Nesse cenário, o uso de bioinsumos, como bactérias promotoras de crescimento de plantas, surge como uma alternativa promissora para tornar a produção agrícola mais sustentável e reduzir a dependência de insumos químicos convencionais (VURUKONDA; GIOVANARDI; STEFANI, 2018). Desse modo, a caracterização de cepas como Bac-Amy (*Bacillus amyloliquefaciens*) representa avanço ao desenvolvimento de bioinsumos alinhados à produção de alimentos, conservação do meio ambiente, da saúde humana e animal (DINIZ, 2022; LEE *et al.*, 2025).

O nitrogênio (N), um dos nutrientes mais importantes para o crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo o principal material constituinte das estruturas de organismos vegetais (AMTMANN; ARMENGAUD, 2009), além de um catalisador chave de vários processos fisiológicos e metabólicos das plantas (ORSEL *et al.*, 2006). Apesar da adubação nitrogenada proporcionar o aumento efetivo no rendimento produtivo de culturas agrícolas, o uso de fertilizantes nitrogenados em larga escala contribui para a poluição ambiental (NOSENGO, 2003). Dessa forma, é fundamental buscar alternativas que superem a limitação da disponibilidade natural de nitrogênio, sem intensificar os problemas ambientais associados ao uso excessivo de fertilizantes (WANG *et al.*, 2022).

O fósforo (P) é um nutriente abundante nos solos, porém sua disponibilidade para as plantas é limitada devido à forte ligação com elementos como ferro, alumínio e cálcio, que varia conforme o pH e a composição mineralógica do solo (KALAYU, 2019; AMARAL *et al.*, 2020). Microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF) têm um papel importante na transformação do fósforo indisponível no solo em formas acessíveis às plantas, aumentando a eficiência da utilização desse mineral no solo (FAN *et al.*, 2018). A solubilização feita por

MSF está associada à liberação de ácidos orgânicos, enquanto a mineralização está associada à produção de fosfatases que catalisam a mineralização enzimática do fósforo orgânico (CHEN; LIU, 2019). Como resultado, a atividade desses microrganismos eleva a concentração de fósforo disponível no solo, promovendo o desenvolvimento e o rendimento das plantas (BILLAH *et al.*, 2019).

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Revisão de Literatura

#### 2.1.1 O papel dos bioinsumos microbianos na promoção de uma agricultura sustentável

A intensificação agrícola das últimas décadas, impulsionada pela Revolução Verde, levou à dependência de insumos químicos como fertilizantes nitrogenados e fosfatados (MANNING, 2000). Apesar de terem ampliado significativamente a produção de alimentos, esses insumos contribuíram para a degradação ambiental, incluindo a contaminação dos recursos hídricos, o empobrecimento do solo e a perda de biodiversidade microbiana (FAO, 2022).

No Cerrado brasileiro, especialmente no Estado do Tocantins, essas questões são ainda mais críticas, pois os solos apresentam baixa fertilidade natural, alta acidez e baixa retenção de umidade, tornando a dependência de insumos externos ainda maior (FRAGOSO; CARDOSO, 2022). Nesse cenário, os bioinsumos à base de microrganismos surgem como alternativa promissora para melhorar a qualidade do solo, promover a ciclagem de nutrientes e reduzir a necessidade de produtos sintéticos (VURUKONDA; GIOVANARDI; STEFANI, 2018).

Atualmente, observa-se uma crescente tendência de adoção de práticas agrícolas mais sustentáveis, impulsionada pela maior conscientização acerca dos impactos ambientais adversos associados à agricultura convencional (RAMAKRISHNA; YADAV; LIB, 2019). Além dos impactos causados pela agricultura convencional, fatores ambientais como secas prolongadas e aumento da temperatura média global, causados pelas mudanças climáticas globais, representam uma ameaça crescente à agricultura atual (AHUJA; VOS; BONES; HALL, 2010).

Por serem componentes naturais do ecossistema do solo, as rizobactérias exercem um papel importante na regulação da fertilidade, na ciclagem de nutrientes e na manutenção da diversidade vegetal (FITZSIMONS; MILLER, 2010). Dentro da perspectiva abordada, os bioinsumos microbianos proporcionam incrementos ao desenvolvimento de culturas agrícolas, atribuindo sustentabilidade à produção de alimentos (RICCI; TILBURY; DARION; SUKALAC, 2019).

### 2.1.2 Microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCPs): fundamentos e mecanismos

MPCPs são microrganismos capazes de estimular o crescimento vegetal por mecanismos diretos e/ou indiretos, colonizando a rizosfera, epiderme radicular ou até os tecidos internos das plantas e estabelecendo interações benéficas (VESSEY, 2003). Entre os mecanismos diretos, destacam-se a produção de fitohormônios, como o ácido indolacético (AIA), a fixação biológica de nitrogênio, a solubilização de fósforo e a produção de <sup>1</sup>metabólitos secundários (CHEN *et al.*, 2009). Já os mecanismos indiretos envolvem a supressão de fitopatógenos por antibiose, competição por nutrientes, produção de enzimas degradadoras de parede celular de fungos e indução de resistência sistêmica em plantas (SOMERS *et al.*, 2004).

A produção de AIA, por exemplo, regula processos fisiológicos essenciais como o alongamento celular, formação de raízes laterais e diferenciação de tecidos vegetais (SAHARAN; NHERA, 2011; WAGI; AHMED, 2019). A rota mais comum nos MPCPs é a via do triptofano, na qual a enzima indol-3-piruvato descarboxilase (IpdC) converte triptofano em indol-3-acetaldeído, precursor direto do AIA (SAHARAN; NHERA, 2011).

Já a solubilização de fósforo ocorre principalmente por meio da excreção de ácidos orgânicos, como o cítrico, láctico e gluconato, que reduzem o pH do solo e promovem a liberação do P de compostos insolúveis (GRAÇAS *et al.*, 2015). Esse processo depende da expressão coordenada de genes, cuja presença tem sido associada a cepas com alta atividade solubilizadora (IDRISS *et al.*, 2002). A mineralização de fósforo orgânico também é relevante e se dá por meio da ação de enzimas como fitases, fosfatases ácidas e alcalinas, que transformam compostos orgânicos de fósforo em formas assimiláveis pelas plantas (CHEN; LIU, 2019).

Em condições de estresse abiótico, a produção de exopolissacarídeos (EPS) por *Bacillus* spp. auxilia na aderência às raízes de plantas e proteção celular, favorecendo a sobrevivência e funcionalidade desses microrganismos (HASHEM *et al.*, 2019). A produção de EPS favorece a formação de biofilmes, o que contribui para o aumento de tolerância das cepas bacterianas a condições extremas, como a acidez do solo, característica comum em

---

<sup>1</sup> *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 produz diversos metabólitos secundários com ação benéfica às plantas, como os lipopeptídeos surfactina, fengicina e bacillomicina D (com ação antifúngica), os poliquetídeos difficidina, bacillaeno e macrolactina (com ação antibacteriana) (CHEN *et al.*, 2009).

ambientes do Cerrado (PARRILLI; TUTINO; MARINO, 2022; FRAGOSO; CARDOSO, 2022).

### 2.1.3 O gênero *Bacillus* e suas vantagens biotecnológicas na agricultura

O gênero *Bacillus* destaca-se entre os MPCPs por sua alta capacidade de resistência a condições adversas de temperatura, radiação, pH e dessecação, o que favorece sua utilização em formulações estáveis com longa vida útil (SLEPECKY; HEMPHILL, 2006).

Espécies como *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* e *B. amyloliquefaciens* são amplamente aplicadas na agricultura por sua multifuncionalidade (OLIVEIRA; URQUIAGA; BALDANI, 2003; SOUSA *et al.*, 2021). Esses microrganismos produzem diversos lipopeptídeos, como surfactina, fengicina e bacilomicina, que atuam como compostos antimicrobianos naturais contra fungos e bactérias patogênicas (CHUNG *et al.*, 2008; ZAID *et al.*, 2022). Esses microrganismos também podem atuar na formação de compostos chamados de biofilme, que atuam na aderência do microrganismo à superfície das raízes, permitindo uma colonização mais estável e duradoura, com maior acesso às exsudações radiculares e interação com o hospedeiro (FLEMMING; WINGENDER, 2010).

Outra capacidade que tem sido demonstrada por espécies do gênero *Bacillus* está associada à promoção direta de crescimento vegetal, em um exercício do papel de biofertilizante e fitoestimulante nos sistemas agrícolas (GRAÇAS *et al.*, 2015). Além disso, a adaptabilidade de *Bacillus* a diferentes condições de cultivo e sua rápida taxa de crescimento justificam sua ampla adoção em biofertilizantes e produtos comerciais de biocontrole (SLEPECKY; HEMPHILL, 2006).

## 2.2 Metodologia

### 2.2.1 Identificação Molecular

A cepa Bac-Amy (*Bacillus amyloliquefaciens*) tem origem em isolamentos de materiais vegetais, realizados pelo Laboratório de Fitopatologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) unidade Pesca, Aquicultura e Sistemas Agrícolas, em Palmas – Tocantins. Atualmente, a cepa encontra-se depositada na coleção de microrganismos da EMBRAPA unidade Milho e Sorgo, em Sete Lagoas – Minas Gerais, preservada a -20 °C em solução de glicerol a 20%.

A identificação molecular da cepa foi realizada no Núcleo de Biologia Aplicada da EMBRAPA unidade Milho e Sorgo, em Sete Lagoas – Minas Gerais, por meio do sequenciamento parcial do gene *gyrA*, que codifica a subunidade A da enzima DNA girase (LIU, 2022).

As sequências obtidas foram comparadas com dados disponíveis no banco do <sup>2</sup>National Center for Biotechnology Information (NCBI), utilizando a ferramenta <sup>3</sup>BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool - nucleotide), para confirmação da identidade taxonômica com base no percentual de similaridade e cobertura dos alinhamentos.

### 2.2.2 Produção de hormônio ácido indolacético (AIA)

Para a avaliação da produção de ácido indolacético (AIA) pelos isolados, a amostra foi preparada utilizando-se a metodologia descrita por Sarwar e Kremer (1995) com algumas modificações. Em microplaca *Deep Well* estéril, foram adicionados 5 µL dos inóculos padronizados à concentração de 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> (Unidade Formadora de Colônia por mililitro), em 1 mL de meio Caldo Triptona Soja (TSB) suplementado com DL-triptofano (Dextrógiros-Levógiros-triptofano) na concentração de 1,0 mg mL<sup>-1</sup>. A inoculação foi feita em triplicata (INUI, 2009; LANA *et al.*, 2017) e repetida três vezes. Como controle negativo, foram incluídos três poços contendo apenas o meio de cultura TSB com DL-triptofano.

---

<sup>2</sup> Instituição dos Estados Unidos vinculada ao *National Library of Medicine*, parte do *National Institutes of Health* (NIH). Ele oferece bases de dados e ferramentas para biotecnologia e bioinformática, incluindo o GenBank e o software BLASTn.

<sup>3</sup> Ferramenta de bioinformática usada para comparar sequências de nucleotídeos com bancos de dados genéticos, permitindo a identificação molecular.

As amostras foram incubadas no escuro a 30°C sob agitação por 5 dias. Após o período de incubação, as placas foram centrifugadas a 12.000g por 15 minutos. Com o auxílio de micropipeta, 100 µL do sobrenadante foram transferidos para microplaca de 96 poços e, em seguida, foram adicionados 100 µL do reagente Salkowski (49 mL de ácido perclórico a 35% e 1 mL de cloreto férrico (FeCl<sub>3</sub> - 0,5 M), conforme o protocolo descrito por Gordon e Weber (1951).

As amostras foram incubadas em temperatura ambiente, no escuro, por 20 minutos, e o resultado positivo foi evidenciado pela formação da coloração rósea. A concentração de AIA foi estimada por meio da leitura da DO (densidade óptica) a 530 nm em espectrofotômetro UV/VIS (Ultravioleta/Visível), FLUOstar Omega. Um modelo matemático linear foi montado a partir de valores obtidos com AIA comercial nas concentrações de 0; 10; 20; 40; 80 e 100 µg mL<sup>-1</sup> para determinar, por comparação, a concentração de AIA obtida no meio de cultura (GORDON; WEBER, 1951). Segundo Kavamura *et al.* (2013), a produção de AIA pode ser classificada a partir da concentração, sendo: baixa (<1 µg mL<sup>-1</sup>), média (1 a 10 µg mL<sup>-1</sup>), alta (11-50 µg mL<sup>-1</sup>), ou elevada (> 51 µg mL<sup>-1</sup>).

### 2.2.3 Fixação de Nitrogênio

A cepa foi avaliada quanto à capacidade de fixação de nitrogênio pelo crescimento e formação de película em meio semi-sólido NFb (*Nitrogen Free Broth* – meio livre de nitrogênio), conforme o protocolo de Döbereiner, Baldani e Baldani (1995). O meio NFb é composto por: 5,0 g/L de ácido málico (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>), 0,6 g/L de fosfato dipotássico (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), 0,4 g/L de fosfato monopotássico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 0,01 g/L de sulfato de manganês (MnSO<sub>4</sub>), 0,05 g/L de sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>), 0,02 g/L de cloreto de sódio (NaCl), 0,002 g/L de molibdato de sódio (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>), 2 mL/L de azul de bromotimol (0,5% em álcool) como indicador, 1,75 g/L de ágar, com o pH ajustado para 6,6 - 7,0 (DÖBEREINER; BALDANI; BALDANI, 1995).

Uma alçada contendo cultura bacteriana foi inoculada no meio livre de nitrogênio (N), e um controle positivo de *Bacillus* foi incluído. O experimento foi realizado em triplicata (GOMES *et al.*, 2019; PAIVA *et al.*, 2024) e repetido duas vezes. Um frasco contendo meio estéril e sem inoculação foi usado como controle negativo. Os frascos foram incubados a 28 °C por 7 dias. A mudança de cor no ágar de verde para verde-azulado ou azulado e a formação de película foram registradas como positivas para a atividade de fixação de nitrogênio.

#### 2.2.4 Solubilização de fosfatos

Para avaliação qualitativa, uma alíquota de 100 µL da cultura bacteriana, padronizada a  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> (Unidade Formadora de Colônia por mililitro), foi inoculada em quadruplicata (SILVA *et al.*, 2015) nos meios de cultura sólido *National Botanical Research Institute of Phosphate growth medium* (NIBRIP) [10 g/L de glicose, 5 g/L de fosfato tricálcio (Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>), 5 g/L de cloreto de magnésio hexahidratado (MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O), 0,25 g/L de sulfato de magnésio heptaidratado (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O), 0,2 g/L de cloreto de potássio (KCl), 0,1 g/L de sulfato de amônio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e 20 g/L de ágar bacteriológico], conforme Nautiyal (1999), e no meio Fitato [10 g/L de glicose, 5 g/L de fitato de sódio (Na<sub>6</sub>C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>24</sub>P<sub>6</sub>), 1,9 g/L de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>), 2,94 g/L de cloreto de cálcio di-hidratado (CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O), 0,001 g/L de sulfato de manganês (MnSO<sub>4</sub>), 0,1 g/L de sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O), 0,2 g/L de cloreto de potássio (KCL), 0,2 g/L de cloreto de sódio (NaCl), 0,5 g/L de sulfato de amônio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e 20 g/L de ágar bacteriológico], conforme Richardson *et al.* (2001).

Os meios inoculados foram incubados a 28 °C durante 10 dias para visualização do halo transparente em torno da colônia, indicativo de solubilização/mineralização de P. O experimento foi realizado em quadruplicata, e o controle negativo consistiu no meio de cultivo sem inóculo. O diâmetro do halo de solubilização, percebido como uma área translúcida em torno da colônia, foi medido utilizando-se um paquímetro digital. O resultado obtido foi expresso pelo Índice de Solubilização por meio da fórmula:  $IS = \phi \text{ Halo (mm)} / \phi \text{ Colônia (mm)}$ . A cepa foi classificada como estirpe de baixa solubilização ( $IS < 2$ ), média ( $2 \leq IS \leq 4$ ) ou alta solubilização ( $IS > 4$ ), de acordo com Berraquero (1976).

Para a quantificação do fósforo solubilizado pela Bac-Amy, uma colônia pura foi transferida para o meio de cultura líquido TSB (Trypticase Soy Broth) e incubadas a 30 °C por 3 dias, sob agitação constante. Após o período de incubação as amostras foram padronizadas através de espectrofotometria a 540 nm para ajuste da densidade ótica (DO). Após o ajuste da DO, 100 µL do meio cultivado foi adicionado em tubos falcon estéreis contendo 15 mL de meio de cultura NBRIP (NAUTIYAL, 1999) modificado para o uso de 40 g.L<sup>-1</sup> de glicose, sendo incubadas a 30 °C sob agitação constante. Para determinação do fósforo solubilizado, foram consideradas três repetições para cada tratamento (AMRI, *et al.*, 2023), no período de 10 dias de incubação. Após este período, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante filtrado em papel de filtro Whatman 42 para determinação da concentração de fósforo (P) solúvel e medição de pH em água. Para determinação do fósforo solubilizado em meio de cultura, foi utilizado o método colorimétrico de Murphy e Riley

(1962) a partir de um modelo matemático linear obtido a partir de soluções de fósforo com concentrações conhecidas (0 mg.L<sup>-1</sup>, 1,2 mg.L<sup>-1</sup>, 2,4 mg.L<sup>-1</sup>, 4,8 mg.L<sup>-1</sup>, 6 mg.L<sup>-1</sup>, 8 mg.L<sup>-1</sup>, 10 mg.L<sup>-1</sup>, 12 mg.L<sup>-1</sup>, e 14 mg.L<sup>-1</sup>), usando como padrão o fosfato monopotássico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), subtraindo-se o fósforo solúvel contido na amostra controle (meio de cultura com fosfato tricálcio sem inoculação). Para evitar contaminações com fósforo livre nas vidrarias e tubos, todo o material utilizado no ensaio foi descartável, exceto os dos funis de vidro, que foram higienizados com ácido clorídrico (10%) antes do uso.

### 2.2.5 Formação de biofilme

A capacidade de formação de biofilme foi avaliada pelo método de Stepanović *et al.* (2007) com modificações. Alíquota de 2 µL da cultura do isolado padronizada a 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> (Unidade Formadora de Colônia por mililitro) foi inoculada em 200 µL de TSB (Trypticase Soy Broth), preparado com 1% de glicose em uma microplaca de poliestireno. O experimento foi conduzido em triplicata (FIGUEIREDO *et al.*, 2025; GOMES *et al.*, 2019) e repetido duas vezes, com um controle contendo apenas o meio de cultura TSB. A placa foi incubada a 30°C por 48 h. Após esse tempo, o líquido foi removido por meio de inversão, o poço foi lavado três vezes com água destilada e a placa foi colocada invertida sobre papel toalha para a drenagem completa. Posteriormente, foi adicionado em cada poço 200 µL de metanol para fixar o biofilme eventualmente presente. Após 20 minutos, o metanol foi removido e a placa foi deixada em temperatura ambiente para secagem. Em seguida, foram adicionados 200 µL de uma solução de Cristal Violeta a 0,5% em cada poço. Após 15 minutos de contato, o corante foi removido por meio de inversão, o poço foi lavado com água destilada e a placa foi deixada em temperatura ambiente para a secagem. Por fim, foi adicionado 200 µL de etanol absoluto, e foi aguardado um tempo de 30 minutos; em seguida, foi feita a leitura da placa em um espectrofotômetro UV/VIS (Ultravioleta/Visível), FLUOstar Omega, a 570 nm. Foi considerado produtor de biofilme o microrganismo capaz de reter a coloração violeta, e a classificação foi feita com base nos valores de densidade óptica obtidos, sendo classificado como: não formador ( $Doa \leq Docn$ ); fracamente formador ( $Docn \leq Doa \leq 2x Docn$ ); moderadamente formador ( $2x Docn < Doa \leq 4x Docn$ ) ou fortemente formador ( $4x Docn < Doa$ ). Sendo: Doa = Densidade óptica da absorbância e Docn = Densidade óptica do controle negativo (STEPANOVIĆ *et al.*, 2007).

### 2.2.6 Produção de exopolissacarídeos (EPS)

A avaliação da capacidade de produção de exopolissacarídeos (EPS) pela cepa Bac-Amy foi realizada de acordo com a metodologia de Paulo *et al.* (2012) utilizando o meio de cultura composto por 50 g/L de sacarose, 20 g/L de extrato de levedura, 20 g/L de sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>), 0,01 g/L de cloreto de sódio (NaCl), 0,01 g/L de sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>), 0,01 g/L de sulfato de manganês (MnSO<sub>4</sub>), 0,02 g/L de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) e 20 g/L de fosfato dipotássico (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) e pH ajustado para 7,5 (GUIMARÃES *et al.*, 1999). Discos de 5 mm de diâmetro de papel filtro (Whatman 42) esterilizados foram transferidos para o meio de cultura e inoculados com 5 µL da cultura bacteriana padronizada a 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> (Unidade Formadora de Colônia por mililitro) crescida em meio Caldo Triptona Soja (TSB).

As placas foram incubadas a 30 °C por 24 h e a produção de EPS foi avaliada pela ausência ou presença de colônia mucosa ao redor dos discos (PAULO *et al.*, 2012). O teste foi realizado em triplicata (LANDIM; SANTOS, 2019) e repetido duas vezes. A presença de um material translúcido ou cremoso envolvendo a colônia foi um indicativo do potencial de produção de EPS. A confirmação da produção de EPS foi realizada por meio da mistura de uma alça de platina impregnada com a colônia em 2 mL de etanol absoluto, sendo considerada a formação de precipitado como resultado positivo e a presença de turbidez como resultado negativo (PAULO *et al.*, 2012).

### 2.2.7 Tolerância à estresse salino

A cepa Bac-Amy foi inoculada em meio de cultura <sup>4</sup>Luria Bertani (LB) sólido (ágar 20 g/L) enriquecido com cloreto de sódio (NaCl) nas concentrações de 6%, 8% e 10% (massa/volume). Foram adicionados dois controles positivos de <sup>5</sup>*Bacillus* (CNPMS-22 e CNPMS-23) (FIGUEIREDO *et al.*, 2025). As cepas foram incubadas a 30°C por 48 horas. Ao fim do teste, as bactérias capazes de crescer em meio salino nas concentrações descritas demonstrarão sua tolerância à situação de estresse salino (VILELA *et al.*, 2022).

---

<sup>4</sup> Meio de cultura de formulação comercial utilizada para cultivo bacteriano, podendo ser solidificada com a adição de ágar (20 g/L).

<sup>5</sup> As cepas de *Bacillus* CNPMS-22 e CNPMS-23 também pertencem ao banco de microrganismos da Embrapa Milho e Sorgo e já estão mais avançadas em relação aos estudos microbiológicos.

### 2.2.8 Tolerância à estresse hídrico

A cepa Bac-Amy foi inoculada em meio de cultura a Ágar Triptona Soja (TSA) 10% (massa/volume) enriquecido com sorbitol nas concentrações 405 e 520 g/L, com atividade de água (aw) equivalente a 0,919 e 0,897, respectivamente, e incubadas a 70°C por 72 horas.

Foram acrescentados dois controles positivos de *Bacillus* (CNPMS-22 e CNPMS-23) (FIGUEIREDO *et al.*, 2025). Ao fim do teste, as bactérias capazes de crescer em meio contendo sorbitol nas concentrações descritas demonstrarão sua tolerância à situação de estresse hídrico (GOMES *et al.*, 2019; VILELA *et al.*, 2022).

### 2.2.9 Teste de promoção de crescimento de milho em câmara de crescimento

A cepa Bac-Amy foi testada quanto ao seu potencial em promover o crescimento de plantas de milho em condições controladas, em câmara de crescimento de acordo com a metodologia de Negri *et al.* (2014), e Sousa *et al.* (2016), com adaptações. A câmara de crescimento utilizada foi a da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, Minas Gerais.

O experimento contou com os seguintes tratamentos: controle negativo de sementes não inoculadas; inoculação com Bac-Amy; inoculação com as cepas <sup>6</sup>B119 e B2084, *Bacillus megaterium* e *Bacillus Subtilis*, respectivamente; e mistura B119 + B2084. Essas cepas foram isoladas e selecionadas pela Embrapa, e deram origem ao bioinsumo comercial BiomaPhos<sup>®</sup>, registrado para promoção do desenvolvimento radicular e aumento da eficiência na absorção de fósforo pelas plantas (PAIVA *et al.*, 2021). A inclusão dessas cepas teve como objetivo comparar o desempenho da cepa Bac-Amy com materiais já consolidados no mercado, reconhecidos pela eficiência em solubilização de fósforo e promoção de crescimento vegetal, conforme descrito por Paiva *et al.* (2021).

Para o tratamento de sementes, as cepas foram padronizadas em solução de 10<sup>8</sup> UFC ml<sup>-1</sup> (Unidade Formadora de Colônia por mililitro) na proporção de 4ml para cada 300g de semente, além de 2g de <sup>7</sup>BiomaFix (SILVA *et al.*, 2024). Foram germinadas <sup>8</sup>150 sementes

---

<sup>6</sup> As cepas B119 e B2084, pertencentes ao gênero *Bacillus*, são as cepas bacterianas utilizadas na formulação do inoculante comercial BiomaPhos<sup>®</sup>, desenvolvido pela Embrapa. Elas apresentam alta capacidade de solubilização de fósforo, promovendo o crescimento vegetal em culturas como milho e soja (PAIVA *et al.*, 2021).

<sup>7</sup> Aditivo adesivo protetor utilizado em mistura com inoculante no tratamento de sementes. Facilita a aderência e sobrevivência dos microrganismos junto às sementes (BIOMA).

da cultivar <sup>9</sup>CMS 036 para cada tratamento. Seis dias após a germinação, 49 plântulas foram transplantadas para sistema hidropônico contendo a solução nutritiva de Hoagland meia força pH 5,65 (LIU *et al.*, 1998). Para cada tratamento, a unidade amostral foi composta por três plantas, sendo realizadas três repetições independentes por tratamento. A solução nutritiva foi trocada três vezes durante a execução do ensaio, e o pH foi monitorado a cada troca.

O teste teve duração total de 21 dias e ao final, foram avaliadas produção de matéria seca e desenvolvimento de raízes em função do tratamento de sementes, quantificando as variáveis morfológicas: comprimento total (CT), em centímetros; área de superfície total (AST), em cm<sup>2</sup>, de raízes, com diâmetro entre 0,0 mm e 1,0 mm (AS<sub>1</sub>), 1,0 e 2,0 mm (AS<sub>2</sub>) e 2,0 e 4,5 mm (AS<sub>3</sub>); e volume de raiz (VR), seguindo a metodologia de Sousa *et al.* (2012) com adaptações. As variáveis morfológicas foram obtidas com o auxílio do scanner de mesa Epson Expression 11000XL, específico para análises de raízes. As imagens obtidas foram processadas e analisadas no software WinRhizo v.4.0.

#### 2.2.10 Análise estatística

Todos os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com três ou quatro repetições por amostra. Os testes quantitativos de produção de AIA e solubilização de fósforo, assim como o teste qualitativo de formação de biofilme, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo programa computacional SISVAR versão 5.6. (FERREIRA, 2015). As médias obtidas nos tratamentos de cada teste foram comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. Para o ensaio realizado em câmara de crescimento, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ) (FERREIRA, 2015).

---

<sup>8</sup> A quantidade de 150 sementes foi utilizada apenas para garantir a obtenção de, no mínimo, 49 plântulas uniformes e vigorosas, necessárias para o preenchimento da bandeja destinada ao experimento na câmara de crescimento.

<sup>9</sup> Linhagem de milho desenvolvida pela Embrapa, a partir do cruzamento entre 18 linhagens selecionadas para solos sob vegetação de cerrado (EMBRAPA; IPA, 1990).

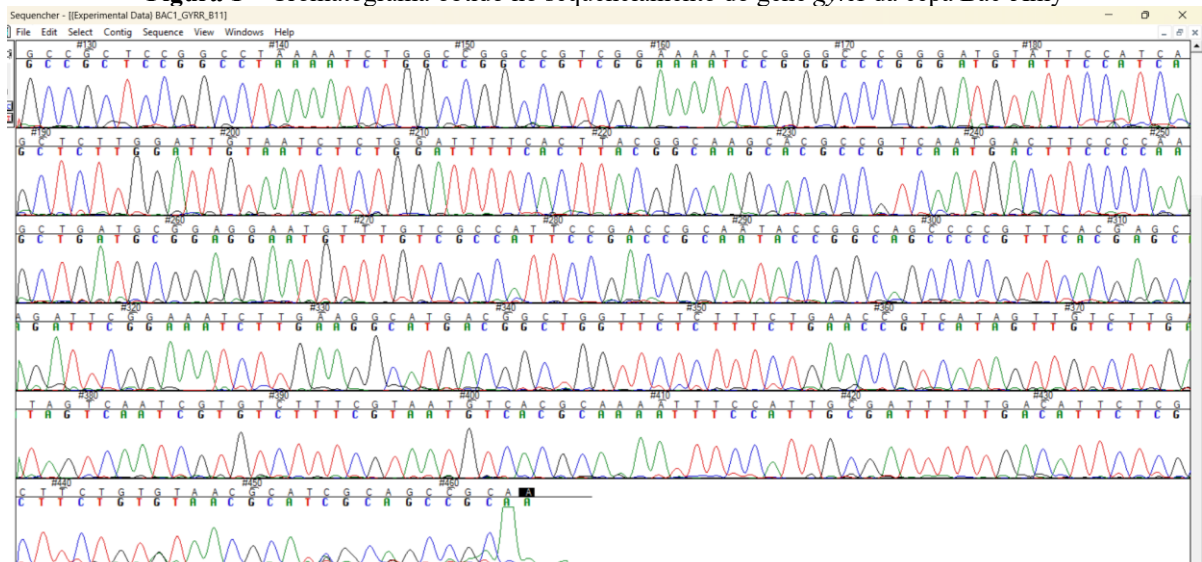
## 2.3 Resultados e Discussão

### 2.3.1 Identificação Molecular

A análise molecular da cepa Bac-Amy, por meio da amplificação e sequenciamento de um fragmento de 464 pares de bases do gene *gyrA*, apresentou elevado nível de similaridade com espécies do gênero *Bacillus*. O alinhamento utilizando a ferramenta BLASTn revelou identidade de 99,69% e cobertura de 98% em relação a diferentes cepas de *Bacillus amyloliquefaciens*, com destaque para o acesso GenBank OR881468.1, confirmando a classificação taxonômica da cepa. O valor de E-value foi de 0,0, indicando alinhamento altamente significativo e robusto.

O cromatograma gerado no software Sequencer apresentou picos bem definidos, sem sobreposição, garantindo a qualidade da sequência utilizada na análise, conforme a Figura 1. Esses resultados confirmam que a cepa Bac-Amy pertence à espécie *Bacillus amyloliquefaciens*, validando sua utilização nas análises funcionais e bioquímicas subsequentes.

**Figura 1** – Cromatograma obtido no sequenciamento do gene *gyrA* da cepa Bac-Amy



Fonte: Acervo do autor. 2025.

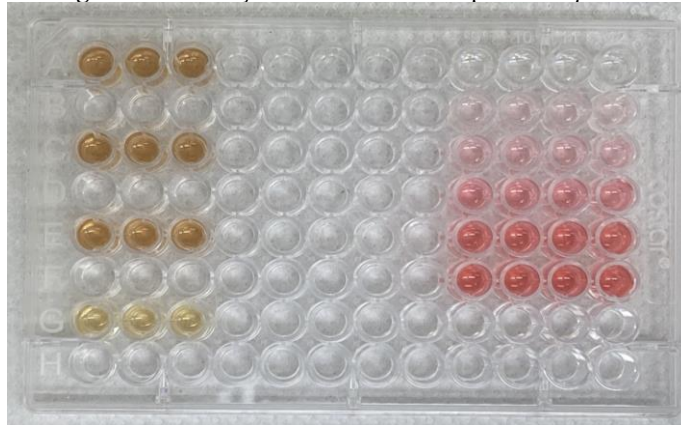
Liu *et al.* (2022) destacaram em seu estudo que o gene *gyrA* apresenta maior poder discriminatório em comparação ao gene 16S rRNA, especialmente em espécies do gênero

*Bacillus*. Os autores desenvolveram <sup>10</sup>primers específicos para o *gyrA*, demonstrando sua eficácia na diferenciação de espécies próximas, como *B. amyloliquefaciens* e *B. subtilis*.

### 2.3.2 Produção de ácido indolacético (AIA)

A quantificação da produção de AIA pela cepa *Bacillus amyloliquefaciens* (Bac-Amy) foi realizada com base em um modelo matemático linear definido partir de soluções de AIA comercial (Figura 2), nas concentrações conhecidas de 0, 10, 20, 40, 80 e 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

**Figura 2** – Produção de AIA em microplaca *Deep Well*



Fonte: Acervo do autor. 2025. À direita, observa-se as amostras que compõem o modelo determinado a partir de diferentes concentrações de AIA comercial, com intensificação da coloração de rosa claro a vermelho mais intenso conforme o aumento da concentração. À esquerda, estão as amostras referentes à cepa Bac-Amy, dispostas em três testes, cada um em triplicata. Abaixo dos tratamentos inoculados com a cepa, está o controle (coloração mais clara), que permaneceu sem inoculação.

O modelo matemático, obtido a partir das concentrações de AIA comercial apresentou excelente ajuste linear, tendo o formato de  $y = 0,013x + 0,0337$ , em que  $x$  representa a concentração de AIA ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e  $y$  corresponde à absorbância lida no espectrofotômetro UV/VIS, a 530 nm. Nessa equação, o coeficiente 0,013 representa a inclinação da reta, ou seja, indica que para cada aumento de uma unidade no valor de  $x$ , há um acréscimo de 0,013 unidades em  $y$ . Esse valor expressa a taxa de variação entre as duas variáveis analisadas. Já o coeficiente 0,0337 corresponde ao valor de  $y$  quando  $x = 0$ , representando ponto de partida da variável dependente (absorbância) antes da influência da variável independente (concentração

<sup>10</sup> Pequenas sequências de nucleotídeos que atuam como iniciadores para a síntese de DNA na reação em cadeia da polimerase (PCR), permitindo a amplificação de regiões específicas do material genético.

de AIA). O coeficiente de determinação do modelo linear foi de  $R^2 = 0,9984$ , indicando alta precisão e confiabilidade na relação entre concentração e absorvância, atendendo plenamente o critério mínimo recomendado de  $R^2 \geq 0,98$ .

A avaliação da produção de AIA pela cepa Bac-Amy revelou resultados expressivos comparação com outros estudos envolvendo cepas da mesma espécie. A cepa Bac-Amy apresentou uma média geral de produção de  $13,49 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , considerando os três ensaios realizados em triplicata (Figura 2), cujas médias individuais foram aproximadamente 14,72, 12,69 e  $13,05 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , respectivamente. De acordo com a classificação proposta por Kavamura *et al.* (2013), esses valores enquadram-se na faixa de alta produção de AIA, definida para concentrações entre 11 e  $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Os valores de absorvância dos três tratamentos com Bac-Amy diferenciaram-se estatisticamente do controle, conforme análise pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), com coeficiente de variação de 7,69%.

No estudo de caracterização de rizobactérias promotoras de crescimento, conduzido por Lee *et al.* (2025), sete cepas foram avaliadas quanto à produção de AIA. A cepa AB22-1 de *B. amyloliquefaciens* destacou-se por representar a maior média de produção,  $8,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , valor que, de acordo com a mesma classificação proposta por Kavamura *et al.* (2013), é considerado de produção média.

Em condições de déficit hídrico, Sheteiwy *et al.* (2021) demonstraram que a inoculação de sementes de soja com *B. amyloliquefaciens* proporcionou não apenas o aumento dos níveis de AIA, mas também a uma modulação hormonal benéfica, favorecendo o desenvolvimento vegetal.

Wang *et al.* (2022) observaram, por meio de ensaio imunoenzimático <sup>11</sup>(ELISA), um aumento de 24,7% do teor de AIA presente em mudas de <sup>12</sup>festuca alta (*Festuca arundinacea*) inoculadas com a cepa GB03 de *Bacillus Amyloliquefaciens* e sob adubação nitrogenada adequada, comparadas às mudas não inoculadas. Já em mudas de *F. arundinacea* submetidas a estresse por baixa disponibilidade de nitrogênio, constatou-se um aumento de 81,8% do teor de AIA presente.

---

<sup>11</sup> Técnica analítica baseada na ligação específica entre antígenos e anticorpos, utilizada para detectar e quantificar substâncias como o ácido indolacético (AIA). No caso da avaliação do AIA, o kit ELISA utiliza anticorpos específicos que se ligam ao AIA presente na amostra, sendo essa interação detectada por meio de uma reação enzimática que gera um sinal colorimétrico proporcional à concentração do hormônio (ENGVALL; PERLMANN, 1971).

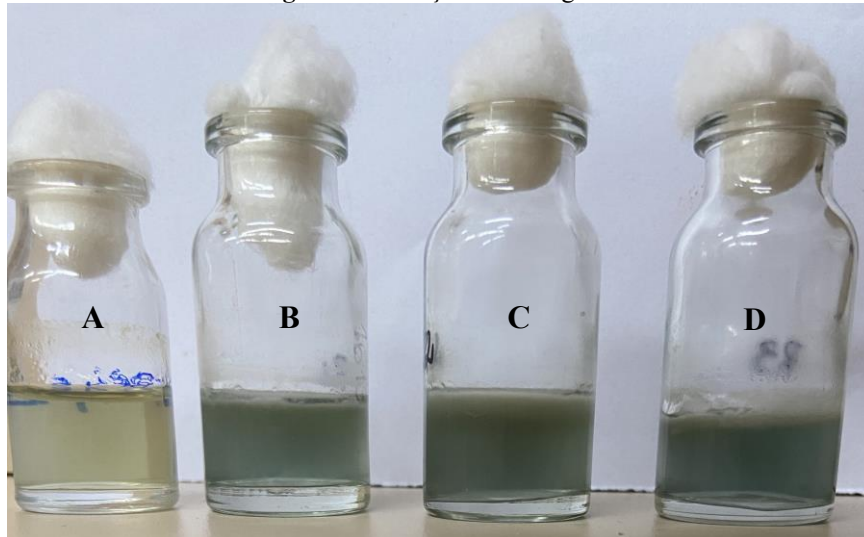
<sup>12</sup> Gramínea pertencente à família Poaceae, subfamília Pooideae, ordem Poae. Trata-se de uma importante espécie de planta forrageira de estação fria em todo o mundo (WANG *et al.*, 2022).

A capacidade da cepa Bac-Amy (*Bacillus amyloliquefaciens*) em produzir AIA em concentração considerada alta destaca seu potencial como bioinsumo. Essa capacidade é particularmente importante para ambientes do Cerrado, onde o estresse hídrico sazonal atua como fator limitante do desenvolvimento radicular e da produtividade de culturas agronômicas (SANTOS *et al.*, 2020).

### 2.3.3 Fixação de Nitrogênio

O teste de fixação biológica de nitrogênio realizado em meio semi-sólido NFB indicou resultado positivo para a cepa Bac-Amy (Figura 3).

**Figura 3** – Fixação de Nitrogênio



Fonte: Acervo do autor. 2025. Legenda: (A) controle negativo, (B), (C) e (D) são repetições da inoculação com Bac-Amy. A mudança de tonalidade de verde claro (A) para azul (B, C e D) indica a atividade de fixação de nitrogênio.

Observou-se, após sete dias de incubação, a formação de uma película na superfície do meio, somada à mudança de coloração de verde para azul, características indicativas da atividade diazotrófica, conforme descrito por Souza *et al.* (2009) e Silva *et al.* (2015).

A formação da película na interface ar-líquido é resultado da migração das bactérias para a região onde ocorre o equilíbrio ideal entre oxigênio e nitrogênio, favorecendo a atuação da nitrogenase, enzima responsável pela conversão do nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) em formas assimiláveis pelas plantas (SILVA *et al.*, 2015). A alteração da coloração do meio, de verde para azul, também reforça a atividade metabólica associada ao consumo de nitrogênio e à alteração do pH do meio.

Vásconez *et al.* (2020) também encontraram resultados positivos para a fixação de nitrogênio em meio NFb para quatro cepas de *Bacillus* spp.: IB10 (*B. licheniformis*), CT11 (*Bacillus megaterium*); AB8 (*Bacillus subtilis*); e CT5 (*Bacillus megaterium*).

Wang *et al.* (2022) observaram um aumento no teor de nitrogênio total em mudas de festuca alta (*Festuca arundinacea*) inoculadas com a cepa GB03 de *Bacillus Amyloliquefaciens*, mesmo sob condições simuladas de deficiência de nitrogênio. Os autores concluíram que a cepa GB03 contribuiu para a resistência das plantas ao estresse por deficiência de nitrogênio (WANG *et al.*, 2022).

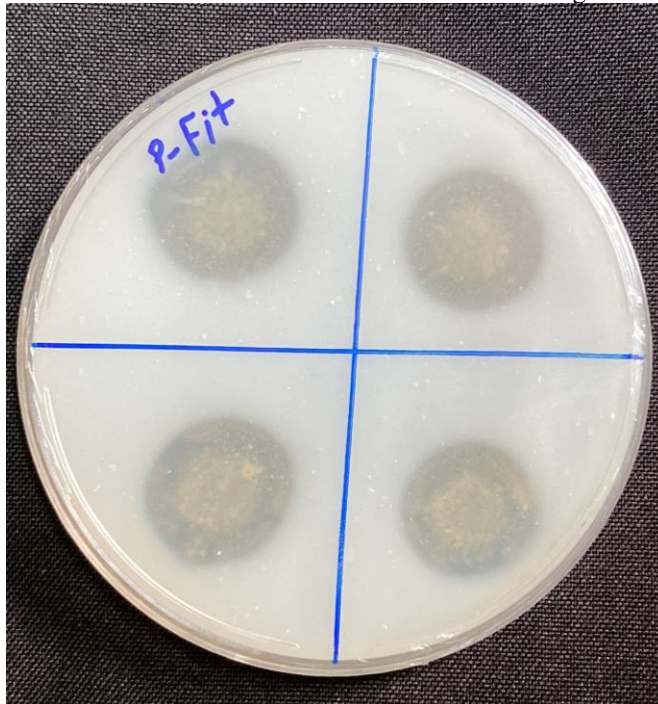
Embora espécies do gênero *Bacillus* não sejam tradicionalmente reconhecidas como fixadoras de nitrogênio, estudos recentes têm demonstrado que algumas linhagens possuem genes relacionados à fixação, como o gene *nifH*, e são capazes de expressar essa atividade sob determinadas condições ambientais (YOUSUF *et al.*, 2017).

Esses resultados reforçam o potencial de cepas de *B. Amyloliquefaciens* como agente auxiliar na ciclagem biológica do nitrogênio, contribuindo para a redução da dependência de fertilizantes nitrogenados (WANG *et al.*, 2022).

### 2.3.4 Solubilização de fosfatos

No ensaio qualitativo para avaliação da mineralização de fósforo orgânico, utilizando meio contendo fitato de sódio como única fonte de fósforo, a cepa Bac-Amy apresentou formação evidente de halos translúcidos ao redor das colônias, indicando potencial para mineralização de fósforo orgânico, conforme demonstrado pela Figura 4.

**Figura 4** – Mineralização de fosfato pela formação de halo claro ao redor das colônias em meio com fósforo orgânico.



Fonte: Acervo do autor. 2025.

Os diâmetros das colônias variaram de 9,80 a 13,90 mm, enquanto os diâmetros totais dos halos variaram de 22,11 a 24,33 mm. O índice de solubilização (IS) variou entre 1,75 e 2,26, com média de 2,06, classificando a cepa como de média capacidade de mineralização de fósforo orgânico, segundo os critérios de Berraquero *et al.* (1976).

Já no teste qualitativo a partir do meio sólido contendo fosfato tricálcico, que avalia a solubilização de fósforo inorgânico insolúvel, a cepa Bac-Amy não apresentou formação de halo de solubilização. Gupta *et al.* (1994) constataram que muitos isolados que não produziram nenhum halo/zona visível em meios sólidos, puderam solubilizar vários tipos de fosfatos inorgânicos insolúveis em meio líquido. Esse comportamento pode apontar para uma tendência de preferência metabólica pela mineralização de fontes orgânicas de fósforo, como

o fitato, cuja degradação está associada à produção de enzimas do tipo fitases (RICHARDSON *et al.*, 2001; IDRIS *et al.*, 2002).

A diferença entre os resultados obtidos nos meios sólido e líquido é um fenômeno bem documentado na literatura e pode ser atribuída a diversos fatores, como a difusão limitada de metabólitos no meio sólido e a maior disponibilidade de nutrientes e espaço para crescimento no meio líquido (ARMANDEH; MAHMOUDI; NOSRATABAD, 2022).

Por exemplo, Soave (2023) demonstrou que diferentes linhagens de *Bacillus* spp. apresentam variações na capacidade de solubilização de fósforo, dependendo do meio de cultivo e da fonte de fósforo utilizada. Além disso, Melo (2023) observou que isolados de *Bacillus* spp. apresentaram baixos índices de solubilização em meio sólido, independentemente da fonte de fosfato utilizada, o que destaca a importância de avaliar a solubilização em diferentes condições de cultivo.

Por outro lado, no ensaio quantitativo de solubilização de fósforo utilizando o meio líquido NBRIP modificado, a cepa Bac-Amy demonstrou capacidade significativa de solubilização de fósforo inorgânico, superando a cepa CNPMS-22 (FIGUEIREDO *et al.*, 2025) utilizada como controle positivo.

A quantificação de fósforo nas amostras dos tratamentos foi realizada através do modelo matemático  $y = 0,0532x + 0,0124$ , determinado a partir de amostras com concentrações conhecidas de fósforo, onde  $x$  representa a concentração de fósforo na amostra e  $Y$  representa a absorbância lida em espectrofotômetro. O coeficiente 0,0532 representa a inclinação da reta, ou seja, indica que para cada aumento de uma unidade no valor de  $x$ , há um acréscimo de 0,0532 unidades em  $y$ . Esse valor expressa a taxa de variação entre as duas variáveis analisadas. Já o coeficiente 0,0124 corresponde ao valor de  $y$  quando  $x = 0$ , representando ponto de partida da variável dependente (absorbância) antes da influência da variável independente (concentração de fósforo). O coeficiente de determinação do modelo encontrado é  $R^2 = 0,9973$ , garantindo alta precisão nas medidas de calibração.

Os valores obtidos para o controle (meio sem inoculação) foram 12,08 mg L<sup>-1</sup>, 12,83 mg L<sup>-1</sup> e 12,49 mg L<sup>-1</sup>. Conforme a metodologia descrita, a média de solubilização do controle foi subtraída dos valores de solubilização dos demais tratamentos, para o cálculo final da solubilização de P. A média final de fósforo solubilizado pela Bac-Amy foi de aproximadamente 114,45 mg L<sup>-1</sup> (valores individuais: 113,32; 117,46; 112,57 mg L<sup>-1</sup>), e da cepa CNPMS-22, de cerca de 77,36 mg L<sup>-1</sup> (69,34; 85,50; 77,23 mg L<sup>-1</sup>). A análise estatística revelou a formação de três grupos distintos, nos quais a cepa Bac-Amy se diferenciou

significativamente tanto do controle quanto da cepa CPMS-22, conforme o teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), com coeficiente de variação de 5,44%.

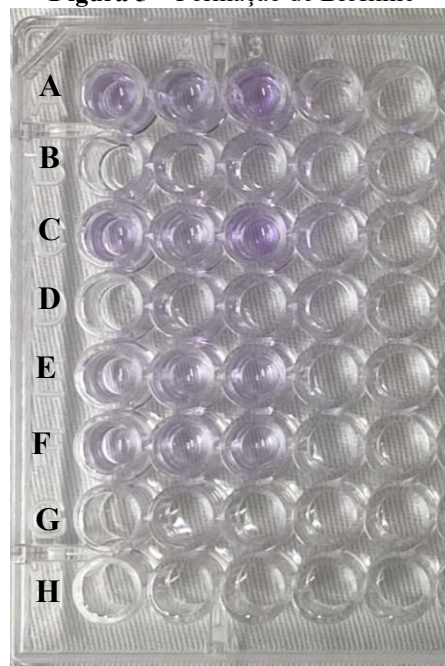
Esses resultados indicam que a cepa Bac-Amy possui um perfil funcional específico, com maior eficiência na solubilização de fósforo inorgânico em meio líquido, corroborando sua capacidade metabólica para transformar fontes minerais de fósforo em formas assimiláveis, potencialmente associada à produção de ácidos orgânicos e outros metabólitos solubilizantes (SHARMA, 2017).

Cheng *et al.* (2023) destacam que microrganismos solubilizadores de fosfato são amplamente reconhecidos por seu papel na disponibilização de fósforo às plantas, constituindo uma solução econômica e sustentável para mitigar a deficiência desse nutriente no solo.

### 2.3.5 Formação de Biofilme

No teste de formação de biofilme em superfície de poliestireno (Figura 5), a cepa Bac-Amy apresentou valores médios de densidade óptica de 0,146 no primeiro ensaio e 0,134 no segundo, enquanto os valores médios do controle negativo foram de 0,088 e 0,074, respectivamente.

**Figura 5 – Formação de Biofilme**



Fonte: Acervo do autor. 2025. Legenda: linha A e C referem-se aos tratamentos inoculados com Bac-Amy. Linhas E e F referem-se ao controle negativo.

A média geral do controle foi de 0,081, e a da cepa Bac-Amy foi de 0,14. De acordo com os critérios estabelecidos por Stepanović *et al.* (2007), a cepa Bac-Amy é classificada como fracamente formadora de biofilme, uma vez que seus valores de absorvância se encontram na faixa entre o controle negativo e até duas vezes esse valor ( $0,081 < Doa \leq 0,162$ ). A absorvância obtida para a cepa Bac-Amy foi estatisticamente superior à do controle negativo, conforme o teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), que apresentou coeficiente de variação de 24,41%.

Embora a Bac-Amy tenha sido classificada como fracamente formadora de biofilme, esse comportamento é comum em algumas linhagens de *Bacillus*, que tendem a apresentar variações na expressão dessa característica dependendo das condições de cultivo, do meio e do substrato utilizado, além de estar associada a questões genéticas (ZHOU *et al.*, 2024).

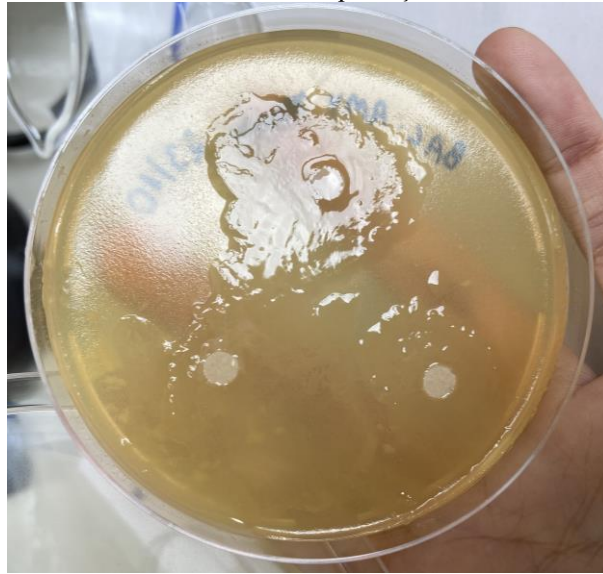
Para corroborar com essa ideia, Liu *et al.* (2011) investigaram a cepa C06 (*B. amyloliquefaciens*) e observaram que uma mutação no gene *pbrA* resultou em uma produção reduzida de biofilme, acompanhada por uma superprodução de ácido  $\gamma$ -poliglutâmico ( $\gamma$ -PGA). O estudo apontou que a baixa produção de biofilme pode estar associada a alterações na expressão gênica que favorecem outras vias metabólicas, como a síntese de  $\gamma$ -PGA, desfavorecendo genes essenciais à formação de biofilme (LIU *et al.* 2011).

Mesmo em nível baixo, a formação de biofilme é uma característica relevante para a sobrevivência da bactéria em solos agrícolas, visto que confere proteção contra estresses ambientais, favorece a adesão às raízes e potencializa a ação promotora de crescimento vegetal (FLEMMING; WINGENDER, 2010).

### 2.3.6 Produção de Exopolissacarídeos (EPS)

No que diz respeito à produção de EPS, a cepa Bac-Amy demonstrou capacidade positiva evidenciada pela formação de colônias mucosas ao redor dos discos de papel filtro no meio de cultura rico em sacarose, conforme pode ser observado na Figura 6.

**Figura 6** – Formação de formação de colônias mucosas: indicativos da produção de EPS



Fonte: Acervo do autor. 2025.

Essa característica visual indica a síntese de substâncias extracelulares poliméricas, que conferem aspecto viscoso e mucilaginoso às colônias (SUTHERLAND, 2001). A confirmação dessa produção foi obtida pelo teste de precipitação com etanol absoluto, no qual foi observada a formação de precipitado (Figura 7), indicando a presença de EPS em solução.

**Figura 7** – Produção de precipitado em etanol absoluto



Fonte: Acervo do autor. 2025.

Diniz (2022) avaliou cinco cepas bacterianas <sup>13</sup>(LIS04, LIS05, CT02, IPR45 e IM14), pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Paenibacillus* e *Pseudomonas*, e constatou pelo método desenvolvido por Paulo *et al.* (2012) a capacidade de produção de EPS em todas elas, o que evidencia a frequência dessa característica entre microrganismos com potencial biotecnológico.

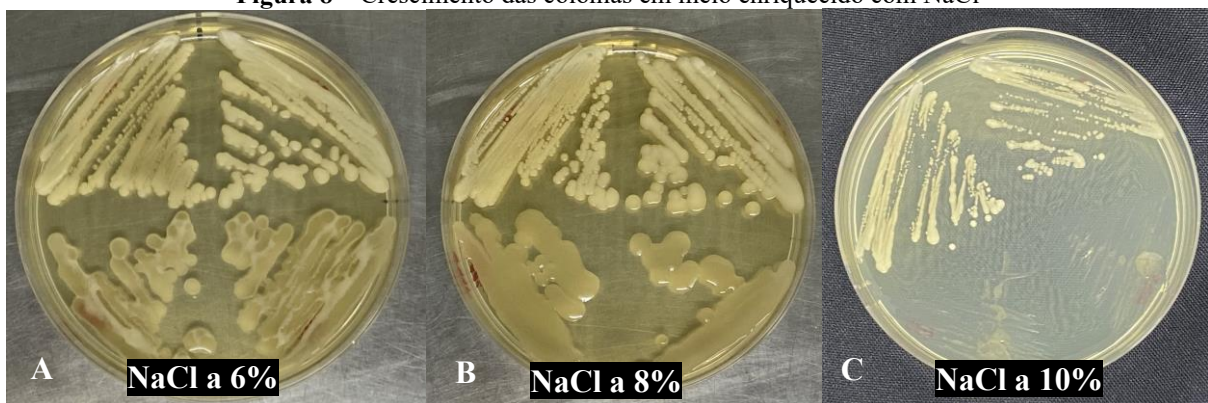
Landim e Santos (2019) avaliaram 90 cepas bacterianas isoladas de solos rizosféricos da Caatinga, das quais, 20 apresentaram produção de exopolissacarídeos (EPS), evidenciada pela formação de precipitado após a adição de etanol absoluto. Silva *et al.* (2025) isolaram 38 bactérias presentes na filosfera de plantas nativas da Caatinga e avaliaram sua capacidade de produção de EPS pelo método de Paulo *et al.* (2012), identificando 16 cepas positivas para a produção do composto.

Sutherland (2001) destacou a capacidade dos exopolissacarídeos de manter uma camada altamente hidratada ao redor do biofilme, impedindo a dessecação letal de alguns biofilmes naturais e protegendo o microrganismo contra variações de umidade.

### 2.3.7 Tolerância à estresse salino e estresse hídrico

A cepa Bac-my apresentou crescimento satisfatório nas três concentrações testadas de NaCl (6%, 8% e 10%), com desempenho semelhante aos controles positivos (Figura 8).

**Figura 8** – Crescimento das colônias em meio enriquecido com NaCl



Fonte: Acervo do autor. 2025. Legenda: (A) Concentração de 6%. (B) Concentração de 8%. (C) Concentração de 10%.

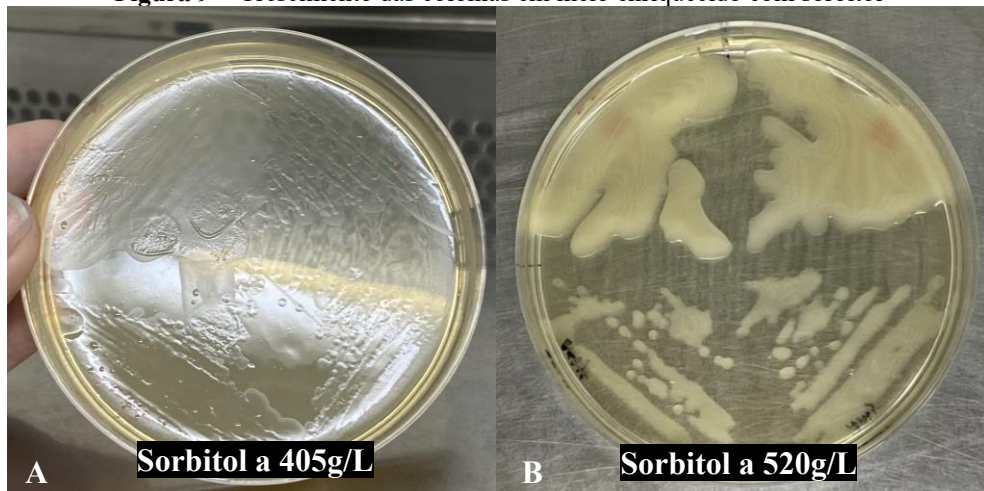
Essa capacidade é indicativa de uma adaptação fisiológica eficiente, que permite à bactéria uma elevada tolerância ao estresse salino (VILELA *et al.*, 2022).

<sup>13</sup> As cepas LIS05, IM14 e CT02 pertencem à espécie *Bacillus velezensis*. A cepa LIS04 é um *Paenibacillus ottowii* e a cepa IPR45 corresponde a *Pseudomonas aeruginosa*.

Vilela *et al.* (2022) avaliaram 27 cepas bacterianas quanto à capacidade de crescimento em meio LB sólido com diferentes concentrações de NaCl (0%, 6%, 10% e 14%), das quais, apenas três não apresentaram crescimento em concentração de 6% e duas cepas das espécies *B. amyloliquefaciens* e *B. subtilis* cresceram em meio de cultura contendo NaCl na concentração de até 14%.

Em relação ao teste de estresse hídrico, a cepa Bac-Amy demonstrou capacidade de crescimento sob as duas condições testadas, com atividade de água (*aw*) de 0,919 e 0,897 (Figura 9), correspondentes às concentrações de 405 g/L e 520 g/L de sorbitol, respectivamente.

**Figura 9** – Crescimento das colônias em meio enriquecido com sorbitol



Fonte: Acervo do autor. 2025. Legenda: (A) Crescimento bacteriano em concentração de 405 g/L de sorbitol. (B) Crescimento bacteriano em concentração de 520 g/L de sorbitol.

Em seu estudo, Gomes *et al.* (2019) selecionaram 414 cepas bacterianas capazes de crescer em meio contendo 405 g/L de sorbitol, das quais apenas 28 cepas mantiveram o crescimento na concentração de 520 g/L.

Solutos como sorbitol, glicerol e sal reduzem a atividade de água (*aw*), impactando diretamente no crescimento microbiano, pois criam um ambiente osmoticamente desafiador que exige adaptações fisiológicas dos microrganismos (GOULD, 1989).

Martins *et al.* (2018) relataram que o tratamento de sementes de feijão com uma cepa de *Bacillus amyloliquefaciens*, caracterizada pela formação de biofilme e alta produção de exopolissacarídeos (EPS), conferiu maior resistência das plantas ao estresse hídrico

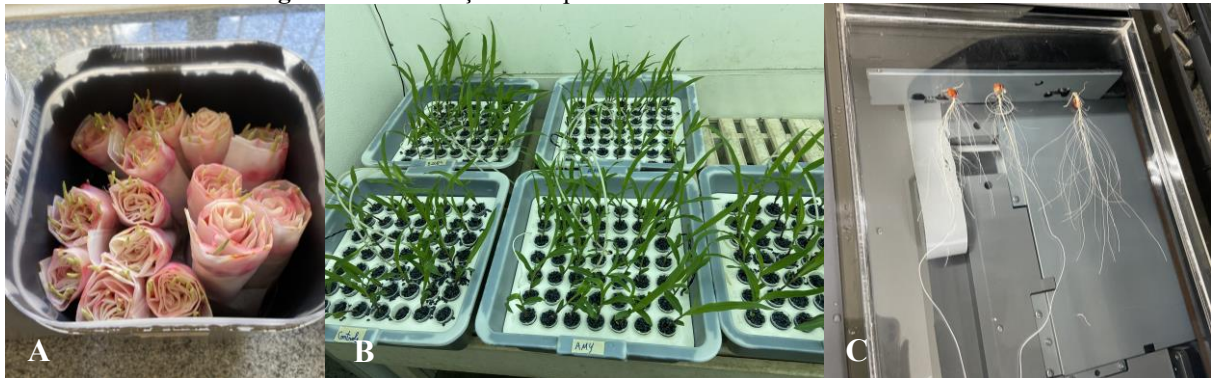
Além do crescimento observado nos dois testes, foi possível notar uma alteração morfológica nas colônias, que apresentaram aspecto mais translúcido em comparação às cultivadas em meio sem adição de sal. Essa modificação visual, frequentemente relatada em

estudos com bactérias halotolerantes, está associada ao ajuste metabólico da célula frente ao estresse osmótico, principalmente pela síntese de solutos compatíveis e exopolissacarídeos, que auxiliam na manutenção da integridade celular (SLEPECKY; HEMPHILL, 2006).

### 2.3.8 Teste de promoção de crescimento de milho em câmara de crescimento

A análise estatística do ensaio em câmara de crescimento (Figura 10) revelou que o tratamento das sementes com a cepa Bac-Amy impactou significativamente todas as variáveis morfológicas avaliadas ao final de 21 dias de cultivo na câmara de crescimento (TABELA 1).

**Figura 10** – Condução de experimento em câmara de crescimento



Fonte: Acervo do autor. 2025. Legenda: (A) Germinação das sementes. (B) Manutenção das plântulas. (C) Leitura de parâmetros morfológicos.

**Tabela 1: Médias das variáveis morfológicas do sistema radicular de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos com cepas bacterianas, em câmara de crescimento.**

Tratamento	CT (cm)	VR (cm <sup>3</sup> )	AST (cm <sup>2</sup> )	AS <sub>1</sub> (cm <sup>2</sup> )	AS <sub>2</sub> (cm <sup>2</sup> )	AS <sub>3</sub> (cm <sup>2</sup> )
Controle	1329,79 a	1,99 a	182,38 a	134,85 a	13,70 a	19,36 bc
B119	1544,76 a	1,73 a	183,25 a	137,88 a	17,44 ab	18,17 ab
B2084	1864,92 ab	2,26 ab	229,95 ab	170,03 ab	16,56 ab	23,16 cd
Bac-Amy	1781,41 ab	2,27 ab	225,47 ab	177,53 ab	22,18 bc	5,40 a
B119 + B2084	2438,35 b	2,88 b	297,15 b	211,74 b	26,00 c	30,82 d
CV (%)	14,79	12,69	13,40	15,30	14,08	21,23

Fonte: Acervo do autor. 2025. Legenda: letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Para o comprimento total de raízes (CT), houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p = 0,0047$ ). A média geral dos valores de CT foi de média geral de 1791,85 cm, com margem de erro de  $\pm 173,09$  cm, considerando um nível de confiança de 95%. A mistura B119+B2084 proporcionou o maior comprimento (2438,35 cm), diferindo estatisticamente do controle negativo e do tratamento apenas com a cepa B119, que apresentaram os menores valores (1329,79 cm e 1544,76 cm, respectivamente). Os tratamentos com as cepas Bac-Amy

e B2084 apresentaram valores intermediários (1781,41 cm e 1864,92 cm, respectivamente), sem diferirem do controle, mas também não diferindo da mistura, indicando efeito parcial sobre o desenvolvimento radicular.

A variável volume de raiz (VR) obteve média geral de 2,23 cm<sup>3</sup>, com margem de erro de ±0,18 cm<sup>3</sup>, considerando um nível de confiança de 95%. Na comparação de médias o tratamento B119+B2084 se destacou com o maior volume (2,88 cm<sup>3</sup>), sendo estatisticamente superior aos tratamentos com B119 (1,73 cm<sup>3</sup>) e ao controle (1,99 cm<sup>3</sup>). As cepas Bac-Amy (2,27 cm<sup>3</sup>) e B2084 (2,26 cm<sup>3</sup>) apresentaram desempenho intermediário.

Quanto à área de superfície total (AST), a média geral da variável foi de 223,64 cm<sup>2</sup>, com margem de erro de ±19,58 cm<sup>2</sup>, considerando um nível de confiança de 95%. o tratamento B119+B2084 também se destacou, com a maior média (297,15 cm<sup>2</sup>), diferindo estatisticamente dos demais (p = 0,0050). As cepas Bac-Amy (225,47 cm<sup>2</sup>) e B2084 (229,95 cm<sup>2</sup>) apresentaram incrementos em relação ao controle (182,38 cm<sup>2</sup>), embora sem diferença estatística, enquanto B119 (183,25 cm<sup>2</sup>) não diferiu do controle.

Ao avaliar a distribuição da área de superfície por classes de diâmetro, observou-se que na classe mais fina (0,0-1,0 mm, AS<sub>1</sub>; p = 0,0225), a média geral foi de 166,4 cm<sup>2</sup>, com margem de erro de ±16,63 cm<sup>2</sup>, considerando um nível de confiança de 95%. A média do tratamento B119+B2084 (211,74 cm<sup>2</sup>) foi superior em relação ao controle (134,85 cm<sup>2</sup>) e ao tratamento B119 (137,88 cm<sup>2</sup>), enquanto os tratamentos Bac-Amy e B2084 novamente apresentaram valores intermediários (177,53 cm<sup>2</sup> e 170,03 cm<sup>2</sup>, respectivamente).

Na classe de diâmetro de 1,0-2,0 mm (AS<sub>2</sub>), a média geral foi de 19,18 cm<sup>2</sup>, com margem de erro de ±1,76 cm<sup>2</sup>, considerando um nível de confiança de 95%. O tratamento com a combinação das cepas B119 + B2084 apresentou o maior valor médio (26,00 cm<sup>2</sup>), diferindo estatisticamente dos tratamentos Controle Negativo (13,70 cm<sup>2</sup>), B2084 (16,56 cm<sup>2</sup>) e B119 (17,44 cm<sup>2</sup>), que formaram um grupo estatístico inferior. A cepa Bac-Amy (22,18 cm<sup>2</sup>) apresentou desempenho intermediário, situando-se estatisticamente tanto no grupo dos isolados, quanto no grupo da combinação, indicando que seu efeito intermediário em relação aos demais isolados e à combinação B119 + B2084, que se destacou como o melhor tratamento para essa classe de raízes.

Para raízes mais grossas (2,0-4,5 mm, AS<sub>3</sub>), a média geral foi de 18,15 cm<sup>2</sup>, com margem de erro de ±2,52 cm<sup>2</sup>, considerando um nível de confiança de 95%. O tratamento B119+B2084 também teve média superior aos demais (30,82 cm<sup>2</sup>), seguido por B2084 (23,16 cm<sup>2</sup>) e controle (19,36 cm<sup>2</sup>), enquanto o tratamento apenas com a Bac-Amy apresentou o menor valor (5,40 cm<sup>2</sup>), sendo estatisticamente inferior (p = 0,0001).

Estudos com diferentes cepas de *Bacillus amyloliquefaciens* comprovam a capacidade de promoção do crescimento vegetal em diferentes espécies de plantas, incluindo *Arabidopsis thaliana* (RYU *et al.*, 2003) e pepino (*Cucumis sativus L.*) (QIN *et al.*, 2017).

Foram avaliadas também variáveis de Peso Seco Total (PST), Peso Seco da Parte Aérea (PSPA) e Peso Seco da Parte Radicular (PSPR), medidos em gramas (Tabela 2).

**TABELA 2: Médias das variáveis de peso total, peso de parte aérea e peso de parte radicular de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos com cepas bacterianas, em câmara de crescimento.**

Tratamento	PST (g)	PSPA (g)	PSPR (g)
Controle	1,016 a	0,607 a	0,409 a
B119	1,032 a	0,606 a	0,426 a
B2084	0,963 a	0,598 a	0,365 a
Bac-Amy	1,069 a	0,696 a	0,373 a
B119 + B2084	1,406 b	0,984 b	0,422 a
CV (%)	6,29	10,20	12,10

Fonte: Acervo do autor. 2025. Legenda: letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Para a variável de PST, a média geral foi de 1,097 g, com margem de erro de  $\pm 0,045$  g, considerando um nível de confiança de 95%. O tratamento com a combinação das cepas B119+B2084 promoveu aumento significativo em PST (1,406 g) em comparação ao controle (1,016 g), representando um incremento de aproximadamente 38,4%, evidenciado pela diferença estatística identificada pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A variável PSPA obteve média geral de 0,698 g, com margem de erro de  $\pm 0,047$  g, considerando um nível de confiança de 95%. Observou-se um padrão semelhante ao da variável anterior, uma vez que, o tratamento B119+B2084 (0,984 g) apresentou média superior ao controle (0,607 g), diferenciando-se estatisticamente dos demais tratamentos. Já o tratamento com a cepa Bac-Amy, resultou em um leve aumento de PST (1,069 g) e PSPA (0,696 g), embora sem diferença estatística significativa em relação ao controle.

Já para a variável PSPR, a média geral foi de 0,399 g, com margem de erro de  $\pm 0,032$  g, considerando um nível de confiança de 95%. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para o peso seco da parte radicular, sugerindo que os efeitos mais pronunciados das bactérias ocorreram sobre o crescimento da parte aérea.

No estudo conduzido por Lee *et al.* (2025), o tratamento de raízes de alface (*Lactuca sativa*) com a cepa *B. amyloliquefaciens* AB22-1 resultou em aumentos de 26% a 31% na biomassa da parte aérea e de 18% a 20% na biomassa radicular, em comparação com o grupo controle, evidenciando o potencial da cepa como biofertilizante.

De maneira geral, observa-se que a cepa Bac-Amy apresentou desempenho positivo nas variáveis morfológicas analisadas, com destaque para os incrementos no comprimento total de raízes, no volume radicular e na área de superfície, especialmente nas classes de raízes finas e médias.

Essas classes de raízes são altamente ativas na absorção de água e nutrientes, liberando também exsudatos de carbono que estimulam microrganismos e a dinâmica de nutrientes, além de favorecer simbiose com microrganismos da rizosfera, impactando a saúde do solo (MCCORMACK *et al.*, 2015).

A Bac-Amy teve desempenho similar ao da cepa B2084, uma das componentes do bioinsumo BiomaPhos<sup>®</sup>, indicando o potencial de seus atributos funcionais promissores e comparáveis aos de materiais já validados comercialmente.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cepa Bac-Amy (*Bacillus amyloliquefaciens*) apresentou características que a qualificam como um bioinsumo promissor, com potencial para promover o crescimento vegetal e tolerar estresses hídrico e salino. Os resultados demonstraram alta produção de AIA, capacidade de fixação de nitrogênio, solubilização eficiente de fósforo inorgânico em meio líquido e produção de exopolissacarídeos, além de tolerância a estresses abióticos.

No teste com plantas de milho, a Bac-Amy promoveu ganhos em variáveis radiculares importantes, apresentando desempenho semelhante ao de cepas já utilizadas em bioinsumos comerciais, o que reforça seu potencial agrônomo.

Diante disso, conclui-se que a Bac-Amy possui características compatíveis com o uso como bioinsumo multifuncional. Como desdobramento, recomenda-se a realização de testes em condições de campo, em diferentes tipos de solo e culturas, para validação da sua eficiência, além de ensaios de compatibilidade com outras cepas de interesse agrícola, o que pode viabilizar formulações consorciadas.

Sugere-se também, a realização de estudos de caracterização molecular com foco na identificação e mapeamento de genes relacionados à promoção de crescimento vegetal, o que pode contribuir para a compreensão dos mecanismos de ação da cepa e otimização, sendo subsídio para futuras aplicações biotecnológicas e aprimoramentos em formulações comerciais.

## REFERÊNCIAS

- AHUJA, I.; VOS, R. C. H.; BONES, A. M.; HALL, R. D. Plant molecular stress responses face climate change. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 12, p. 664-674, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.08.002>. Acesso em: jun. 2025.
- AMARAL, L. A.; SOUZA, C. A. A.; ALMEIDA, L. R.; OLIVEIRA, L. S. M.; LUTOSA, F. J. F.; SOUZA, M. F. M.; MELO, L. C. A. Selected bacterial strains enhance phosphorus availability from biochar-based rock phosphate fertilizer. **Annals of Microbiology**, v. 70, n. 6, 2020.
- AMRI, M.; RJEIBI, M. R.; GATROUNI, M.; MATEUS, D. M. R.; ASSES, N.; PINHO, H. J. O.; ABBES, C. Isolation, Identification, and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacteria from Tunisian Soils. **Microorganisms**, v. 11, n. 783, p. 1-14, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030783>. Acesso em: dez. 2025.
- AMTMANN, A.; ARMENGAUD, P. Effects of N, P, K and S on metabolism: new knowledge gained from multi-level analysis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 275–283. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.014>. Acesso em: jun. 2025.
- ARMANDEH, M.; MAHMOUDI, N.; NOSRATABAD, A. R. F. Screening and evaluation of phosphate-solubilizing bacteria isolated from aquaculture ponds in a step-by-step strategy as potential biofertilizer. **Journal of Applied Microbiology**, v. 133, n. 3, p. 1581-1596, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jam.15660>. Acesso em: jun. 2025.
- BARROSO, V. M.; ROCHA, L. O.; REIS, T. A.; REIS, G. M.; DUARTE, A. P.; MICHELOTTO, M. D.; CORREA, B. Fusarium verticillioides and fumonisin contamination in Bt and non-Bt maize cultivated in Brazil. **Mycotoxin Research**, v. 33, p. 121-127, 2017. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/314275130\\_Fusarium\\_verticillioides\\_and\\_fumonisin\\_contamination\\_in\\_Bt\\_and\\_non-Bt\\_maize\\_cultivated\\_in\\_Brazil](https://www.researchgate.net/publication/314275130_Fusarium_verticillioides_and_fumonisin_contamination_in_Bt_and_non-Bt_maize_cultivated_in_Brazil). Acesso em: out. 2024.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J. P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and Soil**, v. 378, p. 1–33, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x>. acesso em: dez. 2024.
- BERRAQUERO, F. R.; BAYA, A. M.; CORMENZANA, A. R. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. **Ars Pharmaceutica**, v.17, n. 4, p.399- 406, 1976.
- BILLAH, M.; KHAN, M.; BANO, A.; HASSAN, T. U.; MUNIR, A.; GURMANI, A. R. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. **Geomicrobiology Journal**, v. 36, n. 10, p. 904-916, 2019.
- BIOMA INDÚSTRIA DE BIOLÓGICOS. Bioma Fix: inoculante para culturas agrícolas. Disponível em: <https://bioma.ind.br/produto/bioma-fix/>. Acesso em: jun. 2025.
- CANTARELLI, A. B.; MORENO, T. F. Agricultura sustentável: conciliando a produção agrícola e a segurança alimentar com a preservação ambiental. **Climática Eco**, 17 set. 2024.

Disponível em: <https://climatica.eco.br/agricultura-sustentavel-conciliando-a-producao-agricola-e-a-seguranca-alimentar-com-a-preservacao-ambiental/>. Acesso em: mai. 2025.

CHEN, Q.; LIU S. Identification and Characterization of the Phosphate-Solubilizing *Bacterium Pantoea* sp. S32 in Reclamation Soil in Shanxi, China. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 2171, p. 1-12, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02171>. Acesso em: mai. 2025.

CHEN, X.; KOUMOUTSI, H.; SCHOLZ, A.; BORRIS, R. More than anticipated-Production of antibiotics and other secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, v. 16, p. 14-24. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000142891>. Acesso em: nov. 2024.

CHENG, Y.; Narayanan, M.; Shi, X.; Chen, X.; Li, Z.; Ma, Y. Phosphate-solubilizing bacteria: Their agroecological function and optimistic application for enhancing agro-productivity. **Science of The Total Environment**, v. 901, 166468p., 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166468>. Acesso em: jun. 2025.

CHUNG, S.; KONG, H.; BUYER, J. S.; LAKSHMAN, D. K.; LYDON, J.; KIM, S. D.; ROBERTS, D. P. Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME488 for suppression of soil borne pathogens of cucumber and pepper. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, n. 1, p. 115-123, 2008.

DIAS, A. S.; SANTOS, C. C. Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso. Pantanal Editora. 98p. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.46420/9786581460631>. Acesso em: set. 2024.

m

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Como Isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Brasília: Embrapa-SPI. 60p. 1995.

EMBRAPA; IPA. CMS 36: BR 5036: milho para a Chapada do Araripe. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária: Serviço de Produção de Sementes Básicas; Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1990. Folder. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/487299>. Acesso em: jun. 2025.

ENGVALL, E.; PERLMANN, P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. **Immunochemistry**, v. 8, n. 9, p. 871-874, 1971. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0019-2791\(71\)90454-X](https://doi.org/10.1016/0019-2791(71)90454-X). Acesso em: jun. 2025.

FAN, Y.; LIN, F.; YANG, L.; ZHONG, X.; WANG, M.; ZHOU, J.; CHEN, Y.; YANG, Y. Decreased soil organic P fraction associated with ectomycorrhizal fungal activity to meet increased P demand under N application in a subtropical forest ecosystem. **Biology and Fertility of Soils**, v. 54, p. 149-161, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00374-017-1251-8>. Acesso em: jun. 2025.

FERREIRA, D. F. SISVAR - Sistema de análise de variância. Versão 5.6. Lavras: Universidade Federal de Lavras. 2015. Disponível em: <https://des.ufla.br/~danielff/programas/sisvar.html>. Acesso em: dez. 2024.

FIGUEIREDO, J. E. F.; DINIZ, G. F. D.; MARINS, M. S.; SILVA, F. C.; RIBEIRO, V. P.; LANZA, F. E.; PAIVA, C. A. O.; MAGALHÃES, V. C. *Bacillus velezensis* CNPMS-22 as biocontrol agent of pathogenic fungi and plant growth promoter. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, p. 1-16, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1522136>. Acesso em jun. 2025.

FITZSIMONS, M. S.; MILLER, R. M. The importance of soil microorganisms for maintaining diverse plant communities in tallgrass prairie. **American Journal of Botany**, v. 97, n. 12, p. 1937-1943, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3732/ajb.0900237>. Acesso em: jun. 2025.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 623-633, 2010. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2415>. Acesso em: jan. 2025.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATIONS OF THE UNITED NATIONS (FAO). The future of food and agriculture – Drivers and trig for transformation. **The Future of Food and Agriculture**, v. 3, p. 1-444, 2022. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/items/66a787f4-af91-4f6e-b436-560010ab72d4>. Acesso em: mai. 2025.

FRAGOSO, D. B.; CARDOSO, E. A. Expansão da Agricultura no estado do Tocantins. *In*: COLLICCHIO, E.; ROCHA, H. R. **Agricultura e mudanças do clima no estado do Tocantins: vulnerabilidades, projeções e desenvolvimento**. Palmas, TO: EdUFT, 2022. cap. 2, p. 51-65. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1142986>. Acesso em: mai. 2025.

GOULD, G. W. **Mechanisms of action of food preservation procedures**. 1. Ed. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1989. 441p, il. Bibliografia: p.119-160. ISBN-13 978-1851662937.

GOMES, E. A.; MARRIEL, I. E.; PAIVA, C. A. O.; SOUSA, S. M.; LANA, U. G. P.; TAVARES, A. N. G.; GODINHO, B. T. V. Isolamento e Potencial Uso de Bactérias do Gênero *Bacillus* na Promoção de Crescimento de Plantas em Condições de Déficit Hídrico. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; v. 192, 2019. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1114738/1/bol192.pdf>. Acesso em: nov. 2024.

GOMES, E. A.; SILVA, U. C.; PAIVA, C. A. O.; LANA, U. G. P.; MARRIEL, I. E.; SANTOS, V. L. **Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas**. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG, 1ª edição, 2016. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/161283/1/doc-208.pdf>. Acesso em: jan. 2025.

GORDON, S. A.; WEBER, R. P. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. **Plant Physiology**, v. 26, n. 1, p. 192-195, 1951. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.26.1.192>. Acesso em: dez. 2024.

GRAÇAS, J. P.; RIBEIRO, C.; COELHO, F. A. A.; CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, P. R. C. Microrganismos estimulantes na agricultura. **Série Produtor Rural**, 56p, ISSN 1414-4530. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2015. Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/biblioteca/sites/default/files/publicacoes-a-venda/pdf/SPR59.pdf>. Acesso em: jan. 2025.

GUIMARÃES, D. P.; COSTA, F. A.A.; RODRIGUES, M. I.; MAUGERI, F. Optimization of dextran synthesis and acidic hydrolisis by surface response analysis. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 16, n. 2, p.129-139, 1999.

GUPTA, R.; SINGAL, R.; SHANKAR, A.; KUHAD, R. C.; SAXENA, R. K. A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 40, p. 255-260, 1994. Disponível em: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jgam1955/40/3/40\\_3\\_255/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jgam1955/40/3/40_3_255/_pdf). Acesso em: jun. 2025.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ALLAH, E. F. A. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, p. 1291-1297, 2019. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6734152/pdf/main.pdf>. Acesso em: dez. 2024.

IDRISS, E. E.S.; MAKAREWICZ, O.; FAROUK, A. ROSNER, K. GREINER, R. BOCHOW, H; RICHTER, T.; BORRIS, R. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. **Microbiology**, v. 148, p. 2097–2109, 2002.

INUI, R. N. Isolamento e identificação de bactérias Solubilizadoras de fósforo e produtoras de Auxinas em solo com cana-de-açúcar *Bacillus* spp. e a promoção de crescimento vegetal: um enfoque na solubilização e mineralização de fosfato durante interação com cana-de-açúcar. Orientadora: Eliana Gertrudes de Macedo Lemos. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2023. Disponível em: <https://www.fcav.unesp.br/Home/download/pgtrabs/gmp/m/3780.pdf>. Acesso em: jan. 2025.

KALAYU, G. Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers. **International Journal of Agronomy**, ID 4917256, p. 7, 2019.

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. L.; PARMA, M. M.; AVILA, L. A.; VISCONTI, A.; ZUCCHI, T. D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, v. 168, p. 183-191, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.002>. Acesso em: dez. 2024.

KISCHNER, P. VIONE, C. I. B.; FERNANDES, S. B. V.; THESING, N. J. Sustentabilidade no Ambiente do Agronegócio. **Educação Ambiental**. ISSN 1678-0701, v. XXII, nº. 65, 2018. Disponível em: <http://www.revistaeea.org/artigo.php?idartigo=3385>. Acesso em: set. 2024.

KLOEPPER, J. W.; SCHROTH, M. N. **Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes**. Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. 1978.

LANA, U. G. P.; RIBEIRO, V. P.; GOMES, E. A.; OLIVEIRA, C. A. Seleção em Larga Escala de Bactérias Produtoras do Hormônio Ácido Indolacético (AIA), Auxina Associada à Promoção de Crescimento em Plantas. **Embrapa Milho e Sorgo, Documentos**, v. 218, p. 1-12, 2024. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1086296/1/doc218.pdf>. Acesso em: dez. 2024.

LANDIM, L. F.; SANTOS, A. F. J. Produção de biopolímero por rizobactérias associadas a cactáceas. **71ª Reunião Anual da SBPC**, Campo Grande-MS, 2019. Disponível em: [http://reunioessbpc.org.br/campogrande/inscitos/resumos/1285\\_16e4c84de9a19688d8d7731ff9347bab6.pdf](http://reunioessbpc.org.br/campogrande/inscitos/resumos/1285_16e4c84de9a19688d8d7731ff9347bab6.pdf). Acesso em: jan. 2025.

LEE, S.; KIM, H.; KIM, S.; KWAK, K.; KO, S. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from soil. **Korean Journal of Soil Science and Fertilizer**, v. 58, n. 1, p. 27-37, 2025. Disponível em: <https://www.kjssf.org/articles/article/vR2W/>. Acesso em: jun. 2025.

LIU, C.; MUCHHAL, U. S.; UTHAPPA, M.; KONONOWICZ, A. K.; RAGHOTHAMA, K. G. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissue by phosphorus. **Plant Physiology**, v. 116, n. 1, p. 91-99, 1998.

LIU, J. Depressed Biofilm Production in *Bacillus amyloliquefaciens* C06 Causes  $\gamma$ -Polyglutamic Acid ( $\gamma$ -PGA) Overproduction. **Curr Microbiol**, v. 26, p. 235-241, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9696-0>. Acesso em: jan. 2025.

LIU, Y.; STEFANIC, P.; MIAO, Y.; XUE, Y.; XUN, W.; ZHANG, N.; SHEN, Q.; ZHANG, R.; XU, Z.; MULEC, I. M. Housekeeping gene *gyrA*, a potential molecular marker for *Bacillus* ecology study. **AMB Express**, v. 12, p. 1-12, 2022. Disponível em: <https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/s13568-022-01477-9>. Acesso em: mai. 2025.

LONHIENNE, C. P.; WATANAROJANAPORN, N.; JAEMSAENG, R. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Enhance the Efficiency of the Combination of Organic and Chemical Fertilisers in Sugarcane. **Open Journal of Ecology**, v. 10, p. 440-444, 2020. Disponível em: [https://www.scirp.org/pdf/oje\\_2020062915233499.pdf](https://www.scirp.org/pdf/oje_2020062915233499.pdf).

MANNING, R. Foods Frontier: the next green revolution. University of California Press. 208p. 2000. Disponível em: [http://scholar.google.com/scholar\\_lookup?&title=Food%27s%20Frontier%3A%20The%20Next%20Green%20Revolution&publication\\_year=2000&author=Manning%2CR](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Food%27s%20Frontier%3A%20The%20Next%20Green%20Revolution&publication_year=2000&author=Manning%2CR). Acesso em: set. 2024.

MARTINS, S. A.; SCHURT, D. A.; SEABRA, S. S.; MARTINS, S. J.; RAMALHO, M. A. P.; MOREIRA, F. M. S.; SILVA, J. C. P.; SILVA, J. A. G.; MEDEIROS, F. H. V. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth promotion and biocontrol by rhizobacteria under *Rhizoctonia solani* suppressive and conducive soils. **Applied Soil Ecology**, v. 127, p. 129-135, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.03.007>. Acesso em: jun. 2025.

MCCORMACK, M. L.; DICKIE, I. A.; EISSENSTAT, D. M.; FAHEY, T. J.; FERNANDEZ, C. W.; GUO, D.; HELMISAARI, H. S.; HOBBIE, E. A.; IVERSEN, C. M.; JACKSON, R.

B.; KUJANSUU, J. L.; NORBY, R. J.; PHILLIPS, R. P.; PREGITZER, K. S.; PRITCHARD, S. G.; REWALD, B.; ZADWORNÝ, M. Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes. **New Phytologist**, v. 207, p. 505-518, 2015. Disponível em: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/nph.13363>. Acesso em: mai. 2025

MELO, G. C. **Solubilização de fosfato por *Bacillus* spp.** Orientadora: Élide Barbosa Corrêa. 2023. 26 f. Artigo (Bacharelado em Agroecologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Lagoa Seca, 2023. Disponível em: <http://dspace.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/123456789/32246>. Acesso em: jan. 2025.

MORALLES, L. C. P. O Agronegócio e a Agenda de Sustentabilidade. **Vozes do Agro, Globo rural**, 2023. Disponível em: <https://globorural.globo.com/opiniaovozes-do-agro/noticia/2023/06/o-agronegocio-e-a-agenda-de-sustentabilidade.ghtml?form=MG0AV3>. Acesso em: set. 2025.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 27, p.31-36, 1962.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiol Letters**, 170, n. 1, p. 265-270, 1999.

NEGRI, B. F.; HUFNAGEL, B. M.; BERNARDINO, K. C.; PASTINA, M. M.; MAGALHÃES, J. V.; SOUSA, S. M. Caracterização Morfológica do Sistema Radicular de Linhagens Endogâmicas Recombinantes de Sorgo sob Baixo Nível de Fósforo. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. nº. 98, p.25, ISSN 1679-0154, 2014. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/999533>. Acesso em: abr. 2025.

NOSENGO, N. Fertilized to death. **Nature**, v. 425, p. 894-895, 2003. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/425894a>. Acesso em: jun. 2025.

NOVO, L. A. B.; CASTRO, P. M. L.; ALVARENGA, P.; SILVA, E. F. Plant growth-promoting rhizobacteria-assisted phytoremediation of mine soils. **Bio-geotechnologies for Mine Site Rehabilitation**, v. 16, p. 281–295. DOI: 10.1016/B978-0-12-812986-9.00016-6. 2018.

OLIVEIRA, A. L. M.; COSTA, K. R.; FERREIRA, D. C.; MILANI, K. M. L.; SANTOS, O. J. A. P.; SILVA, M. B.; ZULUAGA, M. Y. A. Biodiversity of soil bacteria and its applications for a sustainable agriculture. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 3, n. 1, p. 56-77, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/2316-5200.2014v3n1p56>. Acesso em: jun. 2025

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal. **Embrapa Agrobiologia, Documentos (INFOTECA-E)**, v. 161, p. 1-21, 2003. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/624875/1/doc161.pdf>. Acesso em: mai. 2025.

ORSEL, M.; CHOPIN, F.; LELEU, O.; SMITH, S. J.; KRAPP, A.; VEDELE, D. F.; MILLER, A. J. Characterization of a two-component high-affinity nitrate uptake system in

arabidopsis. physiology and protein-protein interaction. **Plant Physiology**, v. 142, p. 1304-1317, 2006. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1630756/>. Acesso em: jun. 2025.

PAIVA, C. A. O.; BINI, D.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SANTOS, F. C.; COTA, L. V.; SOUSA, S. M.; ALVES, V. M. C.; LANA, U. G. P.; SOUZA, F. F. Inoculante à base de bactérias solubilizadoras de fosfato nas culturas do milho e da soja (BiomaPhos®): dúvidas frequentes e boas práticas de inoculação. **Comunicado Técnico**. Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0162, v. 252, 2021. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1135409/1/COT-252-BiomaPhos-duvidas-frequentes-e-boas-praticas.pdf>. Acesso em: jan. 2025.

PAIVA, C. A. O.; BINI, D.; SOUSA, S. M.; RIBEIRO, V. P.; SANTOS, F. C.; LANA, U. G. P.; SOUZA, F. F.; GOMES, E. A.; MARRIEL, I. E. Inoculation with *Bacillus megaterium* CNPMS B119 and *Bacillus subtilis* CNPMS B2084 improve P-acquisition and maize yield in Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1-13, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1426166>. Acesso em: jun. 2024.

PARRILLI, E.; TUTINO, M. L.; MARINO, G. Biofilm as an adaptation strategy to extreme conditions. **Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali**, v. 33, p. 527–536, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12210-022-01083-8>. Acesso em: jun. 2025.

PAULO, E. M.; VASCONCELOS, M. P.; OLIVEIRA, I. S.; AFFE, H. M. J.; NASCIMENTO, R.; MELO, I. S.; ROQUE, M. R. A.; DE ASSIS, S. A. An alternative method for screening lactic acid bacteria for the production of exopolysaccharides with rapid confirmation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 4, p. 710-714, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612012005000094>. Acesso em: dez. 2024.

QIN, Y.; SHANG, Q.; ZHANG, Y.; LI, P. CHAI, Y. *Bacillus amyloliquefaciens* L-S60 Reforms the Rhizosphere Bacterial Community and Improves Growth Conditions in Cucumber Plug Seedling. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1-12, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02620>. Acesso em: jun. 2025.

RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LIB, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 10-18, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.019>. Acesso em: jun. 2025.

RICCI, M.; TILBURY, L.; DARION, B.; SUKALAC, K. General Principles to Justify Plant Biostimulant Claims. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 494, p. 1-8, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2019.00494/pdf>. Acesso em: jun. 2025.

RICHARDSON, A. E.; HADOBAS, P. A.; HAYES, J. E.; O'HARA, C. P.; SIMPSON, R. J. Utilization of phosphorus and pasture plants supplied with myo-inositol hexaphosphate is enhanced by the presence of soil microorganisms. **Plant and Soil**, v. 229, p. 47- 56, 2001.

ROCHA, I. F.; CAVALCANTE, F. G.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Tolerância à temperatura de cepas de actinobactérias isoladas de solo do semiárido nordestino. **Encontros Universitários da UFC**, v. 6, n. 2, p. 1779, 2021. Disponível em: <https://periodicos.ufc.br/eu/article/view/74902>. Acesso em: mai. 2025.

RYU, C. M.; FARAG, M. A.; HU, C. H.; REDDY, M. S.; WEI, H. X.; PARÉ, P. W.; KLOEPER, J. W. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 8, p. 4927-4932. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/epdf/10.1073/pnas.0730845100>. Acesso em: jun. 2025.

SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **Life Sciences and Medicine Research**, v. 21, p. 1-30, 2011.

SAMANTARAY, A.; CHATTARAJ, S.; MITRA, D.; GANGULY, A.; KUMAR, R.; GAUR, A.; MOHAPATRA, P. K.; VILLALOBOS, S. L. S.; RANI, A.; THATOI, H. Advances in microbial based bio-inoculum for amelioration of soil health and sustainable crop production. **Current Research in Microbial Sciences**, v. 7, p. 1-19, 2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11334944/pdf/main.pdf>. Acesso em: jun. 2025.

SANTOS, I. S.; MANTOVANI, E. C.; VENANCIO, L. P.; CUNHA, F. F.; ALEMAN, C. C. Controlled water stress in agricultural crops in Brazilian cerrado. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 3, p. 886-895, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/BJ-v36n3a2020-47862>. Acesso em jun. 2025.

SARWAR, M.; KREMER, R. J. Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. **Letters in Applied Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 282-285, 1995. Disponível em: <https://www.ars.usda.gov/ARSEUserFiles/50701000/cswq-0130-kremer.pdf>. Acesso em: nov. 2024.

SHARMA, R.; PAL, J.; KAUR, M. Isolation of phosphate solubilizing *Pseudomonas* strains from apple rhizosphere in the Trans Himalayan region of Himachal Pradesh, India. **BioRxiv**, 193672, 2017.

SHETEIWY, M. S.; ELGAWAD, S. A.; XIONG, Y.; MACOVEI, A.; BRESTIC, M.; SKALICKY, M.; SHAGHALEH, H.; HAMOUD, Y. A.; SAWAH, A. M. Inoculation with *Bacillus amyloliquefaciens* and mycorrhiza confers tolerance to drought stress and improve seed yield and quality of soybean plant. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 4, p. 2153-2169, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppl.13454>. Acesso em: jun. 2025.

SILVA, E. P.; DINAS, S. S. E.; JAMBEIRO, I. C. A.; FEITOZA, A. F. A.; SANTOS, A. F. J. *Screening* funcional de bactérias da filosfera de plantas nativas da caatinga. **Revista Ouricuri**, v. 15, n. 1, p. 03-20, 2025. Disponível em: <https://www.revistas.uneb.br/index.php/ouricuri/article/download/19073/15590/82586>. Acesso em: jun. 2025.

SILVA, F. C.; RODRIGUES, V. A.; SANTOS, B. R.; RIBEIRO, V. P.; BINI, D.; SOUZA, F. F.; SANTOS, F. C.; MARRIEL, I. E.; PAIVA, C. A. O. Efeitos de métodos de aplicação do inoculante composto por bactérias solubilizadoras de fosfato na produção e nutrição do milho. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, n. 270, 11 p., 2024. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1170860/1/Efeitos-de-metodos-de-aplicacao-do-inoculante.pdf>. Acesso em: jun. 2025.

SILVA, K.; CHALITA, P. B.; FARIAS, E. N. C.; VITAL, M. J. S.; ALBUQUERQUE, T. C. S. Solubilização de fosfato de cálcio por bactérias endofíticas isoladas de raízes de castanha-do-Brasil. **XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, Natal-RN. O Solo e suas múltiplas funções, 4 p., 2015. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1026022/1/2249.pdf>. Acesso em: mai. 2024,

SILVA, M. L.; FIGUEIRÔA, C. S.; MERGULHÃO, A. C. E. S.; LYRA, M. C. C. P. Identificação de bactérias diazotróficas isoladas em cultivares de palma (*Opuntia* e *Nopalea*) usando o gene *recA*. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 2, p. 577-583, 2015. Disponível em: <https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/1b7bd8d6-dd44-4f7b-85ae-f189fd1a01a0/content>. Acesso em: dez. 2024.

SLEPECKY, R. A.; HEMPHILL, H. E. The genus *Bacillus* — Nonmedical. *In*: Dworkin, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K. H.; STACKEBRANDT, E. **The Prokaryotes**. New York, Springer, 2006. p. 530-562. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3\\_16](https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_16). Acesso em: jan. 2025.

SOAVE, J. M. ***Bacillus* spp. e a promoção de crescimento vegetal: um enfoque na solubilização e mineralização de fosfato durante interação com cana-de-açúcar.** Orientadora: Maria Carolina Quecine Verdi. 2023. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2023. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64133/tde-04092023-152224/pt-br.php>. Acesso em: jan. 2025.

SOMERS, E.; VANDERLEYDEN, J.; SRINIVASAN, M. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 30, p. 205–240, 2004.

SOUSA, S. M.; CLARK, R. T.; MENDES, F. F.; OLIVEIRA, A. C.; VASCONCELOS, M. J. V.; PARENTONI, S. N.; KOCHIAN, L. V.; GUIMARÃES, C. T.; MAGALHÃES, J. V. A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize. **Functional Plant Biology**, v. 39, p. 925-935, 2012.

SOUSA, S. M.; OLIVEIRA, C. A.; ANDRADE, D. L.; CARVALHO, C. G.; RIBEIRO, V. P.; PASTINA, M. M.; MARRIEL, I. E.; LANA, U. G. P.; GOMES, E. A. Tropical *Bacillus* strains inoculation enhances maize root surface area, dry weight, nutrient uptake and grain yield. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 867-877, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10146-9>. Acesso em mai. 2025.

SOUSA, S. M.; OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A.; LANA, U. G. P.; SANTOS, N. G.; OLIVEIRA, L. B.; BATISTA, F. C. Avaliação de plântulas de milho em solução nutritiva sob a ação de bioestimulantes à base de microrganismos. **XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. Bento Gonçalves-RS, 2016. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1054133/1/Avaliacaoplantulas.pdf>. Acesso em: dez. 2024.

SOUZA, M. S. T.; BRASIL, M. S.; SANTOS, S. A. Caracterização de bactérias diazotróficas isoladas de gramíneas nativas do Pantanal Sul Mato-Grossense. **XXXII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, Fortaleza-CE. O solo e a produção de bioenergia: perspectivas e desafios. Fortaleza: SBCS: UFC, 5 p., 2009.

- STEPANOVIĆ, S.; VUKOVIĆ, D.; HOLA, V.; BONAVENTURA, G. D., DJUKIĆ, S.; ĆIRKOVIĆ, I.; RUZICKA, F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by *Staphylococci*. **Journal of Pathology, Microbiology and Immunology**, v. 115, n. 8, p. 891-899, 2007.
- SUTHERLAND, I. W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. **Microbiology**, v. 147, n. 1, p. 3-9, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00221287-147-1-3>. Acesso em: jan. 2025.
- VÁSCONEZ, R. D. A.; MOSSOT, J. E. M.; SHAGÑAY, A. G. O.; MOYA, E. M. T.; UTRERAS, V. P. C.; SUQUILLO, I. A. V. Evaluación de *Bacillus* spp. como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y lechuga (*Lactuca sativa*). **Ciencia & Tecnología Agropecuaria**, v. 21, n. 3, p. 1-16. Disponível em: [https://doi.org/10.21930/rcta.vol21\\_num3\\_art:1465](https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1465). Acesso em jun. 2025.
- VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, p. 571-586, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>. Acesso em: jun. 2025.
- VILELA, A. E.; LANA, U. G. P.; TINOCO, S. M. S.; PAIVA, C. A. O.; GOMES, E. A. Seleção e Caracterização de Cepas de *Bacillus* para Mitigação dos Efeitos da Restrição Hídrica e Estresse Salino em Plantas de Milho. **XXXIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. Sete Lagoas, MG, 2022.
- VURUKONDA, S. S. K. P.; GIOVANARDI, D.; STEFANI, E. Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. **International Journal Molecular Science**, v. 19, n. 4, p. 1-952, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms19040952>. Acesso em: set. 2024.
- WAGI, S.; AHMED, A. **Bacillus spp.**: potent microfactories of bacterial IAA. *Peer J*, v.7: e 7258, 2019.
- WANG, Q.; OU, E. L.; WANG, P. C.; CHEN, Y.; WANG, Z. Y.; WANG, Z. W.; FANG, X. W.; ZHANG, J. L. *Bacillus amyloliquefaciens* GB03 augmented tall fescue growth by regulating phytohormone and nutrient homeostasis under nitrogen deficiency. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1-15, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.979883>. Acesso em: jun. 2025.
- WU, Y.; YANG, X.; ZHAO, Y.; ZHANG, J.; GAO, Y.; WANG, Q.; LI, J. Physio-biochemical and transcriptomic analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* PG-4-induced salt stress tolerance in *Macrotyloma uniflorum*. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 8, p. 1-20, 2024. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsufs.2024.1386079/full>. Acesso em: mai. 2025.
- YOUSUF, J.; THAJUDEEN, J.; RAHIMAN, M.; KRISHNANKUTTY, S.; ALIKUNJ, A. P.; ABDULLA, M. H. A. **Nitrogen fixing potential of various heterotrophic Bacillus strains from a tropical estuary and adjacent coastal regions**. *Journal Basic Microbiology*, v.57(11), p.922-932, 2017.

ZAID, D. S.; CAI, S., HU, C.; LI, Z.; LI Y. Comparative Genome Analysis Reveals Phylogenetic Identity of *Bacillus velezensis* HNA3 and Genomic Insights into Its Plant Growth Promotion and Biocontrol Effects. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 1, 2022.

ZHOU, H.; CHEN, M. LI, B.; CHEN, H.; WANG, H.; WHANG, S.; LUAN, B.; LIU, B. MutL Significantly Regulates the Formation of Biofilms in *Bacillus amyloliquefaciens* YT1. **Agriculture**, v. 14, n. 7, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture14071193>. Acesso em: jan. 2025.