



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

ANGELO BARREIRO GARCIA

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE  
CRESCIMENTO DE PLANTAS**

---

Londrina

2025

ANGELO BARREIRO GARCIA

Potencial Biotecnológico de Bactérias Promotoras de Crescimento de  
Plantas

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Admilton Gonçalves de Oliveira Junior

Londrina  
2025

G216p Garcia, Angelo Barreiro Garcia .

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS / Angelo Barreiro Garcia Garcia. - Londrina, 2025.

79 f. : il.

Orientador: Admilton Gonçalves de Oliveira Junior.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2025.

Inclui bibliografia.

1. Microbiologia - Tese. 2. Biotecnologia - Tese. 3. Agricultura - Tese. 4. Sustentabilidade - Tese. I. Gonçalves de Oliveira Junior, Admilton . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

CDU 579

ANGELO BARREIRO GARCIA

Potencial Biotecnológico de Bactérias Promotoras de Crescimento de  
Plantas

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Admilton Gonçalves de Oliveira Junior  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Sergio Ruffo Roberto  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira  
Empresa Brasileira de Pesquisa  
Agropecuária – EMBRAPA

---

Dra. Sandrielle Aparecida Noriler  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Gerson Nakazato  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 28 de Fevereiro de 2025.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Antônio Ricardo e Maria Cristina, por todo o suporte e incentivo que me deram condições de continuar estudando, sempre estiveram ao meu lado e não me deixaram desistir;

A minha namorada, Paula, que sempre me incentivou, acolheu e ajudou no dia a dia do laboratório em diferentes experimentos e desafios encontrados, e em tantos outros aspectos da vida trazendo alegria e conforto para todos os momentos;

Aos meus amigos, Eduardo, Emanuel, Ezequiel, Giovanni, Gustavo, Ian, Paulo, Pedro Afonso, Pedro Frutuoso, William, por toda a parceria, incentivos e momentos de felicidade e alegria;

Aos amigos e parceiros de trabalho do Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Admilton, Beatriz, Claci, Daniel, Déborah, Fauzze, Gabriel, Guilherme, Gustavo, João Paulo, Maria Luiza, Marcos Gaeta, Marcus Vinicius, Nathan, Roberto, Sandi, por todo o auxílio na execução do trabalho e conhecimentos compartilhados;

Ao meu Orientador e amigo Prof. Dr. Admilton Gonçalves de Oliveira Junior por toda a paciência, ensinamentos e pela oportunidade que me deu de realizar esse trabalho;

Ao Dr. Ulisses Nunes da Rocha e equipe do Departamento de Microbiologia Ambiental Centro Helmholtz de Pesquisa Ambiental – UFZ, por todo o suporte no sequenciamento de genomas;

Agradeço também a banca examinadora, Prof. Dr. Sergio Ruffo Roberto e Prof. Dr. Marco Antônio Nogueira pelo tempo dedicado e contribuição para meu aprendizado e formação;

Agradeço à Universidade Estadual de Londrina pelo privilegiado ensino superior de alta qualidade. Aos professores e funcionários, minha gratidão pelo trabalho árduo e contribuições essenciais para minha formação acadêmica. À Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (PROPPG) e ao Departamento de Microbiologia, meu reconhecimento pelo apoio institucional. Ao órgão de fomento CAPES por disponibilizar a ajuda monetária essencial para que fosse possível a realização deste trabalho;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de

Financiamento 001;

Por fim, agradeço a todos aqueles que me incentivaram, direta ou indiretamente, a finalizar o mestrado e este trabalho de conclusão.

## RESUMO

GARCIA, Angelo Barreiro. **Potencial biotecnológico de bactérias promotoras de crescimento de plantas**. 2023 – 2025. 78. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023 - 2025.

O uso de bioinsumos microbianos surge como uma estratégia sustentável e promissora para o desenvolvimento de defensivos, bioestimulantes e fertilizantes, contribuindo para a produtividade agrícola e a redução do impacto ambiental. Este trabalho avaliou o potencial de 24 estirpes bacterianas do solo em promover o crescimento vegetal, destacando a produção de fitormônios e o controle de patógenos e doenças. As linhagens foram caracterizadas quanto à coloração de Gram, formação de endósporos por microscopia óptica de contraste de fase, produção de ácido-3-indolacético (AIA) em ensaios *in vitro*, capacidade de antagonismo a fitopatógenos em cultura dupla, formação de biofilme do tipo película em meio líquido e expansão por *swarming* em meio semi-solidificado. Das estirpes avaliadas, 23 foram Gram-positivos e apresentaram capacidade de formar endósporos, enquanto um isolado foi Gram-negativo, sem essa característica. A maioria das linhagens mostrou significativo potencial para produção de AIA e demonstrou mecanismos indiretos na promoção do crescimento vegetal, como o controle de patógenos e doenças. Esses resultados reforçam a importância de microrganismos do solo no desenvolvimento de bioinsumos agrícolas. Contudo, estudos adicionais são necessários para avaliar o desempenho das estirpes em condições de campo e aprofundar o entendimento de seus mecanismos de ação. Isso permitirá elevar o nível de maturidade tecnológica dessas linhagens, viabilizando sua aplicação como ativos biotecnológicos em soluções sustentáveis para a agricultura moderna.

**Palavras-chave:** RPCP; AIA; Biofilme; Biofungicida; Colonização.

## ABSTRACT

GARCIA, Angelo Barreiro. **Biotechnological potential of plant growth-promoting bacteria**. 2023 – 2025. 78. Dissertation (Master's Degree in Microbiology) – Department of Microbiology, State University of Londrina, Londrina, 2023 - 2025.

The use of microbial bioinputs has emerged as a sustainable and promising approach for developing biostimulants, biofertilizers, and biopesticides, contributing to increased agricultural productivity and reduced environmental impact. This study evaluated the potential of 24 soil bacterial isolates to promote plant growth, with a focus on the production of phytohormones and the control of pests and diseases. The isolates were characterized through Gram staining, endospore formation via phase-contrast microscopy, in vitro production of indole-3-acetic acid (IAA), antagonism against phytopathogens using dual culture assays, biofilm formation in liquid media, and *swarming* motility in semi-solid media. Among the isolates analyzed, 23 were Gram-positive and capable of forming endospores, while one was identified as Gram-negative, lacking this ability. Most isolates demonstrated a significant potential for IAA production and exhibited indirect mechanisms for plant growth promotion, such as pest and disease control. These findings highlight the crucial role of soil microorganisms in the development of agricultural bioinputs. However, further studies are required to assess the performance of these isolates under field conditions and to deepen our understanding of their modes of action. Such efforts are essential to enhance the technological readiness level of these strains, paving the way for their application as biotechnological assets in sustainable agricultural solutions.

**Key-words:** PGPR; IAA; Biofilm; Biofungicide; Colonization

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 - Sintomas ocasionados por <i>C. kikuchii</i> observados na soja.....   | 20 |
| Figura 2 - Sintomas ocasionados por <i>C. truncatum</i> observados na soja .....   | 21 |
| Figura 3 – Macrografias de colônias .....  | 39 |
| Figura 4 – Microscopia óptica de lâminas coradas pela coloração de Gram .....  | 40 |
| Figura 5 – Microscopia óptica de contraste de fase .....   | 41 |
| Figura 6 - Controle de <i>C. truncatum</i> em ensaios de cultura dupla. ....   | 45 |
| Figura 7 - Controle de <i>C. kikuchii</i> em ensaios de cultura dupla.....   | 46 |
| Figura 8 - Colônias em expansão por <i>swarming</i> . ....   | 49 |
| Figura 9 - Dendrograma das estirpes montada a partir da comparação com outros genomas de organismos modelo. ....             | 75 |
| Figura 10 - Árvore filogenética do isolado L340 montada a partir da comparação com outros genomas de organismos modelo ..... | 76 |
| Figura 11 - Árvore filogenética de genes 16s rRNA baseada em Distâncias Evolutivas FASTME.....                               | 78 |

## LISTA DE GRÁFICOS

|  |    |
|--|----|
| Gráfico 1 - Gráfico de barras com os valores de RCM (%) obtidos no ensaio contra <i>C. truncatum</i> .....             | 43 |
| Gráfico 2- Gráfico de barras com os valores de RCM (%) obtidos no ensaio contra <i>C. kikuchii</i> .....               | 43 |
| Gráfico 3 - Gráfico de barras com os diâmetros das colônias obtido nos ensaios de expansão por <i>swarming</i> . ..... | 48 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 – Linhagens de bactérias utilizadas no trabalho.....  | 33 |
| Tabela 2 - Caracterização macromorfológica das colônias.....   | 38 |
| Tabela 3 - Valores de RCM (%) obtidos em ensaios de cultura dupla.....   | 42 |
| Tabela 4 - Diâmetro de <i>swarming</i> obtido nos ensaios de expansão por <i>swarming</i> ...                    | 47 |
| Tabela 5 - Formação de biofilme quantificado por DO600 em diferentes tempos de incubação.....                    | 51 |
| Tabela 6 – Produção de compostos indolacético (µg/mL).....   | 52 |
| Tabela 7 - Valores de OrthoANI e dDDH da comparação entre as estirpes e as linhagens referência do GenBank ..... | 74 |
| Tabela 8 - Matriz de Distâncias Evolutivas FASTME entre Sequências 16S rRNA ..                                   | 77 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|             |  |
|-------------|--|
| ACC.....    | Aminociclopropano-1-carboxilato                    |
| AIA .....   | Ácido indol-3-acético                              |
| BDA.....    | Batata Dextrose Ágar                               |
| LABIM ..... | Laboratório de Biotecnologia Microbiana            |
| PIB .....   | Produto Interno Bruto                              |
| RCM .....   | Redução do Crescimento Micelial                    |
| RPCP .....  | Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas |
| SC .....    | Suspensão Celular                                  |
| TSA .....   | Triptona de Soja Ágar                              |
| TSB .....   | Triptona de Soja Caldo                             |
| UFC.....    | Unidades Formadoras de Colônias                    |

## SUMÁRIO

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>14</b> |
| <b>2</b> | <b>OBJETIVOS</b> .....   | <b>16</b> |
| 2.1      | OBJETIVO GERAL .....   | 16        |
| 2.2      | OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 16        |
| <b>3</b> | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....                                 | <b>17</b> |
| 3.1      | PERSPECTIVA ECONÔMICA E IMPORTÂNCIA DO AGRONEGÓCIO NO BRASIL ..... | 17        |
| 3.2      | FITOPATÓGENOS .....  | 18        |
| 3.3      | BIOINSUMOS MICROBIANOS AGRÍCOLAS .....                             | 21        |
| 3.4      | INTERAÇÕES BACTÉRIA-PLANTA .....                                   | 23        |
| 3.4.1    | Biofilme .....   | 24        |
| 3.4.1.1  | <i>Swarming</i> bacteriano .....                                   | 25        |
| 3.5      | APLICAÇÃO DAS RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS   | 26        |
| 3.6      | BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS .....               | 27        |
| 3.6.1    | Mecanismos de promoção de crescimento de plantas .....             | 28        |
| 3.6.1.1  | Produção de fitohormônios .....                                    | 28        |
| 3.6.1.2  | Nutrientes no solo .....   | 29        |
| 3.6.1.3  | Controle biológico de patógenos e doenças por bactérias .....      | 31        |
| <b>4</b> | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....                                   | <b>33</b> |
| 4.1      | ESTIRPES BACTERIANAS E PREPARO DE SUSPENSÃO DE CÉLULA (SC) .....   | 33        |
| 4.2      | CARACTERIZAÇÃO MICRO E MACROSCÓPICAS .....                         | 33        |
| 4.2.1    | Microscopia óptica .....   | 33        |
| 4.2.2    | Classificação macromorfológica .....                               | 34        |
| 4.3      | ANTAGONISMO CONTRA FUNGOS FITOPATOGÊNICOS .....                    | 34        |
| 4.3.1    | Fungos fitopatogênicos .....                                       | 34        |
| 4.3.2    | Cultura dupla .....  | 34        |
| 4.3.2.1  | Avaliação do experimento .....                                     | 35        |
| 4.4      | EXPANSÃO POR <i>SWARMING</i> .....                                 | 35        |
| 4.5      | FORMAÇÃO DE BIOFILME DO TIPO PELÍCULA .....                        | 36        |
| 4.6      | POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE COMPOSTOS INDÓLICOS .....                 | 36        |
| 4.7      | ANÁLISE ESTATÍSTICA .....  | 37        |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS</b> .....  | <b>38</b> |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 5.1      | CARACTERIZAÇÃO MICRO E MACROSCÓPICA .....      | 38        |
| 5.2      | ANTAGONISMO CONTRA FUNGO FITOPATOGÊNICOS ..... | 42        |
| 5.3      | EXPANSÃO POR <i>SWARMING</i> .....             | 47        |
| 5.4      | PRODUÇÃO DE BIOFILME DO TIPO PELÍCULA .....    | 50        |
| 5.5      | PRODUÇÃO DE COMPOSTOS INDÓLICOS .....          | 52        |
| <b>6</b> | <b>DISCUSSÃO .....</b>                         | <b>54</b> |
| <b>7</b> | <b>CONCLUSÃO .....</b>                         | <b>59</b> |
| <b>8</b> | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                        | <b>60</b> |
| <b>9</b> | <b>ANEXOS .....</b>                            | <b>74</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura moderna enfrenta desafios significativos para atender às crescentes demandas alimentares de uma população em expansão, enquanto busca soluções mais sustentáveis para a produção agrícola. O uso intensivo de agroquímicos sintéticos, embora amplamente adotado para aumentar a produtividade das lavouras, tem gerado impactos adversos ao meio ambiente, como a contaminação de solos, águas e da atmosfera, além de efeitos negativos para a saúde humana e de outros seres vivos. Muitos desses compostos são recalcitrantes, permanecendo por longos períodos no ambiente e causando toxicidade em organismos que não são alvos do controle químico (CHANDINI *et al.*, 2019; MAHANTY *et al.*, 2017).

Além disso, o uso excessivo e contínuo de agentes químicos favorece o surgimento de cepas resistentes, reduzindo a eficácia dos defensivos e aumentando os custos de produção agrícola (KIM; KABIR; JAHAN, 2017; RANI *et al.*, 2021). Nesse contexto, a busca por métodos que conciliem eficiência no controle de patógenos e doenças com a sustentabilidade ambiental é crucial para a manutenção da produtividade agrícola a longo prazo.

Entre as estratégias promissoras sendo implementadas no mercado, destaca-se o desenvolvimento de defensivos biológicos baseados em microrganismos, que oferecem uma abordagem sustentável para o controle de fitopatógenos e patógenos. Esses bioinsumos microbianos, frequentemente utilizados em conjunto com técnicas de manejo integrado, não apenas aumentam a eficácia no controle de doenças e patógenos, mas também minimizam o desenvolvimento de resistência e maximizam a aceitação de produtos agrícolas em mercados internacionais que exigem práticas agrícolas mais sustentáveis (COMPANT *et al.*, 2005; DE SOUZA; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2015; JACOBSEN; ZIDACK; LARSON, 2004).

Ao redor das raízes das plantas, a rizosfera, pode ser encontrado uma grande variedade de microrganismos pertencentes a todos os domínios (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Essa diversidade se deve à rizodeposição de diferentes compostos orgânicos e diferentes nutrientes que as plantas liberam em suas raízes através do processo de exsudação, essas condições influenciam a comunidade microbiana dos solos, por disponibilizarem tais compostos neste ambiente. A maior diversidade entre os microrganismos do solo é a diversidade bacteriana, dessa forma

o efeito rizosférico é mais pronunciado nessa comunidade (BALOTA, 2018).

Neste contexto, a compreensão das relações ecológicas benéficas entre plantas e os microrganismos do solo demonstra importância significativa (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; WEKESA *et al.*, 2021; GOHIL *et al.*, 2022), especialmente as bactérias, que podem realizar processos bioquímicos de fixação do nitrogênio atmosférico no solo, disponibilizar para as plantas minerais como fosfato e potássio, além de produzirem fitohormônios e sideróforos (ROCHA *et al.* 2018). Dentre essas bactérias se destacam os gêneros *Azospirillum*, *Pseudomonas* e *Bacillus* devido a sua capacidade de atuarem por diferentes mecanismos de promoção do crescimento e proteção vegetal, evidenciando sua multifuncionalidade nos ecossistemas. Tais gêneros são classificados como Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP) e vêm sendo utilizadas para o desenvolvimento de tecnologias no meio agrícola, a fim de estimular o crescimento vegetal, através dos chamados bioinsumos microbianos (MAPA, 2021). Uma outra capacidade notável desses microrganismos é o potencial de produção de metabólitos com atividade antifúngica, antibacteriana, nematicida, inseticida ou então o potencial de indução de resistência nas plantas, além da remediação do estresse hídrico através da produção de exopolissacarídeos (EPS) e capacidade de colonização das raízes, visto a presença de fatores intrínsecos como a produção de biofilme e mobilidade populacional por *swarming* (BACKER *et al.*, 2018; PATHANIA *et al.*, 2020; PII *et al.*, 2015). Toda essa capacidade ainda se mantém pouco explorada, já que apenas 10% da diversidade microbiana do solo é conhecida (ARMALYTÉ *et al.*, 2019), portanto muitos estudos serão conduzidos para melhor compreensão da diversidade.

Este trabalho, portanto, apresenta uma abordagem que explora o potencial biotecnológico de diferentes estirpes bacterianas como agentes de controle biológico e promoção do crescimento de plantas, contribuindo para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais eficientes e ambientalmente responsáveis.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar e avaliar estirpes bacterianas, isolados do solo, com potencial de promoção do crescimento de plantas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar fenotipicamente os estirpes;
2. Identificar geneticamente os estirpes;
3. Avaliar o potencial de atividade antifúngica *in vitro*;
4. Caracterizar os estirpes quanto a sua capacidade de mobilidade por *swarming in vitro*;
5. Caracterizar os estirpes quanto a sua capacidade de produção de biofilme de tipo película *in vitro*;
6. Avaliar e quantificar a produção de compostos indólicos, como o AIA.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 PERSPECTIVA ECONÔMICA E IMPORTÂNCIA DO AGRONEGÓCIO NO BRASIL

O agronegócio desempenha um papel estratégico no desenvolvimento econômico e social do Brasil, configurando-se como um dos principais setores responsáveis pela geração de riqueza, empregos e segurança alimentar. Representando aproximadamente 27% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional, sendo responsável por movimentar cerca de 2,3 trilhões de reais, segundo dados recentes da Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA, 2022), o setor é um dos pilares fundamentais da economia brasileira, impulsionando não apenas a produção agrícola e pecuária, mas também toda a cadeia produtiva, que engloba insumos, processamento, transporte e comercialização. O sucesso da agricultura no Brasil se deu pela disponibilidade de recursos naturais, das políticas governamentais, do conhecimento técnico-científico e da inovação tecnológica, que são fundamentais para o desenvolvimento da agricultura no país (Embrapa, 2018).

Além de sua contribuição expressiva para o PIB, o agronegócio é essencial para a garantia da segurança alimentar e, sendo responsável por produzir uma vasta gama de alimentos que atendem às necessidades do mercado interno e sustentam as exportações brasileiras. Com destaque para commodities como soja, milho, carne bovina e café, o Brasil consolida sua posição como um dos maiores exportadores globais de alimentos, contribuindo para o abastecimento de populações ao redor do mundo (EMBRAPA, 2022).

Em termos de impacto social, o setor emprega cerca de 19% dos trabalhadores do país (CEPEA/ESALQ-USP, 2022), abrangendo atividades rurais e urbanas. Desde trabalhadores envolvidos na produção primária, como agricultores e pecuaristas, até profissionais das áreas de logística, tecnologia e pesquisa, o agronegócio promove o desenvolvimento de mão de obra qualificada e contribui para a redução das desigualdades regionais, especialmente em áreas rurais.

No entanto, os modelos de produção tradicionais demandam por uso excessivo de produtos químicos sintéticos, como forma de aumentar a produtividade e mitigar efeitos bióticos e abióticos (Rempelos *et al.*, 2023). Apesar de ter gerado aumentos

consideráveis na produção de alimentos, o uso desses produtos ainda gera muitas controvérsias no cenário ambiental (Moraes; 2019). Enquanto, por um lado, alegam que são produtos indispensáveis na agricultura por realizar o controle de patógenos e doenças que comprometem as lavouras, por outro defendem o combate ao uso excessivo, além de causar riscos ao ambiente, como perda da biodiversidade, contaminação do solo e da água, e a saúde humana dos consumidores. Além disso, o aumento nas concentrações de gases de efeito estufa na atmosfera, com destaque para o dióxido de carbono, traz consequências indesejáveis, como a poluição atmosférica e o clima, afetando a saúde global e a qualidade de vida da população (Schweitzer *et al.* 2021).

Com isso, várias organizações vêm apontando essa problemática descrita acima e o prejuízo que ela causa na segurança alimentar do país. Com a justificativa de que sem sustentabilidade não será possível garantir alimentos de qualidade às gerações futuras (Kamiyama, 2014). Além disso, há uma crescente preocupação quanto à preservação ambiental e a produção de alimentos de forma sustentável. Em um cenário ecológico, o solo e a planta são incorporados em um sistema produtivo e equilibrado, com o objetivo de reduzir o uso de agrotóxicos, dando preferência para a utilização de produtos de baixo impacto ambiental, colocando em evidência o uso de agricultura regenerativa e bioinsumos microbianos (Meyer *et al.*, 2022).

### 3.2 FITOPATÓGENOS

Fitopatógenos são organismos que causam doenças em plantas. Eles podem ser fungos, bactérias, vírus, nematoides ou até mesmo insetos. Esses patógenos são responsáveis por reduzir a produtividade das plantas (BEBBER; HOLMES; GURR, 2014), danificar culturas inteiras e gerar prejuízos econômicos (KOIKE *et al.*, 2003).

Os problemas causados pelos fitopatógenos podem comprometer a disponibilidade de alimentos, acesso e a estabilidade das produções, levando a escassez de alimentos e comprometimento da segurança alimentar (RISTAINO, 2021).

Na história, muitos são os casos conhecidos de como a disseminação de fitopatógenos pode afetar a vida das pessoas. Os anos de 1845–1849, na Irlanda, ficaram conhecidos como os anos da “grande fome” devido a disseminação de um

fitopatígeno conhecido como ferrugem da batata, no qual cerca de 20%-25% da população irlandesa morreu de fome durante esse período (POWDERLY, 2019). Os fitopatógenos geralmente infectam as plantas através de ferimentos, folhas ou frutos danificados, solo contaminado ou por meio de vetores, como insetos.

Os sintomas das doenças causadas pelos fitopatógenos variam de acordo com o tipo de patógeno bem como a planta afetada e suas condições ambientais. Alguns sintomas comuns incluem manchas nas folhas, deformação das folhas, necrose (morte) dos tecidos, amarelecimento das folhas, queda de folhas e frutos, entre outros (SAVARY *et al.*, 2019).

Os fungos *Cercospora kikuchii* e *Colletotrichum truncatum* são patógenos que causam doenças em plantas, como a antracnose e o crestamento foliar. Essas doenças são consideradas de final de ciclo, pois os danos são mais visíveis no final da safra, mas os fungos podem colonizar as plantas desde o início. Altas temperaturas e precipitações elevadas favorecem a severidade da doença. Restos culturais e sementes são as principais fontes de inóculo, quando a transmissão ocorre pelas sementes, os primeiros sintomas poderão surgir logo na germinação, como damping-off. Em plântulas recém-emergidas, podem ser observadas lesões necróticas deprimidas, com coloração variando do cinza ao negro, podendo resultar na morte da plântula (BAILEY; JEGER, 1992; CAMPOS *et al.*, 2006; GOULART, 2018; NATARAJ *et al.*, 2020). Estes microrganismos são responsáveis por perdas significativas de produtividade, uma vez que comprometem o desempenho fisiológico das plantas e a qualidade dos grãos, sendo de grande relevância na fitopatologia agrícola (YORINORI *et al.*, 2004).

*C. kikuchii*, agente causal da mancha púrpura da semente e da cercosporiose, é amplamente distribuído em regiões produtoras de soja. A infecção ocorre principalmente em estágios reprodutivos da planta, afetando folhas, vagens e sementes. Este fungo apresenta elevada plasticidade genética, o que dificulta o controle químico. Além disso, condições climáticas como alta umidade e temperaturas elevadas favorecem sua disseminação e severidade (SILVA *et al.*, 2008).

Figura 1 - Sintomas ocasionados por *C. kikuchii* observados na soja



**Legenda:** A esquerda, crestamento foliar observado em folhas de soja; a direita, sementes apresentando os sintomas da mancha-purpura. Autores: Cláudia V. Godoy e Austecínio Lopes de Faria Neto.

*C. truncatum* é responsável pela antracnose, uma doença que afeta tecidos vegetais, incluindo folhas, hastes e vagens. Este fitopatógeno é caracterizado por sua capacidade de causar infecções latentes, permanecendo inativo em tecidos vegetais até que condições ambientais sejam favoráveis. A antracnose compromete diretamente o enchimento de grãos e, em casos severos, pode levar à morte prematura da planta (GLIESSMAN, 2018). Pode ocorrer em qualquer fase fenológica da cultura e em diversas estruturas morfológicas como folhas, pecíolos, hastes, vagens e pedicelos. Porém é na fase reprodutiva da planta que o fungo apresenta seu ápice de patogenicidade, os sintomas mais frequentes da infecção são lesões escuras e irregulares, que causam depressões nas hastes, pecíolos e vagens (GALLI; PANIZZI; VIEIRA, 2007; ROGÉRIO *et al.*, 2019).

Figura 2 - Sintomas ocasionados por *C. truncatum* observados na soja



**Legenda:** Abertura da vagem imatura de soja apresentando sementes com manchas escuras no tegumento, sintoma da infecção de *Colletotrichum truncatum*.

O manejo integrado destes fungos envolve práticas culturais, como a rotação de culturas e o uso de cultivares resistentes, além da aplicação de fungicidas específicos que em alguns estudos se demonstraram pouco eficientes (DIAS *et al.*, 2011; SOUZA, 2009; DIAS, 2014). Estudos recentes apontam para o uso de agentes de controle biológico, incluindo microrganismos antagonistas como bactérias do gênero *Bacillus* e fungos como *Trichoderma spp.*, demonstram eficácia no controle de *C. kikuchii* e *C. truncatum* (MONTEIRO *et al.*, 2020). A adoção de estratégias sustentáveis no manejo desses patógenos é essencial para minimizar impactos ambientais e garantir a produtividade agrícola.

### 3.3 BIOINSUMOS MICROBIANOS AGRÍCOLAS

Os bioinsumos microbianos têm emergido como uma das principais inovações tecnológicas no setor agrícola, oferecendo soluções eficazes e sustentáveis para atender às demandas crescentes do mercado por práticas que reduzam a

dependência de insumos químico-sintéticos (Vidal *et al.*, 2020). Essa abordagem reúne conceitos de sustentabilidade, aumento de produtividade e mitigação de impactos ambientais, posicionando-se como uma estratégia indispensável para a agricultura moderna.

A utilização de bioinsumos microbianos, como defensivos biológicos, biofertilizantes e bioestimulantes, tem se consolidado no Brasil, refletindo tanto avanços científicos quanto necessidades do mercado. De acordo com a CropLife Brasil (2024), o mercado de bioinsumos microbianos apresentou um crescimento de 15% na safra 2023/24, movimentando cerca de R\$ 5 bilhões. Esse avanço coloca o Brasil na vanguarda global, com o maior consumo mundial de soluções biológicas, destacando a importância estratégica desse segmento. Produtos baseados em microrganismos, como *Bacillus spp.*, *Azospirillum spp.*, *Bradyrhizobium spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Trichoderma spp.*, têm papel central nesse cenário devido à sua eficiência no controle de patógenos, promoção do crescimento vegetal e melhoria da saúde do solo (Cardoso; Estrada-Bonilla, 2019).

Os bioinsumos microbianos também promovem benefícios econômicos significativos ao setor agrícola e ao PIB brasileiro. A utilização dessas tecnologias pode reduzir custos associados ao uso intensivo de insumos químicos, como fertilizantes e defensivos sintéticos, além de favorecer a exportação de produtos agrícolas para mercados com regulamentações mais restritivas em relação a resíduos químicos. Países europeus, por exemplo, têm demandado práticas agrícolas mais sustentáveis, como o manejo integrado de patógenos, que pode ser potencializado pelo uso de bioinsumos microbianos (Jacobsen; Zidack; Larson, 2004).

Além disso, o uso de microrganismos em bioinsumos microbianos vai além do manejo de patógenos e doenças. Esses agentes atuam diretamente na rizosfera, promovendo transformações químicas que facilitam a assimilação de nutrientes pelas plantas (Steffen *et al.*, 2018). Isso é particularmente importante em um contexto de agricultura regenerativa, onde práticas que mantêm ou melhoram a fertilidade do solo são essenciais para a sustentabilidade do sistema produtivo (Backer *et al.*, 2018).

Os impactos ambientais também são notáveis. Bioinsumos microbianos contribuem para a mitigação dos efeitos negativos dos agrotóxicos no solo, água e atmosfera, ao mesmo tempo que reduzem a seleção de patógenos e patógenos resistentes aos métodos de controle tradicionais. O uso desses produtos permite que

a agricultura mantenha altos índices de produtividade, minimizando impactos ecológicos e garantindo maior resiliência frente aos desafios climáticos e ao crescimento populacional (Samada; Tambunan, 2020).

Historicamente, o Brasil tem liderado o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis, começando na década de 1940 com a criação do Instituto Biológico de São Paulo. Desde então, avanços como a produção de bioinsumos microbianos e o controle biológico aumentativo têm mostrado como a pesquisa científica e a inovação tecnológica são fundamentais para enfrentar os desafios da agricultura moderna (Teixeira *et al.*, 2010).

E para compreender cada vez mais afundo como essas bactérias promovem o crescimento das plantas faz-se necessário entender a interação que ocorre entre as bactérias e as plantas.

#### 3.4 INTERAÇÕES BACTÉRIA-PLANTA

Plantas crescendo em seu ambiente natural são abundantemente colonizadas por microrganismos. Essa comunidade se encontra nas proximidades das raízes dos vegetais e por isso damos o nome de “fitomicrobioma” (SMITH *et al.*, 2017). Bactérias são microrganismos especialmente notáveis nessa comunidade, são as chamadas rizobactérias. Tais organismos são mais antigos na escala evolutiva do que os vegetais, dessa forma, desde o seu surgimento as plantas interagem com essa comunidade de microrganismos presentes no solo. Esse longo período de coevolução foi responsável por lapidar interações ecológicas extremamente diversas e complexas (BERG *et al.*, 2014; SMITH *et al.*, 2015).

É possível traçar diferentes tipos de interações entre microrganismos e as plantas, as bactérias endofíticas colonizam a parte interna do tecido vegetal sem causar nenhum dano aparente, diferente dos microrganismos fitopatogênicos. Existem também os microrganismos que habitam a parte externa do tecido vegetal, a esses damos o nome de epifíticas. Porém, essa classificação tem caráter apenas didático, visto que na natureza esses papéis podem se alternar a depender das condições. Portanto, pode-se dizer que há um gradiente separando essas possíveis relações, o que torna difícil determinar limites exatos para discriminar cada uma das três categorias mencionadas (AZEVEDO *et al.*, 1998, HARDOIM *et al.* 2015).

A rizosfera, região do solo próxima às raízes das plantas, é um ambiente dinâmico e biologicamente ativo, onde ocorre uma complexa interação entre plantas, microrganismos e componentes abióticos. Essa zona é rica em exsudatos radiculares, como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos, que servem como fonte de carbono e energia para microrganismos (GRAY & SMITH, 2005). Em troca, esses microrganismos desempenham funções essenciais para as plantas, como a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfatos insolúveis e a produção de fitormônios, promovendo o crescimento vegetal (GLICK, 2012). Além disso, muitos deles atuam na supressão de fitopatógenos por meio da produção de compostos antimicrobianos ou pela competição por nutrientes e espaço. Essa interação simbiótica é essencial para a saúde do solo, contribuindo para a nutrição e resiliência das plantas frente a estresses bióticos e abióticos, sendo um pilar fundamental na adoção de práticas agrícolas sustentáveis (KUNC & MACURA, 1988).

#### 3.4.1 Biofilme

As bactérias se ligam aos substratos bióticos (como o tecido vegetal, animais e outros microrganismos) e abióticos (como o solo, metais, vidros) e podem existir como células únicas, agregados celulares e biofilmes. O biofilme é descrito como uma estrutura bem-organizada formada por uma comunidade bacteriana, encapsulada em uma matriz autossintetizada, onde ocorre comunicação entre as células bacterianas (Armbruster e Parsek, 2018). Esses biofilmes podem apresentar-se em apenas uma camada ou multicamadas, contendo uma ou mais espécies de bactérias associadas a uma matriz em contato com uma superfície específica.

Pesquisas detalhadas têm destacado as características dos biofilmes bacterianos, que permitem sua aplicação em áreas como purificação de água (Sehar e Naz, 2016), biorremediação (Edwards e Kjellerup, 2013) e agricultura (Velmourougane *et al.*, 2017). Estudos indicam que os biofilmes são capazes de degradar compostos contendo nutrientes complexos, com carga de nitrogênio e fósforo (Ikuma *et al.*, 2013). Além disso, os biofilmes podem capturar patógenos presentes em águas contaminadas antes de seu descarte no ambiente ou uso em sistemas agrícolas (Sehar e Naz, 2016).

Associações de biofilmes com superfícies orgânicas têm sido amplamente

investigadas, o que tem incentivado sua aplicação na agricultura (Singh e Chauhan, 2017). Os biofilmes bacterianos podem ser encontrados em diferentes nichos do solo de um sistema agrícola e as bactérias presentes na matriz do biofilme são capazes de produzir compostos que inibem o crescimento de outros microrganismos presentes no sistema radicular das plantas. Os fungos também são encontrados habitando os mesmos micro nichos no solo. Essa coexistência pode trazer diferentes vantagens para o metabolismo de cada microrganismo, mas também contribui para a saúde das plantas e dos ecossistemas (Deveau *et al.* 2018).

Tendo em foco o setor agrícola os biofilmes podem apresentar diversos benefícios para uma aplicação biotecnológica. O uso desses microrganismos capazes de produzir tais estruturas tem se mostrado inovador e ecologicamente corretos tem a capacidade de proteger as plantas de diferentes doenças, mas também de diferentes condições abióticas como estresse hídrico, salinidade, poluentes orgânicos e inorgânicos, o que pode potencialmente aumentar a produção agrícola (Malusá *et al.* 2012). Assim, não apenas há benefícios para o crescimento das plantas como consequência de tais interações, mas também a qualidade do solo melhora devido ao aumento no ciclo de nutrientes provocado pela ação destas bactérias (Velmourougane *et al.*, 2017).

Dito isso, algumas propriedades, como a expansão por *swarming* e a produção de biofilme, são características desejáveis para isolados com potencial para promover o crescimento de plantas (VERSTRAETEN *et al.*, 2008).

#### 3.4.1.1 *Swarming* bacteriano

O *swarming* bacteriano é um tipo de motilidade cooperativa exibida por algumas bactérias em superfícies úmidas ou semissólidas. Esse comportamento envolve a movimentação coordenada de populações bacterianas, facilitada pela ação conjunta de flagelos, produção de moléculas surfactantes e alterações morfológicas que aumentam a capacidade de movimentação (Kearns, 2010). Essa motilidade permite que as bactérias explorem novos nichos e colônias em busca de nutrientes, conferindo uma vantagem adaptativa em ambientes complexos, como a rizosfera.

Na interação planta-microrganismo, o *swarming* desempenha um papel essencial no potencial de colonização radicular. A movimentação eficiente facilita a

migração das bactérias recrutadas em direção às raízes, onde elas encontram um ambiente rico em exsudatos radiculares que servem como fonte de carbono e nutrientes ((MCCARTER, 2010)). Além disso, o *swarming* aumenta a dispersão populacional, permitindo que a bactéria se estabeleça de maneira mais uniforme ao longo do sistema radicular, formando biofilmes protetores que podem beneficiar as plantas.

O *swarming* também pode melhorar a eficácia de RPCP ao aumentar a probabilidade de interações benéficas, como a produção de fitohormônios, fixação de nitrogênio e solubilização de fosfatos (VENIERAKI et al., 2016). Esse movimento coordenado também pode ajudar na competição contra patógenos na rizosfera, reduzindo sua capacidade de colonização ao ocupar o espaço físico e consumir os recursos disponíveis, além disso o *swarming* é também um mecanismo utilizado pelas bactérias para se deslocar de regiões que contenham compostos tóxicos e que possam ser prejudiciais (VENIERAKI et al., 2016).

### 3.5 APLICAÇÃO DAS RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

Sabendo as possíveis interações que podem decorrer entre bactérias e plantas é possível implementar aplicações para estes microrganismos para melhorar o desenvolvimento de vegetais cultivados nas diferentes culturas. Dessa forma as RPCP's têm emergido como uma solução biotecnológica de grande relevância na agricultura moderna, destacando-se por sua capacidade de interagir com as raízes das plantas e promover seu desenvolvimento de maneira direta ou indireta. Essas bactérias atuam como biofertilizantes, fitoestimulantes e moderadoras de estresses bióticos e abióticos, potencializando a produtividade agrícola enquanto reduzem a dependência de insumos químicos sintéticos tradicionais (VACHERON et al., 2013; BACH et al., 2016).

Os bioinsumos microbianos baseados em RPCVs são formulados com microrganismos vivos que, ao serem aplicados no solo, sementes ou diretamente às plantas, podem vir a disponibilizar nutrientes de forma mais eficiente, estimular o crescimento radicular e aumentar a biomassa vegetal (VESSEY, 2003). Essa tecnologia permite o uso combinado com fertilizantes minerais, possibilitando a redução de doses de químicos sem comprometer o rendimento agrícola por

umentarem a assimilação dos nutrientes pelo vegetal (CANBOLAT *et al.*, 2006). Contudo, o sucesso dessa abordagem depende de fatores como a compatibilidade entre as espécies de plantas e as rizobactérias, as condições do solo e a formulação do produto, que deve assegurar a viabilidade dos microrganismos e sua funcionalidade no campo (BASHAN *et al.*, 2014).

No Brasil, a ampla biodiversidade microbiológica e o protagonismo no setor agrícola conferem ao país uma posição privilegiada no desenvolvimento e aplicação de inoculantes. Dados da ANPII (2020) indicam que a maior parte das doses comercializadas se destina às culturas de soja, com menor aplicação em gramíneas e leguminosas como feijão-comum e feijão-caupi, revelando um mercado ainda subexplorado para outras culturas. Esse cenário reflete a necessidade de expandir o uso de RPCVs para diversos sistemas agrícolas, especialmente em um momento em que o mercado global de biofertilizantes apresenta crescimento acelerado como visto no crescimento de 15% na safra 2023/24, movimentando cerca de R\$ 5 bilhões (CropLife Brasil, 2024).

Além do impacto econômico, as RPCVs também oferecem benefícios ecológicos. Elas melhoram a saúde do solo, promovem a ciclagem de nutrientes e auxiliam na mitigação dos efeitos de mudanças climáticas, como a tolerância a seca e salinidade. No entanto, o desenvolvimento de produtos comerciais com base em RPCVs ainda enfrenta desafios, incluindo a necessidade de triagem criteriosa de linhagens, validações em campo e regulamentações nacionais e internacionais complexas (TIMMUSK *et al.*, 2017).

### 3.6 BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS

As bactérias possuem um ou mais mecanismos de ação que promovem o crescimento vegetal, dependendo do pool gênico específico da linhagem em questão. Esses mecanismos, que frequentemente atuam de forma sinérgica, podem ser classificados como diretos ou indiretos (GLICK, 1994). Os mecanismos diretos incluem a produção de fitormônios, como auxinas, giberelinas e citocininas, além da fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e potássio, e sequestro de ferro por meio da produção de sideróforos bacterianos. Por outro lado, os mecanismos indiretos englobam a produção de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC)

deaminase, antibióticos, enzimas de degradação da parede celular, cianeto de hidrogênio, indução de resistência sistêmica e o quorum quenching (OLANREWAJU *et al.*, 2017).

Esses mecanismos têm sido amplamente discutidos em trabalhos de revisão e livros, como os de Hayat *et al.* (2010), Duca *et al.* (2014), Glick (2015), Olanrewaju *et al.* (2017) e Prasad *et al.* (2019). Entre eles, a produção de fitormônios tem recebido atenção crescente devido aos seus efeitos benéficos observados em estudos sobre inoculações com rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (RPCPs).

### 3.6.1 Mecanismos de promoção de crescimento de plantas

#### 3.6.1.1 Produção de fitohormônios

Fitormônios são mensageiros químicos produzidos em concentrações reduzidas pela planta, com atuação nos locais de síntese e/ou à distância, e que apresentam um amplo espectro de atividades biológicas. Quase todos os processos fisiológicos vegetais são regulados por duas ou mais classes de hormônios. Dentro dessas classes encontram-se as auxinas, citocininas e giberelinas, além do etileno e ácido abscísico (TAIZ & ZEIGER, 2017). Além dos vegetais, microrganismos também são capazes de sintetizar fitormônios ou moléculas análogas aos fitohormônios (GLICK, 2015). A síntese destes compostos em alguns organismos ainda não possui uma função clara, mas depreende-se que estes compostos foram selecionados ao longo do processo evolutivo para atuar como mediadores químicos nas diferentes interações ecológicas estabelecidas entre micro-organismos e vegetais.

De acordo com SPAEPEN *et al.*, 2007, a capacidade das rizobactérias em produzir fitormônios, como o ácido indol-3-acético (AIA), é uma característica que cerca de 80% possuem, e representa um potencial significativo para a promoção do crescimento vegetal, com amplas possibilidades de aplicação na agricultura sustentável. O AIA, um dos principais fitormônios naturais, desempenha papéis fundamentais no crescimento das plantas, como a regulação da alongação celular, divisão celular, desenvolvimento radicular, e a formação de raízes laterais (CALVO *et al.*, 2014). Quando produzido por microrganismos, o AIA não apenas facilita esses processos, mas também pode melhorar a resposta das plantas a estresses abióticos

e bióticos, aumentando sua capacidade de absorção de nutrientes e resistência a condições adversas (BIANCO *et al.*, 2006, 2009; IMPERLINI *et al.*, 2009; KIM *et al.*, 2011; DONATI *et al.*, 2013; REPAR *et al.*, 2013).

Essa produção bacteriana de fitormônios se revela como uma ferramenta biotecnológica poderosa para a agricultura moderna. Microrganismos como as bactérias do gênero *Bacillus* têm sido amplamente estudados por sua habilidade em produzir AIA e outros compostos bioativos que promovem o crescimento vegetal (BETTIOL *et al.*, 2012; BORRIS, 2016). Essa capacidade não é apenas uma curiosidade científica, mas uma oportunidade concreta de aplicar esses microrganismos como biofertilizantes e bioestimulantes. O uso de bactérias produtoras de fitormônios como *Bacillus sp.*, *Azospirillum* e *Pseudomonas* em ambientes agrícolas pode levar a uma série de benefícios, incluindo o aumento da biomassa radicular, melhor adaptação das plantas ao solo, e maior resistência a patógenos e fatores de estresse (BIANCO *et al.*, 2006, 2009; IMPERLINI *et al.*, 2009; KIM *et al.*, 2011; DONATI *et al.*, 2013; REPAR *et al.*, 2013).

### 3.6.1.2 Nutrientes no solo

Apesar do grande aumento na produtividade agrícola provocado pelo uso de fertilizantes químicos no último século, este aumento não seria possível sem impactos ambientais (Ramankutty *et al.*, 2018). O uso excessivo de fertilizantes solúveis causou serias complicações em ambientes aquáticos devido à lixiviação dos mesmos para corpos aquáticos (Bennett E.M. *et al.*, 2001; Ghaly and Ramakrishnan, 2015). Esse fenômeno provoca a eutrofização de corpos aquáticos, que é um acúmulo de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, que provoca um crescimento vertiginoso de algas e cianobactérias, essas por sua vez diminuem a quantidade de oxigênio dissolvido e aumento de toxinas na água, o que leva a morte de peixes e invertebrados nos corpos hídricos (Huisman *et al.*, 2018).

Adicionalmente a produção de fertilizantes químicos é responsável por grande parte das emissões de gases do efeito estufa, que leva as alterações climáticas provocadas pela ação humana. A cadeia de produção de alimentos é responsável por 29% das emissões de gases de efeito estufa, grande parte sendo pela produção de fertilizantes, que além dos altos custos energéticos também demandam uma grande

operação de extração (Vermeulen *et al.*, 2012). Ainda mais preocupante é o fato de que as alterações climáticas também afetam as produções agrícolas. Temperaturas mais elevadas influenciam a capacidade das plantas de absorver e utilizar a água de forma eficaz, o que pode impactar negativamente seu crescimento e a produção de grãos (Cline, 2008).

Um outro aspecto é o de que os fertilizantes químicos são caros, isso impõe um sério risco para a segurança alimentar de um país em que pequenos produtores têm grande importância na produção de alimentos. Isso é o caso do Brasil, um país que importa cerca de 70% dos fertilizantes nitrogenados, 50% dos fertilizantes de fosfato (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e mais de 90% dos fertilizantes de potássio (K<sub>2</sub>O) (Ogino *et al.*, 2021). A utilização de rochas que possuem em sua composição tais minerais, fosfato (P) e potássio (K), é uma alternativa promissora para ajudar os países a reduzirem a dependência da importação de fertilizantes químicos utilizando seus recursos geológicos (Van Straaten, 2006).

Intemperismo é um termo que descreve o processo geral pelo qual as rochas são degradadas em sedimentos, argilas, solos e substâncias dissolvidas na água. A junção da ação da água, variação de temperatura e ação de microrganismos são os responsáveis pelo intemperismo (Zaharescu *et al.*, 2020).

Os nutrientes das plantas, com exceção do nitrogênio, têm como origem o intemperismo de minerais primários, tornando a ação de microrganismos pioneiros essencial para o estabelecimento de comunidades vegetais. Por sua vez, as plantas intensificam significativamente o intemperismo dos minerais no solo ao melhorar propriedades básicas do solo, influenciando na dinâmica da água e regulação do ciclo de cátions na solução do solo (Li *et al.*, 2006). Por meio dos exsudatos radiculares, as plantas liberam ácidos orgânicos e ligantes químicos que facilitam a solubilização de minerais (Lucas, 2001). Além disso, as plantas exsudam açúcares, aminoácidos, enzimas, ácidos graxos, esteróis, fatores de crescimento, vitaminas e metabólitos secundários, criando um ambiente rico em nutrientes ao redor das raízes, a rizosfera. Essa região sustenta uma comunidade microbiana diversa e promove o intemperismo de minerais a taxas muito superiores às observadas no solo em massa (Vives-Peris *et al.*, 2020; Richter *et al.*, 2007). As bactérias da rizosfera contribuem para esse processo de forma direta, solubilizando minerais (intemperismo microbiano direto), ou de forma indireta, ao melhorar o crescimento e a aptidão das plantas, beneficiando-se

da atividade de intemperismo promovida pelas plantas.

A dissolução mineral resultante da atividade microbiana pode ser um processo ativo ou colateral. Os principais mecanismos geralmente associados ao intemperismo bacteriano incluem alterações no pH ao redor do mineral e dissolução promovida por prótons, quelatação de elementos presentes em uma matriz mineral ou no solo, e reações de oxirredução (Samuels *et al.*, 2020). A esse respeito, microrganismos benéficos, como bactérias solubilizadoras de fosfato e potássio, geralmente encontrados na rizosfera da maioria das plantas, estão atraindo atenção especial pelo seu potencial em aumentar a disponibilidade e assimilação desses nutrientes para as plantas (Elhaissofi *et al.*, 2021; Jilani *et al.*, 2021; Khan *et al.*, 2022).

### 3.6.1.3 Controle biológico de patógenos e doenças por bactérias

No Brasil, o controle biológico começou a ser desenvolvido na década de 1940, com a criação do Instituto Biológico de São Paulo. Criado em 1927 com o objetivo de estudar e controlar doenças de plantas e animais. Na década de 1940, o instituto passou a se dedicar ao estudo do controle biológico de patógenos agrícolas, tornando-se uma das principais instituições de pesquisa nessa área no país. Desde então, o Brasil tem desenvolvido diversas tecnologias de controle biológico, como o uso de parasitoides, predadores e patógenos para controlar patógenos agrícolas, contribuindo para reduzir o uso de defensivos químico-sintéticos (Teixeira, C.P. *et al.*, 2010).

Existem várias formas de controle biológico de conservação, que seria o controle biológico que não ocorre naturalmente, mas que exige uma intervenção humana, a fim de garantir um melhor desempenho de antagonistas naturais que ocorrem no solo. Uma das formas de garantir melhor desempenho desses antagonistas é o controle biológico aumentativo, que é uma técnica que envolve a multiplicação em massa de inimigos naturais, que são posteriormente inoculados para controlar patógenos em culturas agrícolas. Essa técnica pode ser empregada de duas formas diferentes: o controle biológico inundativo, que é utilizado em culturas com ciclo de produção curto, e o controle biológico inoculativo sazonal, que é utilizado em culturas com ciclo de produção longo e tem como objetivo o controle de patógenos por várias gerações (MENDES, *et al.*, 2011; PARNELL, *et al.*, 2016; VAN LENTEREN,

2012, 2018).

Bactérias do gênero *Bacillus spp.* também se mostram eficientes no controle biológico de doenças em plantas, atuando em patógenos foliares e radiculares (JÚNIOR; SANTOS; AUER, 2002). Este é um gênero bacteriano altamente resistente a intempéries ambientais, como o calor, isso se deve à sua capacidade de formação de estruturas de resistência, os endósporos (BETTIOL, 2007), possibilitando maior sobrevivência em variados ambientes de produção agrícola e um aumento no tempo de prateleira dos produtos biológicos à base desse microrganismo. Entre as espécies desse gênero bacteriano, a espécie *Bacillus subtilis* é a mais estudada e se destaca pelos resultados positivos como agente de biocontrole, na qual possui amplo espectro de ação por agir, especialmente por antibiose, produzindo lipopeptídeos das famílias da surfactina, iturina e fengicina que possuem atividade antifúngica e inibitória no crescimento de fitopatógenos (FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 ESTIRPES BACTERIANAS E PREPARO DE SUSPENSÃO DE CÉLULA (SC)

Foram utilizados 24 estirpes pertencentes a diferentes gêneros bacterianos nos experimentos que apresentaram potencial para promoção do crescimento de plantas em estudos anteriores. Os estirpes encontram-se criopreservados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , em meio de cultura Triptona Soja Caldo (TSB), acrescido de 20% de glicerol, sendo pertencentes a coleção de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia Microbiana (LABIM) da Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. A cepa *B. subtilis* ATCC 168 foi utilizada como controle negativo de atividade antagonista, sendo encontrada armazenada a  $-80^{\circ}\text{C}$  na coleção de microrganismos do LABIM.

Tabela 1 – Estirpes de bactérias utilizadas no trabalho.

| Estirpes Bacterianas |      |      |      |      |      |
|----------------------|------|------|------|------|------|
| L17                  | L22  | L29  | L32  | L39  | L40  |
| L41                  | L43  | L44  | L46  | L47  | L48  |
| L49                  | L50  | L51  | L52  | L53  | L95  |
| L128                 | L130 | L159 | L178 | L317 | L340 |

As estirpes foram ativados em placas contendo Triptona de Soja Ágar (TSA) a qual foi incubada a  $28\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 24h, após isso, foram novamente repicados, a partir de uma única colônia isolada, e incubadas a  $28\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 18h. A partir da placa de repique colônias isoladas da cultura foram suspensas em uma solução salina esterilizada contendo 0,85% de cloreto de sódio e ajustadas a um valor de 0,5 na escala nefelométrica de McFarland, correspondendo a uma concentração de  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC).

### 4.2 CARACTERIZAÇÃO MICRO E MACROSCÓPICAS

#### 4.2.1 Microscopia óptica

Todos as estirpes foram classificados com relação à coloração de Gram a partir

de culturas com 24h de incubação a  $28\pm 1^\circ\text{C}$  para determinação do tipo de parede celular. Também foram classificados com relação à capacidade de formação de endósporos a partir de culturas com 4 dias de incubação a  $28\pm 1^\circ\text{C}$  que foram observadas em microscopia de contraste de fase afim de confirmar a presença de endósporos e sua posição de formação na célula vegetativa.

#### 4.2.2 Classificação macromorfológica

As estirpes L22, L29, L39, L40, L41, L43, L44, L46, L47, L48, L49, L50, L51, L52, L53, L95, L128, L130, L159 e L178 foram semeados em meio Ágar Luria-Bertani Miller, com 2.0% de ágar, por esgotamento e incubados a  $28\pm 1^\circ\text{C}$  durante 18h, as estirpes L317 e L340 foram semeadas no mesmo meio e incubados durante 48h; as estirpes L17 e L32 foram semeadas em meio ISP2, com 2.0% de ágar, por esgotamento incubados a  $28\pm 1^\circ\text{C}$  durante 48h para visualização das colônias isoladas, que foram classificadas quanto às seguintes propriedades: Tamanho, Formato, Tipo de Borda, Elevação, Aspecto e Propriedades Ópticas assim como descrito por Malajovich (2015). Posteriormente, as imagens das colônias foram registradas com câmera embutida (Leica EC3) em esteromicroscópio (Leica S6D, Suécia) e visualizadas no software LAS EZ v3.0.0. 2013.

### 4.3 ANTAGONISMO CONTRA FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

#### 4.3.1 Fungos fitopatogênicos

Foram utilizados os fungos fitopatogênicos *Colletotrichum truncatum* e *Cercospora kikuchii*, para a realização dos experimentos, que se encontram armazenados a  $4^\circ\text{C}$ , na coleção micológica do LABIM.

#### 4.3.2 Cultura dupla

Em placas de 90 mm contendo o meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA), as estirpes foram inoculadas em uma linha, a 1 cm da borda, utilizando uma alça bacteriológica embebida em uma alíquota da suspensão celular (SC). Na extremidade

oposta da placa, foi depositado um disco de ágar (6 mm) contendo o micélio do fungo fitopatogênico. Também foram preparados 3 controles para o crescimento do fungo, do qual não continham inóculo bacteriano.

Posteriormente, as placas foram incubadas em BOD, a  $25\pm 1^\circ\text{C}$  com fotoperíodo de 12 horas, e o tempo de incubação para finalização do experimento foi determinado pelo controle de crescimento do fungo, sendo que quando o fungo completasse toda a extensão da placa de controle o experimento se encerrava.

Foram realizados três experimentos independentes, com três repetições de cada um das estirpes em cada experimento, totalizando 9 avaliações para cada estirpe avaliada.

Foram consideradas apenas os testes com as estirpes que apresentaram menos de 80% do crescimento micelial do fungo fitopatogênico, os testes com as estirpes que apresentaram crescimento igual ou superior a 80% foram considerados como sendo incapazes de ter controle sobre o crescimento micelial.

#### 4.3.2.1 Avaliação do experimento

A capacidade antagonista de cada isolado foi expressa em porcentagem, representando a Redução do Crescimento Micelial (RCM), calculada conforme descrito por Bertê *et al.* (2022). Para os ensaios realizados com *C. truncatum* e *C. kikuchii*, o RCM foi determinado utilizando a seguinte equação:

$$RCM = AIC * \frac{100}{56,71625}$$

Na equação, AIC representa a Área de Inibição de Crescimento, enquanto 56,71625 corresponde à área total de uma placa de Petri de 90 mm de diâmetro.

#### 4.4 EXPANSÃO POR SWARMING

Em placas contendo o meio de cultura TSA semisolidificado (0,7% ágar) foram inoculados 10 $\mu\text{L}$  de SC ao centro, conforme descrito por KEARNS & LOSICK, 2003. Posteriormente foram incubadas a  $28\pm 1^\circ\text{C}$  por 12 horas. A capacidade de expansão foi determinada pelo raio das colônias passadas 12 horas. O experimento foi realizado

três vezes em triplicata, totalizando 9 avaliações para cada estirpe avaliada.

#### 4.5 FORMAÇÃO DE BIOFILME DO TIPO PELÍCULA

A capacidade das estirpes de produzirem biofilme do tipo película foi avaliada quantitativamente em intervalos de 24, 48 e 72 horas, seguindo o protocolo descrito por El-Khoury *et al.* (2016). O experimento foi conduzido em placas de poliestireno de 24 poços, onde cada poço recebeu 2 mL de meio Triptona de Soja Caldo (TSB), inoculado com 10 µL de uma suspensão celular (SC). As placas foram incubadas a 28 °C por 24, 48 e 72 horas.

Após o período de incubação, o meio de cultura foi cuidadosamente removido utilizando uma seringa com agulha (26G). Em seguida, 1 mL de solução salina foi adicionado a cada poço e homogeneizado com o biofilme formado utilizando uma ponteira de micropipeta para realizar um atrito mecânico afim de retirar todo biofilme formado nas laterais dos poços, e por meio de movimentos de aspiração e liberação o conteúdo, do poço, pode ser homogeneizado afim de quebrar a estrutura rígida formada pelo biofilme e deixar o mais homogêneo possível.

A produção de biofilme foi quantificada por meio de leitura da densidade óptica (OD600) em um espectrofotômetro (Labtron, modelo LUS-A21, Reino Unido) da mistura de salina e biofilme homogeneizado contido nos poços. O experimento foi realizado em três ocasiões, cada uma em quadruplicatas, totalizando 12 avaliações para cada estirpe avaliada.

#### 4.6 POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE COMPOSTOS INDÓLICOS

Para a avaliação do potencial de produção de AIA foram realizadas fermentações utilizando o meio de cultura Triptona de Soja Caldo (TSB) acrescido de 1 g/L de L-Triptofano. O experimento foi conduzido em frascos Erlenmeyer de 150 mL, não aletados, contendo 45 mL de meio de cultura do qual foram inoculados com 450µL de SC. Após a inoculação, os frascos foram incubados a  $28 \pm 1$  °C, com agitação constante de 200 rpm (agitador orbital Thoth 6430B, Brasil), durante 5 dias no escuro.

A quantificação da produção de AIA foi feita de acordo com Gordon & Weber, 1951, onde o fermentado é centrifugado à 10.000 rpm durante 10 minutos e uma alíquota de 1.5mL do sobrenadante livre de células é misturada a 1.5mL de reagente

de Sawlkosvisk Modificado (BAUTISTA; GALLARDO, 2008), a solução foi posteriormente incubada a temperatura ambiente por 30 minutos com ausência de luz para que ocorresse a reação e, então, foi realizada a leitura de absorvância em espectrofotômetro no comprimento de onda de 530nm. Uma solução de AIA comercial foi utilizada para o preparo da curva padrão nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mg/mL. O experimento foi realizado duas vezes em duplicata, totalizando 4 avaliações para cada estirpe avaliada.

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos descritos nos itens 4.3 – 4.6 tiveram todos os dados obtidos analisados pelos testes estatísticos de Shapiro-Wilk, de Bartlett e de Durbin-Watson para verificar adequação aos pressupostos de normalidade dos resíduos, homogeneidade das variâncias e independência dos resíduos, respectivamente ( $p < 0,05$ ). Os dados em adequação com os pressupostos foram submetidos a análise de variância e ao teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Dados que não atendiam aos pressupostos foram transformados utilizando o pacote bestNormalize (PETERSON, RYAN, 2021). Os dados transformados atenderam aos pressupostos e foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Todas as análises foram realizadas utilizando o software R (v4.1.2).

## 5 RESULTADOS

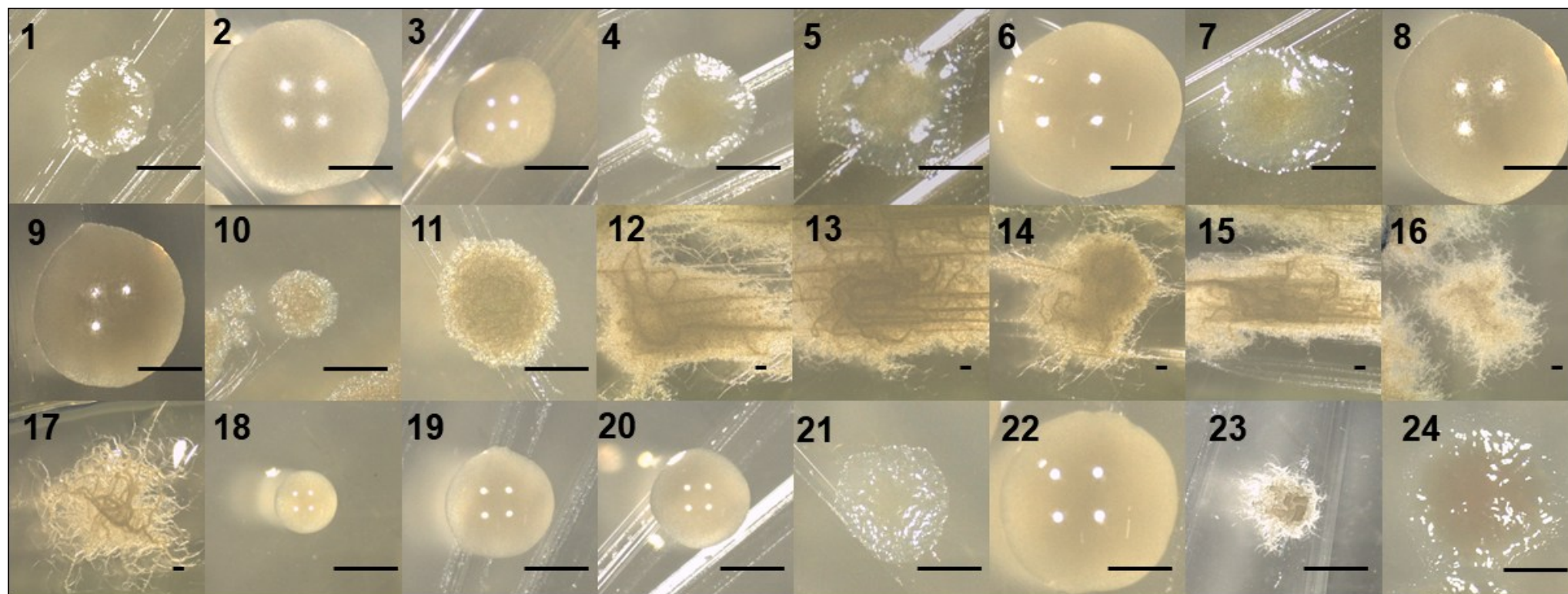
### 5.1 CARACTERIZAÇÃO MICRO E MACROSCÓPICA

Dentre as estirpes bacterianas estudadas, verificou-se que 23 são Gram-positivos e 1 Gram-negativo, destacando a predominância de bactérias Gram-positivas no grupo estudado. Além disso todas as estirpes Gram-positivas apresentaram a capacidade de formação de endósporos. As colônias formadas pelas estirpes apresentam um diâmetro médio de 0,40 a 3,30 mm, formatos circular e filamentoso; borda lisa, filamentosa ou lobada; quanto a elevação são convexas, protuberantes ou achatadas e possuem diferentes texturas e propriedades ópticas conforme detalhado na Tabela 2 e ilustrado nas Figura 3, Figura 4 e Figura 5.

Tabela 2 - Caracterização macromorfológica das colônias.

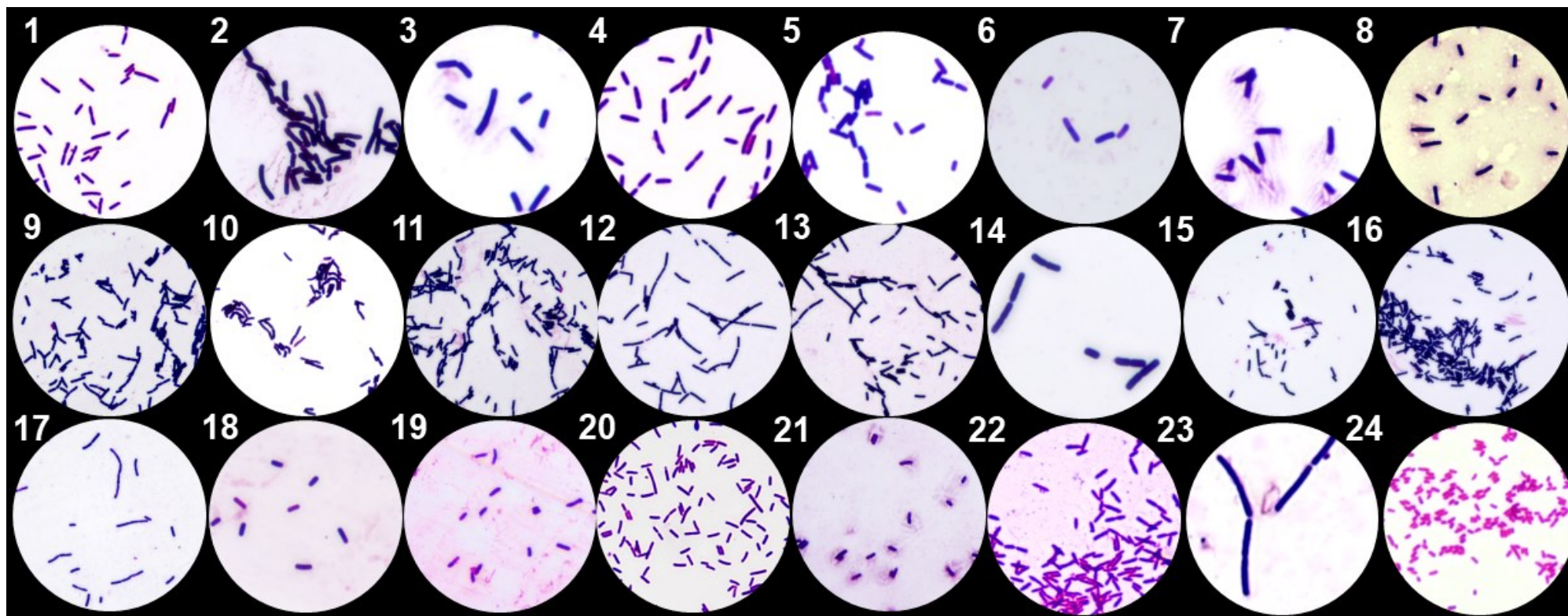
| Cepas | Diametro médio (mm) | Formato     | Tipo de borda | Elevação     | Aspecto                   | Propriedades ópticas |
|-------|---------------------|-------------|---------------|--------------|---------------------------|----------------------|
| L17   | 1,2                 | Circular    | Lobado        | Convexa      | Seco                      | Bege rugosa          |
| L22   | 2,3                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Bege brilhosa        |
| L29   | 1,1                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Bege brilhosa        |
| L32   | 1,3                 | Circular    | Lobado        | Convexa      | Seco                      | Bege rugosa          |
| L39   | 2,4                 | Circular    | Lobado        | Protuberante | Centro úmido e borda seca | Bege rugosa          |
| L40   | 2,8                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Bege brilhosa        |
| L41   | 1,8                 | Circular    | Liso          | Protuberante | Centro úmido e borda seca | Bege rugosa          |
| L43   | 3                   | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Bege brilhosa        |
| L44   | 2,1                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Bege brilhosa        |
| L46   | 0,8                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Seco                      | Bege rugosa          |
| L47   | 1,5                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Alaranjado brilhoso  |
| L48   | 7                   | Filamentosa | Filamentosas  | Achatada     | Seco                      | Branca opaca         |
| L49   | 7,5                 | Filamentosa | Filamentosas  | Achatada     | Seco                      | Branca opaca         |
| L50   | 6,2                 | Filamentosa | Filamentosas  | Achatada     | Seco                      | Branca opaca         |
| L51   | 5,5                 | Filamentosa | Filamentosas  | Achatada     | Seco                      | Branca opaca         |
| L52   | 5                   | Filamentosa | Filamentosas  | Achatada     | Seco                      | Branca opaca         |
| L53   | 6,8                 | Filamentosa | Filamentosas  | Achatada     | Seco                      | Branca opaca         |
| L95   | 0,8                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Bege brilhosa        |
| L128  | 1,8                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Bege brilhosa        |
| L130  | 1,6                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Bege brilhosa        |
| L159  | 2                   | Circular    | Lobado        | Achatada     | Seco                      | Bege rugosa          |
| L178  | 3,2                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Úmida                     | Bege brilhosa        |
| L317  | 1                   | Filamentosa | Filamentosas  | Ondulada     | Membranosa                | Bege opaca           |
| L340  | 2,3                 | Circular    | Liso          | Convexa      | Viscosa                   | Bege rugosa          |

Figura 3 – Macrografias de colônias



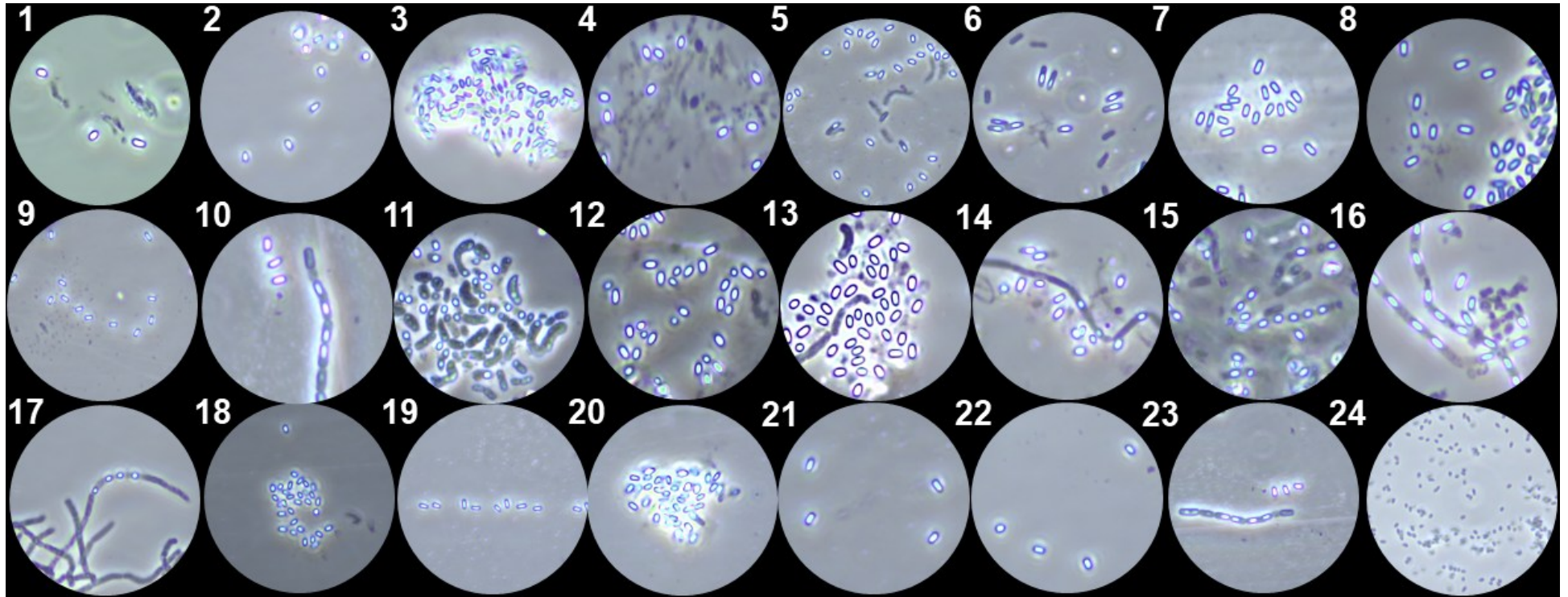
**Legenda:** Colônias de L17 (1), L22 (2), L29 (3), L32 (4), L39(5), L40 (6), L41 (7), L43 (8), L44 (9), L46 (10), L47 (11), L 48 (12), L49 (13), L50 (14), L51 (15), L52 (16), L53 (17), L95 (18), L128 (19), L130 (20), L159 (21), L178 (22), L317 (23) e L340 (24). A barra nas imagens representa 1mm nos aumentos utilizados.

Figura 4 – Microscopia óptica de lâminas coradas pela coloração de Gram



**Legenda:** Estirpes Gram-positivas L17 (1), L22 (2), L29 (3), L32 (4), L39(5), L40 (6), L41 (7), L43 (8), L44 (9), L46 (10), L47 (11), L 48 (12), L49 (13), L50 (14), L51 (15), L52 (16), L53 (17), L95 (18), L128 (19), L130 (20), L159 (21), L178 (22), L317 (23). Isolado Gram-negativo L340 (24).

Figura 5 – Microscopia óptica de contraste de fase



**Legenda:** Estirpes capazes de se diferenciar em endósporos L17 (1), L22 (2), L29 (3), L32 (4), L39(5), L40 (6), L41 (7), L43 (8), L44 (9), L46 (10), L47 (11), L48 (12), L49 (13), L50 (14), L51 (15), L52 (16), L53 (17), L95 (18), L128 (19), L130 (20), L159 (21), L178 (22), L317 (23). Isolado incapaz de diferenciação em endósporos L340 (24).

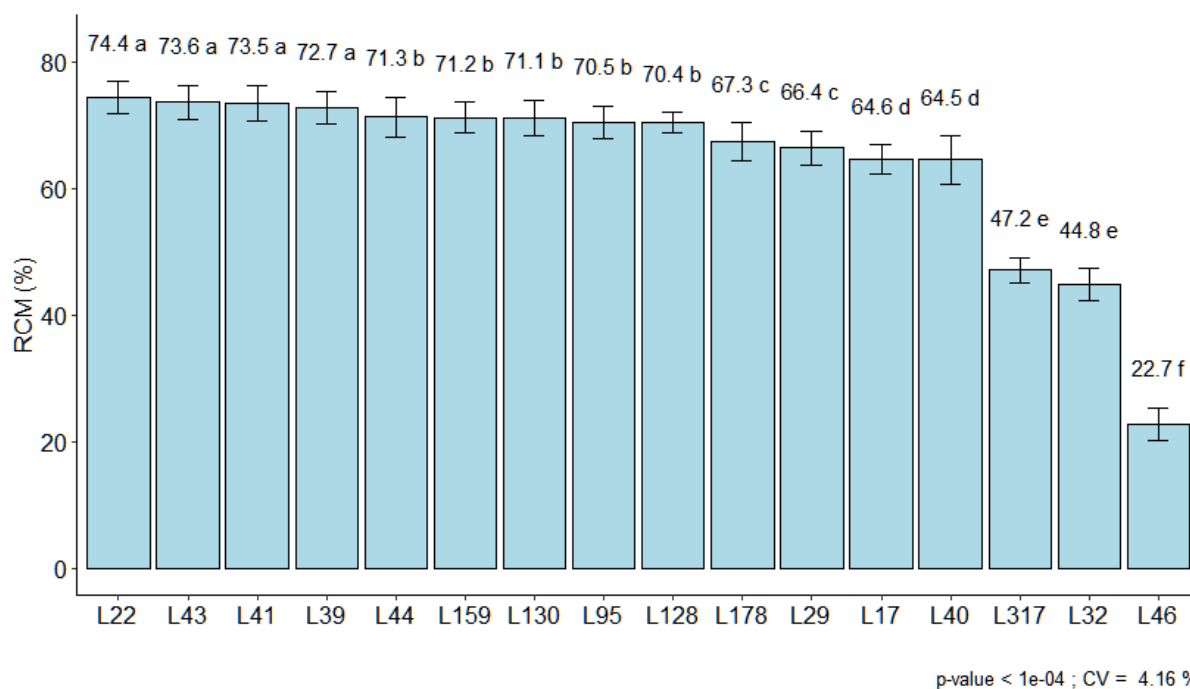
## 5.2 ANTAGONISMO CONTRA FUNGO FITOPATOGÊNICOS

Dentre as estirpes estudados 16 deles apresentaram capacidade de reduzir o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos avaliados, sendo encontradas diferenças significativas de controle entre as estirpes que apresentaram capacidade de controle (Tabela 3, **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, Figura 6 e Figura 7).

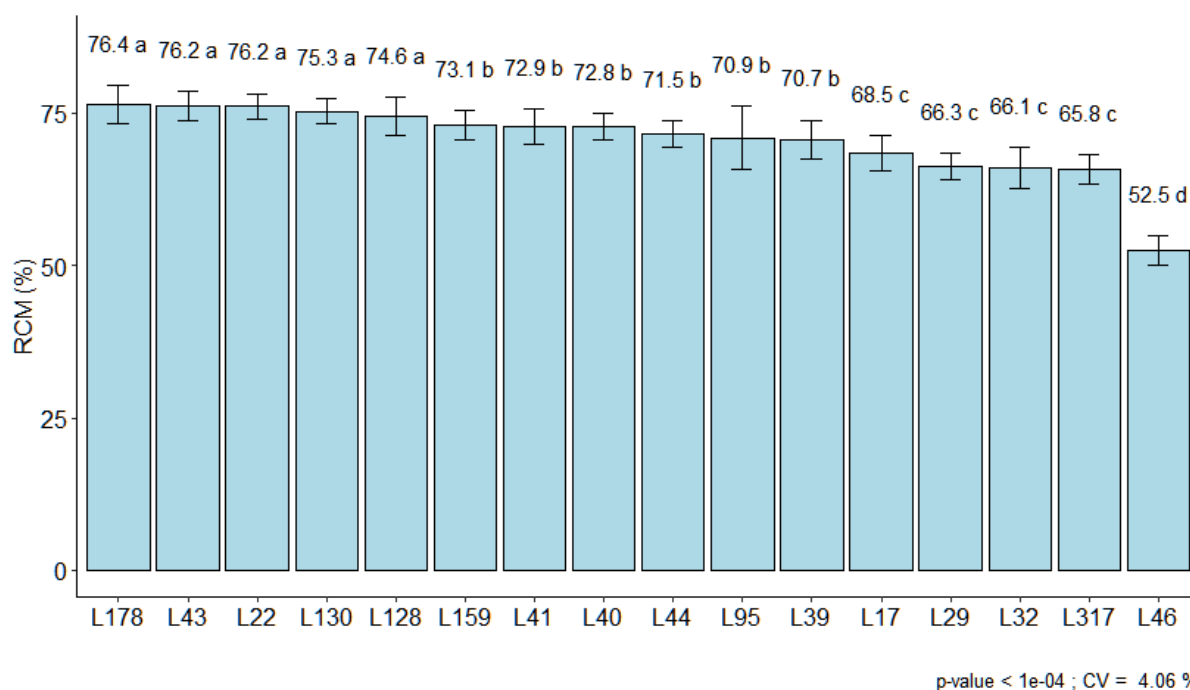
Tabela 3 - Valores de RCM (%) obtidos em ensaios de cultura dupla.

| Estirpes        | Fungos fitopatogênicos |                    |
|-----------------|------------------------|--------------------|
|                 | <i>C. truncatum</i>    | <i>C. kikuchii</i> |
| <b>ATCC 168</b> | -                      | -                  |
| <b>L17</b>      | 64,57 d                | 68,49 c            |
| <b>L22</b>      | 74,38 a                | 76,16 a            |
| <b>L29</b>      | 66,37 c                | 66,29 c            |
| <b>L32</b>      | 44,81 e                | 66,09 c            |
| <b>L39</b>      | 72,73 a                | 70,67 b            |
| <b>L40</b>      | 64,57 d                | 72,81 b            |
| <b>L41</b>      | 73,46 a                | 72,86 b            |
| <b>L43</b>      | 73,58 a                | 76,20 a            |
| <b>L44</b>      | 71,29 b                | 71,51 b            |
| <b>L46</b>      | 22,73 f                | 52,51 d            |
| <b>L47</b>      | -                      | -                  |
| <b>L48</b>      | -                      | -                  |
| <b>L49</b>      | -                      | -                  |
| <b>L50</b>      | -                      | -                  |
| <b>L51</b>      | -                      | -                  |
| <b>L52</b>      | -                      | -                  |
| <b>L53</b>      | -                      | -                  |
| <b>L95</b>      | 70,46 b                | 70,94 b            |
| <b>L128</b>     | 70,39 b                | 74,55 a            |
| <b>L130</b>     | 71,13 b                | 75,29 a            |
| <b>L159</b>     | 71,22 b                | 73,09 b            |
| <b>L178</b>     | 67,32 c                | 76,39 a            |
| <b>L317</b>     | 47,16 e                | 65,82 c            |
| <b>L340</b>     | -                      | -                  |

Valores de RCM (%) seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Os traços representam a incapacidade da estirpe performar no ensaio.

Gráfico 1 - Gráfico de barras com os valores de RCM (%) obtidos no ensaio contra *C. truncatum*

Valores de RCM (%) seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Gráfico 2- Gráfico de barras com os valores de RCM (%) obtidos no ensaio contra *C. kikuchii*

Valores de RCM (%) seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

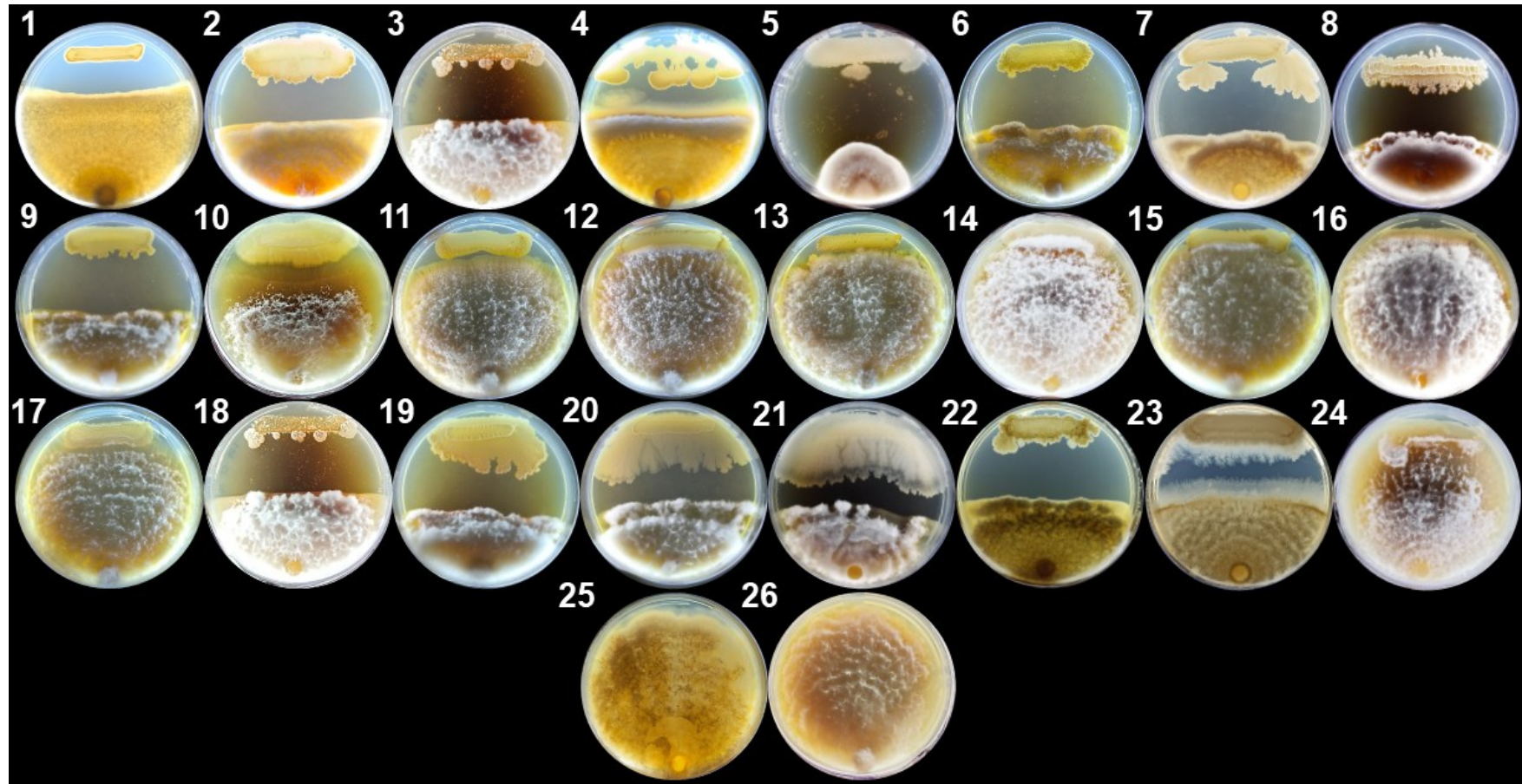
Nos ensaios de controle dos fungos fitopatogênicos *C. truncatum* (Figura 6) e

*C. kikuchii* (Figura 7) foram obtidos diferentes percentuais de RCM variando de 74,38 a 22,73 e 76,39 a 52,51, respectivamente. Nos dois casos foram encontradas diferenças significativas entre as estirpes que apresentaram a capacidade de reduzir o crescimento micelial.

Nos ensaios contra *C. truncatum* as estirpes foram agrupadas em 6 diferentes grupos sendo o grupo que recebeu ranking "A" formado por L22, L43, L41 e L39 o que apresentou maior capacidade de RCM, sendo maior que dos demais estirpes testadas, com valores de 74,38 % a 72,73 %. O grupo que recebeu ranking "B" formado pelas estirpes L44, L159, L130, L95 e L128 obteve um desempenho menor com RCM variando entre 71,29 % a 70,39 %. O grupo que recebeu ranking "C" formado por L178 e L29 que obteve valores de RCM de 67,31 % a 66,37 %, com um desempenho menor que os grupos anteriores. O grupo que recebeu ranking "D" formado por L17 e L40 que obteve valores de RCM de 64,57 % a 64,51 %. O grupo que recebeu ranking "E" formado por L317 e L32 que obteve valores de RCM de 47,16 % a 44,81%. E por fim, o único isolado pertencente ao grupo com menor desempenho, o grupo que recebe o ranking "F" composto pelo isolado L46 que obteve um valor de RCM de 22,73 %.

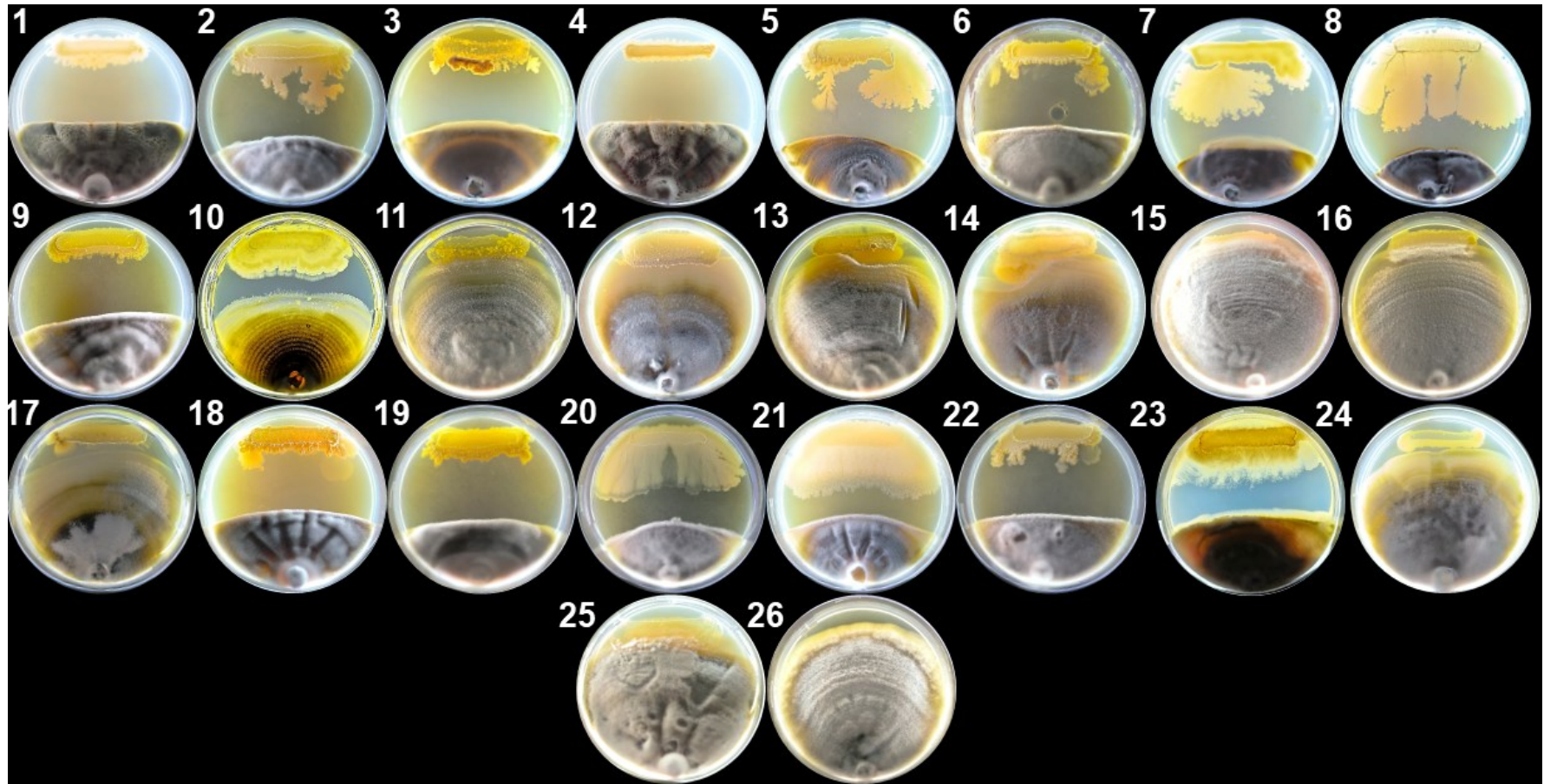
Já nos ensaios realizados contra *C. kikuchii* as estirpes L178, L43, L22, L130 e L128 apresentaram maior capacidade de RCM, sendo maior que das demais estirpes testados, com valores de 76,39 % a 74,55 %. O grupo que recebe o ranking "B" formado pelas estirpes L159, L41, L40, L44, L95 e L39 que obtiveram valores de RCM variando entre 73,09 % a 70,67 %. O grupo que recebe o ranking "C" formado pelas estirpes L17, L29, L32 e L317 que obtiveram valores de RCM variando entre 68,49 % a 65,82 %. E por fim, o único isolado pertencente ao grupo com menor desempenho, o grupo que recebe o ranking "D" composto pelo isolado L46 que obteve um valor de RCM de 52,51 %.

Figura 6 - Controle de *C. truncatum* em ensaios de cultura dupla.



**Legenda:** Ensaios de cultura dupla e L17 (1), L22 (2), L29 (3), L32 (4), L39(5), L40 (6), L41 (7), L43 (8), L44 (9), L46 (10), L47 (11), L 48 (12), L49 (13), L50 (14), L51 (15), L52 (16), L53 (17), L95 (18), L128 (19), L130 (20), L159 (21), L178 (22), L317 (23), L340 (24), *B. subtilis* ATCC 168 (25) e Controle de crescimento micelial de *C. truncatum*.

Figura 7 - Controle de *C. kikuchii* em ensaios de cultura dupla.



**Legenda:** Ensaios de cultura dupla e L17 (1), L22 (2), L29 (3), L32 (4), L39(5), L40 (6), L41 (7), L43 (8), L44 (9), L46 (10), L47 (11), L 48 (12), L49 (13), L50 (14), L51 (15), L52 (16), L53 (17), L95 (18), L128 (19), L130 (20), L159 (21), L178 (22), L317 (23), L340 (24), *B. subtilis* ATCC 168 (25) e Controle de crescimento micelial de *C. kikuchii*.

### 5.3 EXPANSÃO POR SWARMING

Dentre as estirpes estudados 17 deles apresentaram capacidade de realizar expansão por *swarming* após incubação de 12 horas, sendo encontradas diferenças significativas entre as estirpes (Tabela 4, **Erro! Fonte de referência não encontrada.** e Figura 8).

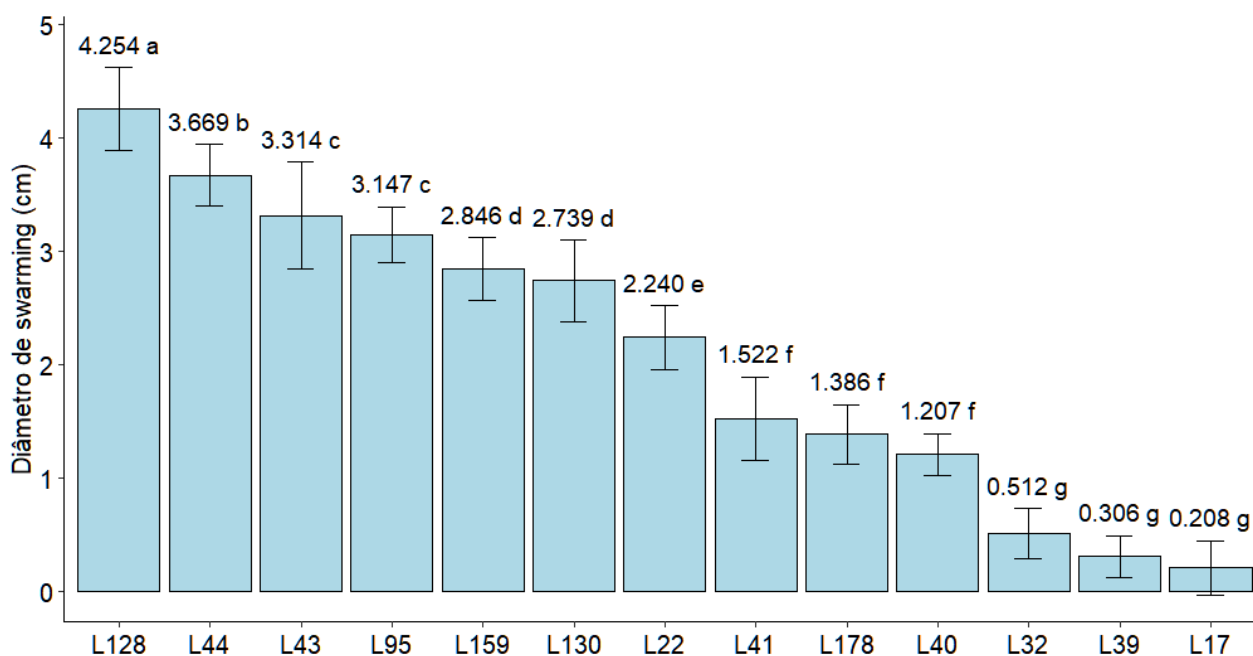
Tabela 4 - Diâmetro de *swarming* obtido nos ensaios de expansão por *swarming*.

| Estirpes                           | Diâmetro médio de <i>swarming</i> (cm) |
|------------------------------------|--|
| <b><i>B. subtilis</i> ATCC 168</b> | -                                      |
| L17                                | 0,207 g                                |
| L22                                | 2,240 e                                |
| L29                                | -                                      |
| L32                                | 0,511 g                                |
| L39                                | 0,305 g                                |
| L40                                | 1,207 f                                |
| L41                                | 1,521 f                                |
| L43                                | 3,314 c                                |
| L44                                | 3,668 b                                |
| L46                                | -                                      |
| L47                                | -                                      |
| L48                                | -                                      |
| L49                                | -                                      |
| L50                                | -                                      |
| L51                                | -                                      |
| L52                                | -                                      |
| L53                                | -                                      |
| L95                                | 3,146 c                                |
| L128                               | 4,254 a                                |
| L130                               | 2,738 d                                |
| L159                               | 2,845 d                                |
| L178                               | 1,385 f                                |
| L317                               | -                                      |
| L340                               | -                                      |

Valores do diâmetro de expansão por *swarming* seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Os traços representam a incapacidade do estirpe performar no ensaio.

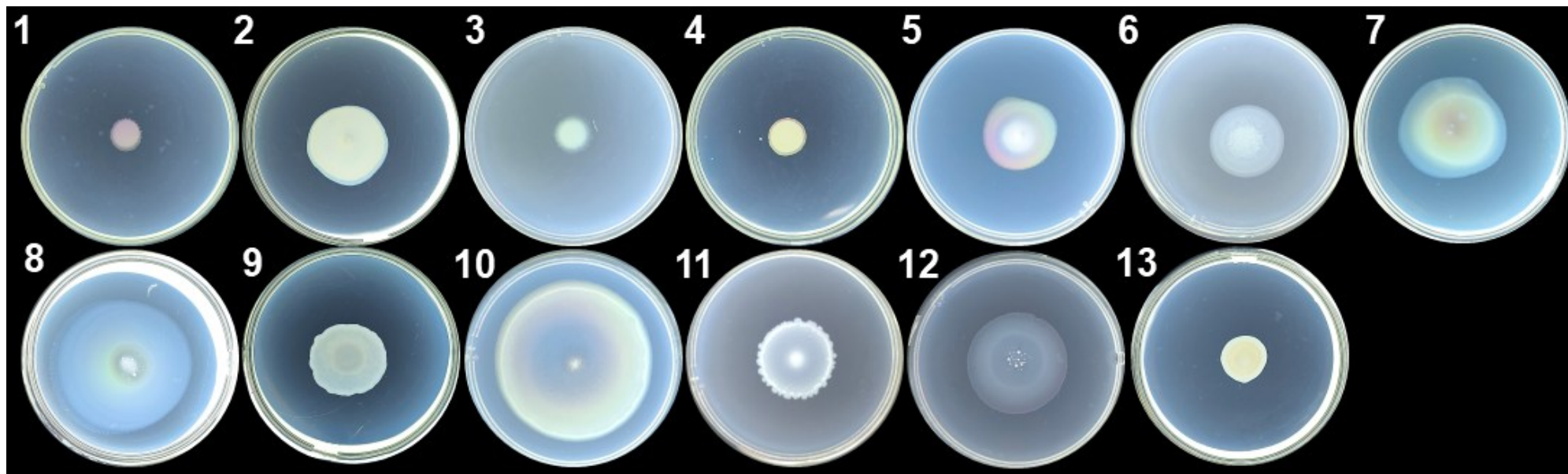
Nos ensaios de expansão por *swarming* foram encontradas diferenças significativas dentre os diâmetros de *swarming* entre as estirpes testadas (Figura 4). As estirpes foram agrupados em 7 diferentes grupos. O isolado que obteve o maior diâmetro de *swarming* foi o isolado L128 com 4,25 cm de diâmetro. O estirpe que recebe o ranking “B” formado pelo isolado L44 obteve um diâmetro de *swarming* de 3,66 cm. O grupo que recebe o ranking “C” formado pelas estirpes L43 e L95 obteve um diâmetro de *swarming* variando entre 3,31 cm a 3,14 cm. O grupo que recebe o ranking “D” formado pelas estirpes L159 e L130 obteve um diâmetro de *swarming* variando entre 2,84 cm a 2,73 cm. O estirpe que recebe o ranking “E” formado pelo isolado L22 com diâmetro de *swarming* de 2,24 cm. O grupo que recebe o ranking “F” formado pelas estirpes L41, L178 e L40 com diâmetros de *swarming* variando de 1,52 cm a 1,20 cm. E por fim, o grupo com o pior desempenho que recebe o ranking “G” formado pelas estirpes L32, L39 e L17 com diâmetros de *swarming* variando de 0,51 cm a 0,20 cm.

Gráfico 3 - Gráfico de barras com os diâmetros das colônias obtido nos ensaios de expansão por *swarming*.



p-value < 1e-04 ; CV = 14.14 %

Valores do diâmetro de expansão por *swarming* seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Figura 8 - Colônias em expansão por *swarming*.

**Legenda:** Ensaio de expansão por *swarming* com as estirpes L17 (1), L22 (2), L32 (3), L39 (4), L40(5), L41 (6), L43 (7), L44 (8), L95 (9), L128 (10), L130 (11), L159 (12) e L178 (13)

#### 5.4 PRODUÇÃO DE BIOFILME DO TIPO PELÍCULA

Dentre as estirpes que apresentaram a capacidade de formação de biofilme do tipo película foi possível constatar diferenças significativas com relação à absorvância quantificada por DO600 após 24, 48 e 72 horas (Tabela 5).

Nas avaliações de 24 horas o isolado que apresentou a maior capacidade de produção de biofilme do tipo película foi o isolado L95 com um valor médio de DO600 de 4,95. O estirpe que recebe o ranking “B” formado pelo isolado L178 apresentou valor médio de DO600 de 4,61. O grupo que recebe o ranking “C” formado pelas estirpes L39, L130, L159, L22, L128 e L41 apresentou valores médios de DO600 variando de 4,43 a 4,03. O estirpe que recebe o ranking “D” formado pelo isolado L44 apresentou valor médio de DO600 de 3,17. O grupo que recebe o ranking “E” formado pelas estirpes L40 e L29 apresentou valores médios de DO600 de 2,80 e 2,71, respectivamente. Por fim, o grupo que recebe o ranking “F” formado pelas estirpes L43 e a cepa referência *B. subtilis* ATCC168 apresentou valores médios de DO600 de 0,96 e 0,86, respectivamente.

Nas avaliações de 48 horas o isolado que apresentou maior capacidade de formação de biofilme do tipo película foi o isolado L95 com valor médio de DO600 de 8,58. O grupo que recebe o ranking “B” formado pelas estirpes L22, L128, L39, L41, L130 e L40 apresentou valores médios de DO600 variando de 7,49 a 6,40. O grupo que recebe o ranking “C” formado pelas estirpes L44, L43, L178 e L29 apresentou valores médios de DO600 variando de 5,84 a 5,29. O grupo que recebe o ranking “D” formado pela estirpe L159 apresentou valor médio de DO600 de 4,53, respectivamente. O grupo que recebe o ranking “E” formado pelas estirpes L32, a cepa referência *B. subtilis* ATCC168 e L17 apresentou valores médios de DO600 variando de 1,83 a 1,61.

Nas avaliações de 72 horas o grupo de estirpes que apresentaram capacidade superior de produção de biofilme do tipo película foram as estirpes L41, L39 e L29 com valores médios de DO600 variando de 12,8 a 11,17. O grupo que recebe o ranking “B” formado pelas estirpes L178, L95, L43, L130, L159, L40, L128, L22 e L44 apresentou valores médios de DO600 variando de 10,15 a 8,28. O grupo que recebe

o ranking “C” formado pela cepa referência *B. subtilis* ATCC168 que apresentou valor médio de DO600 de 3,64. O grupo que recebe o ranking “D” formado pelas estirpes L32 e L17 apresentou valores médios de DO600 de 2,5 a 1,89.

As estirpes com fenótipo de colônias filamentosas L48, L49, L50, L51, L52, L53 e L317 não apresentaram capacidade de formação de biofilme do tipo película. O isolado L340 não apresentou capacidade de formação do biofilme de tipo película. As estirpes L17 e L32 não apresentaram quantidades detectáveis de biofilme do tipo película nas primeiras 24 horas de incubação.

Tabela 5 - Formação de biofilme quantificado por DO600 em diferentes tempos de incubação.

| Estirpes        | Tempo    |          |          |
|-----------------|----------|----------|----------|
|                 | 24 horas | 48 horas | 72 horas |
| <b>ATCC 168</b> | 0,86 e   | 1,67 e   | 3,64 c   |
| <b>L17</b>      | -        | 1,61 e   | 1,89 d   |
| <b>L22</b>      | 4,23 b   | 7,49 b   | 8,96 b   |
| <b>L29</b>      | 2,71 d   | 5,29 c   | 11,17 a  |
| <b>L32</b>      | -        | 1,83 e   | 2,50 d   |
| <b>L39</b>      | 4,43 b   | 7,23 b   | 11,76 a  |
| <b>L40</b>      | 2,80 d   | 6,40 b   | 9,33 b   |
| <b>L41</b>      | 4,03 b   | 7,11 b   | 12,80 a  |
| <b>L43</b>      | 0,96 f   | 5,69 c   | 9,79 b   |
| <b>L44</b>      | 3,17 d   | 5,84 c   | 8,28 b   |
| <b>L46</b>      | -        | -        | -        |
| <b>L47</b>      | -        | -        | -        |
| <b>L48</b>      | -        | -        | -        |
| <b>L49</b>      | -        | -        | -        |
| <b>L50</b>      | -        | -        | -        |
| <b>L51</b>      | -        | -        | -        |
| <b>L52</b>      | -        | -        | -        |
| <b>L53</b>      | -        | -        | -        |
| <b>L95</b>      | 4,95 a   | 8,58 a   | 9,98 b   |
| <b>L128</b>     | 4,06 c   | 7,37 b   | 9,3 b    |
| <b>L130</b>     | 4,37 c   | 6,67 b   | 9,63 b   |
| <b>L159</b>     | 4,28 c   | 4,53 d   | 9,62 b   |
| <b>L178</b>     | 4,61 b   | 5,56 c   | 10,15 b  |
| <b>L317</b>     | -        | -        | -        |
| <b>L340</b>     | -        | -        | -        |

Valores de DO600 seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Os traços representam a incapacidade do estirpe performar no ensaio.

## 5.5 PRODUÇÃO DE COMPOSTOS INDÓLICOS

A maioria das estirpes apresentou capacidade de produção de compostos indólicos. Apenas as estirpes L48, L50 e L178 não apresentaram capacidade de produção de quantidades detectáveis de compostos indólicos.

Tabela 6 – Produção de compostos indolacético ( $\mu\text{g/mL}$ )

| Estirpes                 | Compostos indolacético<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|--------------------------|--|
| <i>Azospirillum spp.</i> | 99,15 a  |
| <b>L17</b>               | 63,89 c  |
| <b>L22</b>               | 11,13 f  |
| <b>L29</b>               | 5,16 g   |
| <b>L32</b>               | 68,40 b  |
| <b>L39</b>               | 3,43 g   |
| <b>L40</b>               | 17,64 d  |
| <b>L41</b>               | 6,10 g   |
| <b>L43</b>               | 6,40 g   |
| <b>L44</b>               | 5,26 g   |
| <b>L46</b>               | 4,3 g  |
| <b>L47</b>               | 19,17 d  |
| <b>L48</b>               | -  |
| <b>L49</b>               | 6,62 g   |
| <b>L50</b>               | -  |
| <b>L51</b>               | 4,95 g   |
| <b>L52</b>               | 11,82 f  |
| <b>L53</b>               | 9,87 f   |
| <b>L95</b>               | 3,92 g   |
| <b>L128</b>              | 14,80 e  |
| <b>L130</b>              | 4,85 g   |
| <b>L159</b>              | 2,36 g   |
| <b>L178</b>              | -  |
| <b>L317</b>              | 7,10 g   |
| <b>L340</b>              | 14,51 e  |

Valores de compostos indolacético ( $\mu\text{g/mL}$ ) seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Os traços representam a incapacidade do estirpe performar no ensaio.

As estirpes que apresentaram capacidade de produzir compostos indolacético foram divididos em 7 diferentes grupos por apresentarem diferenças significativas na

quantidade produzida. O isolado de *Azospirillum spp.* utilizado como controle nos ensaios foi o que obteve a maior produção dos compostos indolacético. O grupo que recebe o ranking "B" formado pelo isolado L32 produziu uma média de 68,40 µg/mL. O grupo que recebe o ranking "C" formado pelo isolado L17 produziu uma média de 63,89 µg/mL. O grupo que recebe o ranking "D" formado pelas estirpes L47 e L40 produziu uma média de 19,17 µg/mL e 17,64 µg/mL, respectivamente. O grupo que recebe o ranking "E" formado pelas estirpes L128 e L340 produziu uma média de 19,17 µg/mL e 17,64 µg/mL, respectivamente. O grupo que recebe o ranking "F" formado pelas estirpes L52, L22 e L53 produziu em média de 11,82 µg/mL a 9,87 µg/mL. E por fim, o grupo de menor produção que recebe o ranking "G" formado pelas estirpes L317, L49, L43, L41, L44, L29, L51, L130, L46, L95, L39 e L159 produziu em média de 7,10 µg/mL a 2,36 µg/mL.

## 6 DISCUSSÃO

Atualmente uma das maiores dificuldades no agronegócio para o aumento da produtividade é o controle de patógenos que acometem as principais culturas, dentre essas patógenos os fungos fitopatogênicos estão entre um dos principais causadores de perdas nessas culturas. As perdas médias decorrentes das doenças acometidas por esse fungos nas principais culturas do mundo (soja, trigo, milho, batata e arroz) variam de 17% a 30% (SAVARY et al., 2019). Essas perdas são extremamente preocupantes pois geram prejuízos econômicos para os produtores, quanto um prejuízo social devido aos aumentos nos custos de produção, que resulta em um produto mais caro colocando assim em risco a segurança alimentar do país.

Dessa forma estratégias para promover o crescimento das plantas através do uso de microrganismos benéficos, seja de forma direta, através da estimulação por hormônios ou disponibilização de nutrientes, ou de forma indireta, através do controle dos patógenos e doenças que eles causam, é de fundamental importância para o agronegócio e para a sociedade, pois um aumento na produtividade corresponde a um maior desenvolvimento socioeconômico e, conseqüentemente, um aumento na distribuição desses bens pela sociedade como um todo (JUROSZEK; VON TIEDEMANN, 2011). O uso de bioinsumos a base de microrganismos no mundo todo tem aumentado cada vez mais, representando atualmente cerca de 5% do mercado global de defensivos agrícolas, e estimativas apontam para um aumento de 45% nos próximos anos, podendo chegar a corresponder por metade do mercado de defensivos agrícolas a partir de 2040 (DAMALAS; KOUTROUBAS, 2018; PATHMA et al., 2021).

Para o Brasil esse mercado representa uma movimentação de mais de 1 bilhão de reais por ano, e que vem crescendo 6% ao ano (VIDAL et al., 2022). Esse crescimento é fruto de buscas por métodos de combate a patógenos e doenças que tenham eficiência e causem menor impacto a saúde humana e ao ambiente, além de medidas públicas que vem incentivando a pesquisa e o comércio desses produtos. No ano de 2020 o Brasil implementou o Plano Nacional de Bioinsumos por meio do Decreto nº 10.375, e em 2022 o Plano Nacional de Fertilizantes. Essas implementações visam promover o desenvolvimento e uso de bioinsumos de forma

geral no Brasil (SAE, 2021). Para suprir a demanda desse mercado em crescimento serão necessários vários estudos a fim de identificar o potencial de aplicação de diferentes estirpes de microrganismos para a promoção do crescimento de plantas.

No estudo descrito neste trabalho, foi possível identificar estirpes bacterianas pertencentes a diferentes espécies, dentre as quais encontram-se alguns gêneros de grande relevância na promoção de crescimento de plantas como *Bacillus* e *Pseudomonas* (VILLARREAL-DELGADO, 2018). A maioria das estirpes é Gram-positivo e tem a capacidade de se diferenciar em endósporos, tal característica tem grande relevância no desenvolvimento de bioinsumos devido aos endósporos apresentarem grande resistência a condições bióticas e abióticas, dessa forma estirpes capazes de se diferenciar em endósporos apresentam mais estabilidade na formulação e maior tempo de prateleira (BORRISS, 2015).

Nos ensaios *in vitro* de confronto direto, ou teste de cultura dupla, apesar de as estirpes obterem diferentes resultados a maioria deles obtiveram um resultado de mais de 60% de RCM. É possível observar uma tendência na capacidade de expansão por *swarming* e na capacidade de controle nos ensaios de cultura dupla, isso é especialmente notável nas estirpes L128, L130 e L159 que tem suas colônias cobrindo uma grande extensão da zona de inibição como demonstrado na Figura 6. Já as colônias que não apresentaram capacidade de performar grandes expansões por *swarming* nessas condições de cultivo, mesmo assim apresentaram grande zonas com RCM, isso sugere que a atividade foi devido à produção de moléculas com atividade de controle do crescimento micelial assim como sugerido por LECLÈRE et al., 2020.

É importante ressaltar que a capacidade de produzir compostos com atividade antifúngica varia de acordo com a espécie de microrganismo e suas condições de cultivo, mas a relação entre o tamanho da colônia e o halo de inibição pode ser utilizada como um indicativo da atividade antifúngica de um isolado (SAIYAM et al., 2024) Assim, a observação das características das colônias, como o tamanho, pode ser uma ferramenta útil na seleção de estirpes com potencial antifúngico para o controle de doenças em plantas cultivadas.

Com esses resultados não é possível inferir se a ação das estirpes foi fungicida ou fungistática. No entanto, são conhecidas muitas moléculas produzidas por bactérias do gênero *Bacillus* que possuem ação fungicida ou fungistática. Dentre

esses compostos com capacidade de inibição do crescimento micelial, destacam-se os lipopeptídeos e os polipeptídeos, que são produzidos por diversas espécies e possuem atividade antimicrobiana comprovada (SAIYAM et al., 2024).

Os lipopeptídeos são moléculas que apresentam uma estrutura formada por um lipídio hidrofóbico e um peptídeo hidrofílico. Essas moléculas são capazes de se ligar às membranas celulares dos microrganismos-alvo e causar lise celular. Dentre os lipopeptídeos produzidos por *Bacillus*, destacam-se a surfactina, a iturina e a fengicina (Ongena & Jacques, 2008). Já os polipeptídeos produzidos por bactérias do gênero *Bacillus* são moléculas compostas por uma ou mais cadeias de aminoácidos. Essas moléculas apresentam atividade antimicrobiana devido à sua capacidade de se ligar às membranas celulares dos microrganismos-alvo e causar a sua desestruturação. Dentre os polipeptídeos produzidos por *Bacillus*, destacam-se a bacitracina, a subtilosina e a ericin (Gao et al., 2017). Além dessas moléculas, as bactérias do gênero *Bacillus* também são capazes de produzir outras substâncias com atividade antagonista, como ácidos orgânicos, enzimas hidrolíticas e sideróforos (Cawoy et al., 2014).

Nos ensaios de expansão por *swarming* as estirpes L128, L44, L43 e L95 foram os que apresentaram os maiores diâmetros de expansão, respectivamente. Como foi apontado anteriormente, a característica das estirpes em performar maior expansão por *swarming* pode estar relacionada com a capacidade de controle desempenhada nos testes de cultura dupla, dessa forma as 4 estirpes que apresentaram maior capacidade de expansão por *swarming* também estão entre os que tiveram maior capacidade de RCM. Por sua vez o *swarming* é uma característica importante para a dispersão das células bacterianas nas raízes das plantas, pois através dessa motilidade as células conseguem alcançar diferentes pontos da raiz e acompanhar o crescimento radicular (MORRIS; MONIER, 2003).

A capacidade de produção de biofilme é especialmente importante para a colonização das raízes, as estirpes que tem capacidade de estabelecer essa matriz celular e realizar associações com superfícies bióticas têm sido amplamente investigadas, o que tem incentivado sua aplicação na agricultura (Singh e Chauhan, 2017). A colonização permite que a bactéria exerça seus efeitos benéficos sobre a planta por um maior período (KAMILLOVA et al., 2005). Um outro aspecto importante

da formação de biofilme é a capacidade da bactéria que o produz conseguir se nutrir melhor dos exsudatos liberados pela raiz da planta, dessa forma tendo mais acesso a nutrientes que podem ser determinantes na produção de metabólitos com ação de controle de patógenos ou então a produção de fitohormônios, como o AIA, dessa forma podendo melhorar a performance do isolado em condições de campo para o controle de fitopatógenos e promoção de crescimento das plantas (Agnolucci *et al.* 2015).

Grande parte das estirpes foi capaz de produzir o biofilme de tipo película avaliado neste trabalho, porém é importante ressaltar que existem outras formações de biofilme sendo a de tipo película característica de bactérias do gênero *Bacillus* spp (BERTÊ *et al.*, 2022). Portanto estudos futuros precisam ser realizados a fim de investigar a capacidade de formação de biofilme pelas estirpes L46, L47, L48, L49, L50, L51, L52, L53 e L340 pela possibilidade de formação de biofilme do qual a metodologia utilizada neste trabalho não pode avaliar.

Grande parte dos processos fisiológicos em plantas são regulados por auxinas, principalmente pelo AIA. Essa capacidade tem sido explorada em estudos a fim de utilizar essa capacidade como bioestimulante do crescimento de plantas. Nesse aspecto as bactérias do gênero *Bacillus* spp. vem se destacando sendo descritas como “microfábricas potentes de AIA”, e constituem um gênero pouco explorado nas aplicações no campo agrícola com essa finalidade (WAGI & AHMED, 2019).

O L-triptofano é o considerado o principal fator modulador do AIA bacteriano, sendo responsável por aumentos significativos na produção deste composto em meios de cultura que foram suplementados com L-trp. Como exemplo temos estudos que mostram que a quantidade de AIA secretada por *A. brasilense* aumentou até 10.000% quando teve o meio suplementado com L-trp (SILVA *et al.*, 2024).

As estirpes deste estudo apresentaram capacidade de produção de compostos indólicos, a metodologia de avaliação utilizada não é capaz de comprovar que os compostos avaliados são necessariamente AIA, mas garante a presença de compostos indólicos. Dentre as estirpes foram poucos que produziram quantidades próximas a cepa de referência *A. brasilense*, apenas as estirpes L32 e L17 produziram uma quantidade próxima, porém significativamente diferente, do produzido pela cepa referência. As aplicações exógenas de auxinas, como o AIA, proporcionam maior

porcentagem, velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento (DA COSTA et al., 2013) As diferentes respostas das auxinas estão relacionadas com o órgão vegetal, sendo que o excesso pode provocar efeitos inibitórios ou deletérios para a planta (Ljung *et al.*, 2005). Dessa forma as quantidades produzidas pelas estirpes do presente estudo sendo menores da cepa referência comercial de *A. brasilense*, que é uma espécie conhecida capaz de produzir quantidades significativas de AIA, sugere que as estirpes não teriam a capacidade de prejudicar o crescimento vegetal em condições relevantes.

Portanto o presente trabalho pode avaliar o potencial biotecnológico das 24 linhagens presentes e demonstrar que elas podem atuar na promoção de crescimento de plantas através de um ou mais mecanismos evidenciados neste estudo. Isso abre possibilidades de aplicação biotecnológica para estas estirpes, dessa forma os próximos trabalhos devem buscar transformar seu potencial em um produto que poderá ser aplicado em produções agrícolas.

No entanto, o desenvolvimento de bioinsumos microbianos requer estudos adicionais para compreender melhor os mecanismos de ação das linhagens, validar sua eficácia em diferentes condições ambientais e agrícolas, e assegurar sua compatibilidade com outros insumos utilizados no campo. Ensaio de campo, análises *in silico*, estudos de formulação e estudos do processo de fermentação líquida são etapas fundamentais para avançar no nível de maturidade tecnológica dessas linhagens e viabilizar sua aplicação comercial como ativos de produtos biológicos no agronegócio.

## 7 CONCLUSÃO

A crescente demanda por práticas agrícolas mais sustentáveis e a necessidade de reduzir a dependência de insumos químicos sintéticos tornam imprescindível o desenvolvimento de bioinsumos microbianos eficazes, que atuem como defensivos biológicos, fertilizantes biológicos ou bioestimulantes, dessa forma atuando na promoção do crescimento vegetal. Nesse contexto, este estudo avaliou 24 linhagens bacterianas isoladas do solo, sendo a maioria Gram-positivas e formadoras de endósporos, características que reforçam sua adaptabilidade e potencial biotecnológico.

Os resultados obtidos indicaram que a maioria das estirpes deste trabalho apresenta o potencial de promoção de crescimento de vegetais por um ou mais mecanismos. Algumas estirpes demonstraram potencial para controlar o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos, o que sugere os resultados dos testes de cultura dupla em que os patógenos que podem causar doenças que poderiam comprometer o desenvolvimento das plantas tiveram seu crescimento micelial reduzido.

## 8 REFERÊNCIAS

Agnolucci, M., Battini, F., Cristani, C. and Giovannetti, M. (2015) Diverse bacterial communities are recruited on spores of different arbuscular mycorrhizal fungal isolates. *Biol Fertil Soils* 51, 379–389.

ANPII (Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes). Estatísticas. Disponível em: (<http://www.anpii.org.br/estatisticas/>). Acesso em 10 de julho de 2024.

ARMALYTÉ, Julija et al. Microbial diversity and antimicrobial resistance profile in microbiota from soils of conventional and organic farming systems. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 10, n. APR, 2019. ISSN: 1664302X. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00892.

Armbruster, C.R. and Parsek, M.R. (2018) New insight into the early stages of biofilm formation. *Proc Natl Acad Sci* 115, 4317–4319.

AZEVEDO, J.L. 1998. Microrganismos Endofíticos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds.) *Ecologia Microbiana*. Ed. EMBRAPA, Jaguariúna-SP. p.117-137.

BACH, E., DOS SANTOS SEGER, G. D., DE CARVALHO FERNANDES, G., LISBOA, B. B., PASSAGLIA, L. M. P. (2016). Evaluation of biological control and rhizosphere competence of plant growth promoting bacteria. *Applied soil ecology*, 99, 141-149.

Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., ... & Smith, D. L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, 9, 1473.

BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford: CAB International, 1992.

BALOTA, E. L. Manejo e qualidade biológica do solo. Editora UFV, Viçosa, 2018, 279p.

BASHAN Y, DE-BASHAN LE, PRABHU SR, HERNANDEZ J-P. (2014). Advances in

plant growth- promoting bacterial inoculant technology-formulations and practical perspectives (1998– 2013). *Plant Soil*.

BEBBER, Daniel P.; HOLMES, Timothy; GURR, Sarah J. The global spread of crop pests and pathogens. *Global Ecology and Biogeography*, [S. l.], v. 23, n. 12, p. 1398–1407, 2014. ISSN: 1466-822X. DOI: 10.1111/geb.12214. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/geb.12214>.

Bennett, P. C., Rogers, J. R., Choi, W. J., and Hiebert, F. K. (2001). Silicates, silicate weathering, and microbial ecology. *Geomicrobiol. J.* 18, 3–19. doi: 10.1080/01490450151079734

Berg, G., Grube, M., Schloter, M., and Smalla, K. (2014). Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives. *Front. Microbiol.* 5:148

BETTIOL W.; MORANDI, M.A.B.; PINTO, Z.V.; JÚNIOR, T.J. DP.; CORRÊA, E.B.; MOURA, A.B.; LUCON, C.M.M.; COSTA, J.C.B.; BEZERRA, J.L. (2012). Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, p.155. (Documentos / Embrapa Meio Ambiente; 88).

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. 1 ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341p.

BIANCO C, IMPERLINI E, CALOGERO R, SENATORE B, AMORESANO A, CARPENTIERI A, PUCCI P, DEFEZ R. (2006). Indole-3-acetic acid improves *Escherichia coli*'s defences to stress. *Arch Microbiol* 185:373–382.

BIANCO C, IMPERLINI E, DEFEZ R. (2009). Legumes like more IAA. *Plant Signal Behav* 4:763–765. BRANDL

BORRISS, R. (2016). Phytostimulation and Biocontrol by the Plant-Associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42: An Update. In: *Bacilli and Agrobiotechnology*. Springer International Publishing, 2016. p.163-184.

CALVO, P.; KLOEPPER, J. W.; NELSON, L. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*, 383, 3– 41.

CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H.; SILVA, J.R.C.; REIS E.M. Soja: Antracnose -

*Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & Moore e *Colletotrichum dematium*(Pers.) Grove var *truncata* (Schw.) Arx. Cultivar Grandes Culturas.v .7, n .83, p .26 - 28, 2006.

CANBOLAT M, BILEN S, ÇAKMAKÇI R, ŞAHIN F, AYDIN A. (2006). Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *BioFertil Soils* 42:350–357.

Cardoso, E. J. B. N., & Estrada-Bonilla, G. A. (2019). Inoculantes agrícolas. *Biocologia industrial*, v. 3: Processos fermentativos e enzimáticos, 3, 305.

CARDOSO, E. J. B.N.; ANDREOTE, F. D. (Ed.). *Microbiologia do solo*. 2. Ed. Piracicaba: ESALQ, 2016.

CEPEA/ESALQ-USP. Mercado de Trabalho do Agronegócio. 2022. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/mercado-de-trabalho-do-agronegocio.aspx>.

CEPEA/ESALQ-USP; CNA. Queda Acumulada do PIB do Agronegócio Chega a 4,28% de Janeiro a Setembro. [S. l.], 2022.

Cline, W. R. (2008). *Global Warming and Agriculture: Finance Development*. Washington DC: International Monetary Fund, 23–27

COMPANT, Stéphane; DUFFY, Brion; NOWAK, Jerzy; CLÉMENT, Christophe; BARKA, Essaïd Ait. Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, [S. l.], v. 71, n. 9, p. 4951–4959, 2005. ISSN: 0099-302240. DOI: 10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005.

CropLife Brasil. (2024). Mercado de bioinsumos microbianos cresceu 15% na safra 2023/2024. CropLife. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/mercado-de-bioinsumos-microbianos-cresceu-15-na-safra-2023-2024/>.

DA COSTA, Elaine Martins; NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão; DE CARVALHO, Fernanda; TROCHMANN, André; FERREIRA, Linnajara de Vasconcelos Martins; MOREIRA, E. Fatima Maria de Souza. Promoção do crescimento vegetal e diversidade geñtica de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, [S. l.], v. 48, n. 9, p. 1275–1284, 2013. ISSN: 0100204X.

DOI: 10.1590/S0100-204X2013000900012.

DE SOUZA, Rocheli; AMBROSINI, Adriana; PASSAGLIA, Luciane M. P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, [S. l.], v. 38, n. 4, p. 401–419, 2015.

de\_colonias\_microbianas.pdf. 2015.

Deveau, A., Bonito, G., Uehling, J., Paoletti, M., Becker, M., Bindschedler, S., Hacquard, S., Herve, V. *et al.* (2018) Bacterial–fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. *FEMS Microbiol Rev* 42, 335–352.

DIAS, M. D.; MIRANDA-FILHO, R. J.; CAFÉ-FILHO, A. C.; PINHEIRO, V. F. Controle químico da antracnose na cultura da soja. *Tropical Plant Pathology*, v. 36, p. 429. (Resumo). 2011.

DIAS, M.D. Etiologia, diversidade do agente causal e controle químico da antracnose da soja. 2014. XVII, 128 f., il. Tese (Doutorado em Fitopatologia)—Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

DONATI, A, J.; LEE, H.; LEVEAU, J, H.; CHANG, W. (2013). Effects of Indole-3-Acetic Acid on the Transcriptional Activities and Stress Tolerance of *Bradyrhizobium japonicum*. *PloS one* 8:e76559.

DUCA, D.; LORV, J.; PATTEN, C. L.; ROSE, D.; GLICK, B. R. (2014). Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v.106, n.1, p.85-125.

Edwards, S.J. and Kjellerup, B.V. (2013) Applications of biofilms in bioremediation and biotransformation of persistent organic pollutants, pharmaceuticals/personal care products, and heavy metals. *Appl Microbiol Biotechnol* 97, 9909–9921.

ELHAISSOUFI, W. *et al.* Phosphate bacterial solubilization: a key rhizosphere driving force enabling higher p use efficiency and crop productivity. *Journal Of Advanced Research*, v. 38, p. 13-28, 2022.

EL-KHOURY, Nay; MAJED, Racha; PERCHAT, Stéphane; KALLASSY, Mireille; LERECLUS, Didier; GOHAR, Michel. Spatio-temporal evolution of sporulation in *Bacillus thuringiensis* biofilm. *Frontiers in Microbiology*, [S. l.], v. 7, p. 1–7, 2016. ISSN: 1664302X. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01222.

EMBRAPA. Trajetória do Agro. 2022. Disponível em:

<https://www.embrapa.br/en/visao-de-futuro/trajetoria-do-agro>.

ERSTRAETEN, Natalie; BRAEKEN, Kristien; DEBKUMARI, Bachaspatimayum; FAUVART, Maarten; FRANSAER, Jan; VERMANT, Jan; MICHIELS, Jan. Living on a surface: *swarming* and biofilm formation. Trends in Microbiology, [S. l.], v. 16, n. 10, p. 496–506, 2008. ISSN: 0966842X. DOI: 10.1016/j.tim.2008.07.004.

FILHO, R. L.; FERROL, H. M.; PINHO, R. S. C. de. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas, v. 4, n. 2, p. 12, 2010.

GALLI, J. A.; PANIZZI, R. DE C.; VIEIRA, R. D. Resistência de variedades de soja à morte de plântulas causada por *Colletotrichum truncatum*. Arquivos do Instituto Biológico, v.74, n.2, p.163–165, jun. 2007.

Ghaly, A. E., and Ramakrishnan, V. V. (2015). Nitrogen sources and cycling in the ecosystem and its role in air, water and soil pollution: a critical review. J. Pollut. Eff. Control 3:136. doi: 10.4172/2375-4397.1000136

GLICK, B. R. (1995) The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can J Microbiol 41:109–117.

GLIESSMAN, S. R. Agroecology: The Ecology of Sustainable Food Systems. CRC Press, 2018.

GOULART, A. C. P. Fungos em sementes de soja: detecção, importação e controle. 2ed. rev. e ampliada. Brasília: Embrapa, 2018.

Gray, E. J., and Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant- bacterium signaling processes. Soil Biol. Biochem. 37, 395–412. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.08.030.

HARDOIM, P. R., VAN OVERBEEK, L. S., BERG, G., PIRTTILÄ, A. M., COMPANT, S., CAMPISANO, A., & SESSITSCH, A. (2015). The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 79(3), 293-320.

HAYAT, Rifat *et al.* Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, v. 60, n. 4, p. 579-598, 2010.

Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M. H., and Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nat. Rev. Microbiol.* 16, 471–483. doi: 10.1038/s41579-018-0040-1

HWANG, Sun Kyoung; BACK, Chang Gi; WIN, Nang Kyu Kyu; KIM, Myung Kyum; KIM, Hee Dae; KANG, In Kyu; LEE, Sang Chul; JUNG, Hee Young. Occurrence of bacterial rot of onion caused by *Bacillus amyloliquefaciens* in Korea. *Journal of General Plant Pathology*, [S. l.], v. 78, n. 3, p. 227–232, 2012. ISSN: 13452630. DOI: 10.1007/s10327-012-0376-8.

Ikuma, K., Decho, A.W. and Lau, B.L.T. (2013) The extracellular bastions of bacteria - a biofilm way of life. *Nat Educ Knowl* 4, 2–7.

IMPERLINI E, BIANCO C, LONARDO E, CAMERINI S, CERMOLA M, MOSCHETTI G, DEFEZ R. (2009). Effects of indole-3-acetic acid on *Sinorhizobium meliloti* survival and on symbiotic nitrogen fixation and stem dry weight production. *Appl Microbiol Biotechnol* 83:727-738.

JACOBSEN, B. J.; ZIDACK, N. K.; LARSON, B. J. The Role of *Bacillus* -Based Biological Control Agents in Integrated Pest Management Systems: Plant Diseases. *Phytopathology*®, [S. l.], v. 94, n. 11, p. 1272–1275, 2004. ISSN: 0031-949X. DOI: 10.1094/PHYTO.2004.94.11.1272. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1272>.

JACOBSEN, B. J.; ZIDACK, N. K.; LARSON, B. J. The Role of *Bacillus* -Based Biological Control Agents in Integrated Pest Management Systems: Plant Diseases. *Phytopathology*®, [S. l.], v. 94, n. 11, p. 1272–1275, 2004. ISSN: 0031-949X. DOI: 10.1094/PHYTO.2004.94.11.1272. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1272>.

JILANI, G. et al. Role of Phosphate-Solubilising Microorganisms in Agricultural Development. *Plant Growth-Promoting Microbes For Sustainable Biotic And Abiotic Stress Management*, p. 463-483, 2021.

JÚNIOR, A. G.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. *Floresta*, v. 30, n. 0, p. 155-165, 2000.

KAMILOVA, Faina; VALIDOV, Shamil; AZAROVA, Tatiyana; MULDER, Ine; LUGTENBERG, Ben. Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environmental Microbiology*, [S. l.], v. 7, n. 11, p. 1809–1817, 2005. ISSN: 14622912. ISBN: 1118091817. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2005.00889.x.

Kamiyama, A. (2014). *Agricultura sustentável*. Cetesb.

KHAN, H. *et al.* Coupling phosphate-solubilizing bacteria (PSB) with inorganic phosphorus fertilizer improves mungbean (*Vigna radiata*) phosphorus acquisition, nitrogen fixation, and yield in alkaline-calcareous soil. *Heliyon*, v. 8, n. 3, p. 9081, 2022.

KIM, JI.; MURPHY, AS.; BAEK, D.; LEE, S.; YUN, D.; BRESSAN, RA.; NARASIMHAN.; ML. (2011). YUCCA6 over-expression demonstrates auxin function in delaying leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* 62:3981– 3992.

KOIKE, Steven T.; SUBBARAO, Krishna V; DAVIS, R. Michael; TURINI, Thomas A. *Vegetable Diseases Caused by Soilborne Pathogens*. [s.l.] : University of California, Agriculture and Natural Resources, 2003. v. 86 ISSN: 0031949X. ISBN: 978-1-60107-273-3. DOI: 10.3733/ucanr.8099. Disponível em: <https://anrcatalog.ucanr.edu/Details.aspx?itemNo=8099>.

KUNC, FRANTIŠEK; MACURA, J. I. Mechanisms of adaptation and selection of microorganisms in the soil. *Developments in agricultural and managed-forest ecology*, 1988.

LECLÈRE, Valerie et al. **Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances its antagonistic and biocontrol activities** Running title: **MYCOSUBTILIN OVERPRODUCTION IN BACILLUS SUBTILIS**. [s.l.: s.n.].

Lucas, Y. (2001). The role of plants in controlling rates and products of weathering: importance of biological pumping. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 29, 135–163. doi: 10.1146/annurev.earth.29.1.135

MAHANTY, Trishna; BHATTACHARJEE, Surajit; GOSWAMI, Madhuranthi; BHATTACHARYYA, Purnita; DAS, Bannhi; GHOSH, Abhrajyoti; TRIBEDI, Prosun. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. Environmental Science and Pollution Research, [S. l.], v. 24, n. 4, 2017.

MALAJOVICH, M.A. [www.bteduc.bio.br/guias/58\\_Characterizacao\\_morfologica\\_](http://www.bteduc.bio.br/guias/58_Characterizacao_morfologica_)

Malusá, E., Sas-Paszt, L. and Ciesielska, J. (2012) Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. Sci World J 2012, <https://doi.org/10.1100/2012/491206>

MAPA. Agrofit. 2021. Disponível em:

[https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 03 out. 2023.

MCCARTER, Linda L. **Bacterial acrobatics on a surface: Swirling packs, collisions, and reversals during swarming.** Journal of Bacteriology 2010. (13) ISSN: 00219193. DOI: 10.1128/JB.00434-10.

Meyer, M. C., Bueno, A. D. F., Mazaro, S. M., & Silva, J. C. (2022). Bioinsumos microbianos na cultura da soja. Embrapa Soja: Londrina, Brazil.

MONTEIRO, F. P., *et al.* "Uso de agentes de controle biológico no manejo de fungos de final de ciclo em soja." Revista Brasileira de Fitopatologia, 2020.

Moraes, R. F. (2019). Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória (No. 2506).

MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. Analytical Chemistry Acta, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.

NATARAJ, V., MARANNA, S., KUMAWAT, G., GUPTA, S., RAJPUT, L.S., KUMAR, S. AMAR NATH SHARMA, A. N.; BHATIA, V. S. Genetic inheritance and identification of germplasm sources for anthracnose resistance in soybean [Glycine max(L.) Merr.]. Genetic Resources and Crop Evolution, v.67, p.1449 – 1456.2020.

NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening

phosphorus solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, Malden, v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.

Ogino, C. M., Costa Junior, G., Popova, N. D., and Martines Filho, J. G. (2021). Poder de compra, preço e consumo de fertilizantes minerais: uma análise para o centro-oeste brasileiro. *Rev. Econ. Sociol. Rural* 59:e220367. doi: 10.1590/1806-9479.2021.220367

OLANREWAJU, O. S., GLICK, B. R., & BABALOLA, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 197.

PARNELL, J. J. *et al.* From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. *Frontiers in plant science*, v. 7, p. 1110, 2016.

PÉREZ-GARCÍA, Alejandro; ROMERO, Diego; DE VICENTE, Antonio. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: Biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Current Opinion in Biotechnology*, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 187–193, 2011.

PETERSON, RYAN, A. Finding Optimal Normalizing Transformations via 43 bestNormalize. *The R Journal*, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 310, 2021. ISSN: 2073-4859. 44 DOI: 10.32614/RJ-2021-041. Disponível em: <https://journal.r-project.org/archive/2021/RJ-2021-041/index.html>.

POWDERLY, William G. How Infection Shaped History: Lessons From the Irish Famine. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, [S. l.], v. 130, p. 127–135, 2019. ISSN: 00657778. ISBN: 3144548294.

PRASAD, Mahendra *et al.* Rizobactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (RPCP) para Agricultura Sustentável: Perspectivas e Desafios. In: *RPCP Melhoria na Agricultura Sustentável*. Woodhead Publishing, 2019. p. 129-157.

Ramankutty, N., Mehrabi, Z., Waha, K., Jarvis, L., Kremen, C., Herrero, M., *et al.* (2018). Trends in global agricultural land use: implications for environmental health and food security. *Annu. Rev. Plant Biol.* 69, 789–815. doi: 10.1146/annurev-arplant-042817-040256.

RANI, Lata; THAPA, Komal; KANOJIA, Neha; SHARMA, Neelam; SINGH, Sukhbir; GREWAL, Ajmer Singh; SRIVASTAV, Arun Lal; KAUSHAL, Jyotsna. An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of Cleaner Production*, [S. l.], v. 283, p. 124657, 2021. ISSN: 09596526. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.124657.

REIRA, Carlos M. H.; SOARES, Helena M. V. M.; SOARES, Eduardo V. Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects. *Science of the Total Environment*, [S. l.], v. 682, 2019.

Rempelos, L., Barański, M., Sufar, EK, Gilroy, J., Shotton, P., Leifert, H., ... & Leifert, C. (2023). Efeito das condições climáticas e práticas agronômicas usadas na produção de culturas orgânicas e convencionais sobre os parâmetros de rendimento e composição nutricional em batata, repolho, alface e cebola; resultados dos ensaios NFSC de longo prazo. *Agronomia*, 13 (5), 1225.

REPAR, J., ŠUĆUROVIĆ, S., ZAHRADKA, K., ZAHRADKA, D., & ČURKOVIĆ-PERICA, M. (2013). Stress resistance of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* is modulated by auxins. *Canadian journal of microbiology*, 59(11), 766-770.

Richter, D., de, B., Oh, N. H., Fimmen, R., and Jackson, J. (2007). "The rhizosphere and soil formation," in *The Rhizosphere an Ecological Perspective*, eds Z. G. Cardon and J. L. Whitbeck (Cambridge, MA: Elsevier), 179–200. doi: 10.1016/ B978-012088775-0/50010-0

RISTAINO, Jean B. *et al.* The persistent threat of emerging plant disease pandemics to global food security. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, [S. l.], v. 118, n. 23, p. 1–9, 2021. ISSN: 10916490. DOI: 10.1073/pnas.2022239118.

ROGÉRIO, F.; GLADIEUX, P.; MASSOLA, N. S; CIAMPI-GUILLARDI, M. Multiple introductions without admixture of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. *Phytopathology*, v. 109, n. 4, p. 681–689, 2019.

SAIYAM, Diksha; DUBEY, Anamika; MALLA, Muneer Ahmad; KUMAR, Ashwani.

**Lipopeptides from Bacillus: unveiling biotechnological prospects—sources, properties, and diverse applications.** *Brazilian Journal of Microbiology* Springer Nature, 2024. (1) ISSN: 16784405. DOI: 10.1007/s42770-023-01228-3.

Samada, LH, & Tambunan, USF (2020). Biopesticidas como alternativas promissoras aos pesticidas químicos: Uma revisão de seu status atual e futuro. *Online J. Biol. Sci.*, 20 (2), 66-76.

Samuels, T., Bryce, C., Landenmark, H., Marie-Loudon, C., Nicholson, N., Stevens, A. H., *et al.* (2020). "Microbial weathering of minerals and rocks in natural environments," in *Biogeochemical Cycles: Ecological Drivers and Environmental Impact*, eds K. Dontsova, Z. Balogh-Brunstad, and G. Le Roux (Hoboken, NJ: John Wiley & Sons), 59–79. doi: 10.1002/9781119413332.ch3

SARWAR, M.; KREMER, R. J. Determination of bacterially derived auxins using a microplatemethod. *Letters in Applied Microbiology*, [S. l.], v. 20, n. 5, p. 282–285, 1995.

SAVARY, Serge; FICKE, Andrea; AUBERTOT, Jean-Noël; HOLLIER, Clayton. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Security*, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 519–537, 2012. ISSN: 1876-4517. DOI: 10.1007/s12571-012-0200-5.

Sehar, S. and Naz, I. (2016) Role of the biofilms in wastewater treatment. In *Microbial Biofilms - Importance and Applications* ed. Dhanasekaran, D. pp. 121–144. Rijeka: In Tech.

Sehar, S. and Naz, I. (2016) Role of the biofilms in wastewater treatment. In *Microbial Biofilms - Importance and Applications* ed. Dhanasekaran, D. pp. 121–144. Rijeka: In Tech.

SILVA, M. F. *et al.* "Mancha púrpura da semente e cercosporiose: epidemiologia e manejo." *Fitopatologia Brasileira*, 33(5): 514-519, 2008.

SILVA, Milena Sousa; HARA, Francisco Adilson dos Santos; VIANA, Igor Davi Vasconcelos; MATOS JUNIOR, Wilson Araujo; MÜLLER, Nicolás; SOUZA, Tiago

Way Serrão De; COSTA, Tiago Vinícius das Chagas; MOURÃO, Maria Julia Pereira da Silva. Avaliação da capacidade de produção de ácido indolacético (AIA) por isolados de rizóbios provenientes do Banco de Germoplasma da FCA/UFAM.

**Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. e69913, 2024. DOI: 10.34117/bjdv10n5-057.

Singh, A. and Chauhan, P.S. (2017) Ecological significance of soil-associated plant growth–promoting biofilm-forming microbes for stress management. In *Biofilms in Plant and Soil Health* ed. Ahmad, I. and Husain, F.M. pp. 291-326. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.

SMITH, D. L., GRAVEL, V., AND YERGEAU, E. (2017). Editorial: signaling in the phytomicrobiome. *Front. Plant Sci.* 8:611.

SMITH, D. L., PRASLICKOVA, D., AND ILANGUMARAN, G. (2015). Inter-organismal signaling and management of the phytomicrobiome. *Front. Plant Sci.* 6:722.

SOUZA, R. T. Reação de cultivares e controle da antracnose em soja. 2009. 106p. Tese (Doutorado em Agronomia) -Universidade de Passo Fundo, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo, 2009.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism- plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, v.31, n.4, p.425-448.

Steffen, G. P. K., Maldaner, J., Missio, E. L., & Steffen, R. B. (2018). Trichoderma controla fitonematóides e aumenta produtividade da soja, *Campos & Negócios*.

Teixeira, C.P. *et al.* (2010). "Controle Biológico de Patógenos no Brasil". *Ciência Rural*, vol. 40, no. 9, pp. 2017-2024.

Teixeira, C.P. *et al.* (2010). "Controle Biológico de Patógenos no Brasil". *Ciência Rural*, vol. 40, no. 9, pp. 2017-2024

TEIXEIRA, Gustavo Manoel *et al.* Genomic Insights Into the Antifungal Activity and Plant Growth-Promoting Ability in *Bacillus velezensis* CMRP 4490. *Frontiers in Microbiology*, [S. l.], v. 11, n. January, 2021. ISSN: 1664302X. DOI: 10.3389/fmicb.2020.618415.

- TIMMUSK S, BEHERS L, MUTHONI J, MURAYA A, ARONSSON A-C. 2017. Perspectives and Challenges of Microbial Application for Crop Improvement. *Front Plant Sci* 8.
- TRANSPARENCY MARKET RESEARCH. Global Biofertilizers Market: Overview. Disponível em: <https://www.transparencymarketresearch.com/biofertilizers-market.html>. Acesso em: 10 de julho de 2024.
- VACHERON J, DESBROSSES G, BOUFFAUD M-L, TOURAINE B, MOËNNE-LOCCOZ Y, MULLER D, LEGENDRE L, WISNIEWSKI-DYÉ F, PRIGENT-COMBARET C. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front Plant Sci* 4:356.
- Van Straaten, P. (2006). Farming with rocks and minerals: challenges and opportunities. *An. Acad. Bras. Cienc.* 78, 731–747. doi: 10.1590/S0001-37652006000400009
- Velmourougane, K., Prasanna, R. and Saxena, A.K. (2017) Agriculturally important microbial biofilms: present status and future prospects. *J Basic Microbiol* 57, 548–573.
- VENIERAKI, A.; TSALGATIDOU, P. Ch; GEORGAKOPOULOS, D. G.; DIMOU, M.; KATINAKIS, P. **Swarming motility in plant-associated bacteria. Hellenic Plant Protection Journal** Benaki Phytopathological Institute, 2016. (1) ISSN: 17913691. DOI: 10.1515/hppj-2016-0002.
- Vermeulen, S. J., Campbell, B. M., and Ingram, J. S. I. (2012). Climate change and food systems. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 37, 195–222. doi: 10.1146/annurevenviron-020411-130608
- VERSTRAETEN, Natalie; BRAEKEN, Kristien; DEBKUMARI, Bachaspatimayum; FAUVART, Maarten; FRANSAER, Jan; VERMANT, Jan; MICHIELS, Jan. **Living on a surface: swarming and biofilm formation. Trends in Microbiology** 2008. (10) ISSN: 0966842X. DOI: 10.1016/j.tim.2008.07.004.
- VESSEY, J, K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255:571–586. WANG, H; INUKAI, Y; YAMAUCHI, A. (2006). Root Development and Nutrient Uptake, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25:3, 279-301.

Vidal, M. C., Saldanha, R., & Verissimo, M. A. A. (2020). Bioinsumos microbianos: o programa nacional e a sua relação com a produção sustentável. Sanidade vegetal: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável./Organizadores Diego Medeiros Gindri, Patrícia Almeida Barroso Moreira, Mario Alvaro Aloisio Verissimo.–1. ed. Florianópolis: CIDASC, 382-409.

VILLARREAL-DELGADO, María Fernanda et al . El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. **Rev. mex. fitopatol**, Texcoco , v. 36, n. 1, p. 95-130, abr. 2018 .

Vives-Peris, V., de Ollas, C., Gómez-Cadenas, A., and Pérez-Clemente, R. M. (2020). Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. *Plant Cell Rep.* 39, 3–17. doi: 10.1007/s00299-019-02447-5

WAGI, SHABANA; AHMED, AMBREEN. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA. *PeerJ*, v.7, p. e7258, 2019.

WEKESA, C.S.; FURCH, A. C. U.; OELMÜLLER, R. Isolation and characterization of high-efficiency rhizobia from western kenya nodulating with common bean. *Frontiers in Microbiology*, v.12, p. 1- 13, 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.697567>.

YORINORI, J. T. *et al.* "Doenças da soja e seu controle." *Embrapa Soja*, Documentos 233, 2004.

Zaharescu, D. G., Burghelea, C. I., Dontsova, K., Reinhard, C. T., Chorover, J., and Lybrand, R. (2020). "Biological weathering in the terrestrial system," in *Encyclopedia of Earth Sciences Series*, eds K. Dontsova, Z. Balogh-Brunstad, and G. Le Roux (Washington, DC: American Geophysical Union), 1–32. doi: 10.1002/9781119413332.ch1

## 9 ANEXOS

### ANEXO A – Identificação e filogenia utilizando o genoma completo

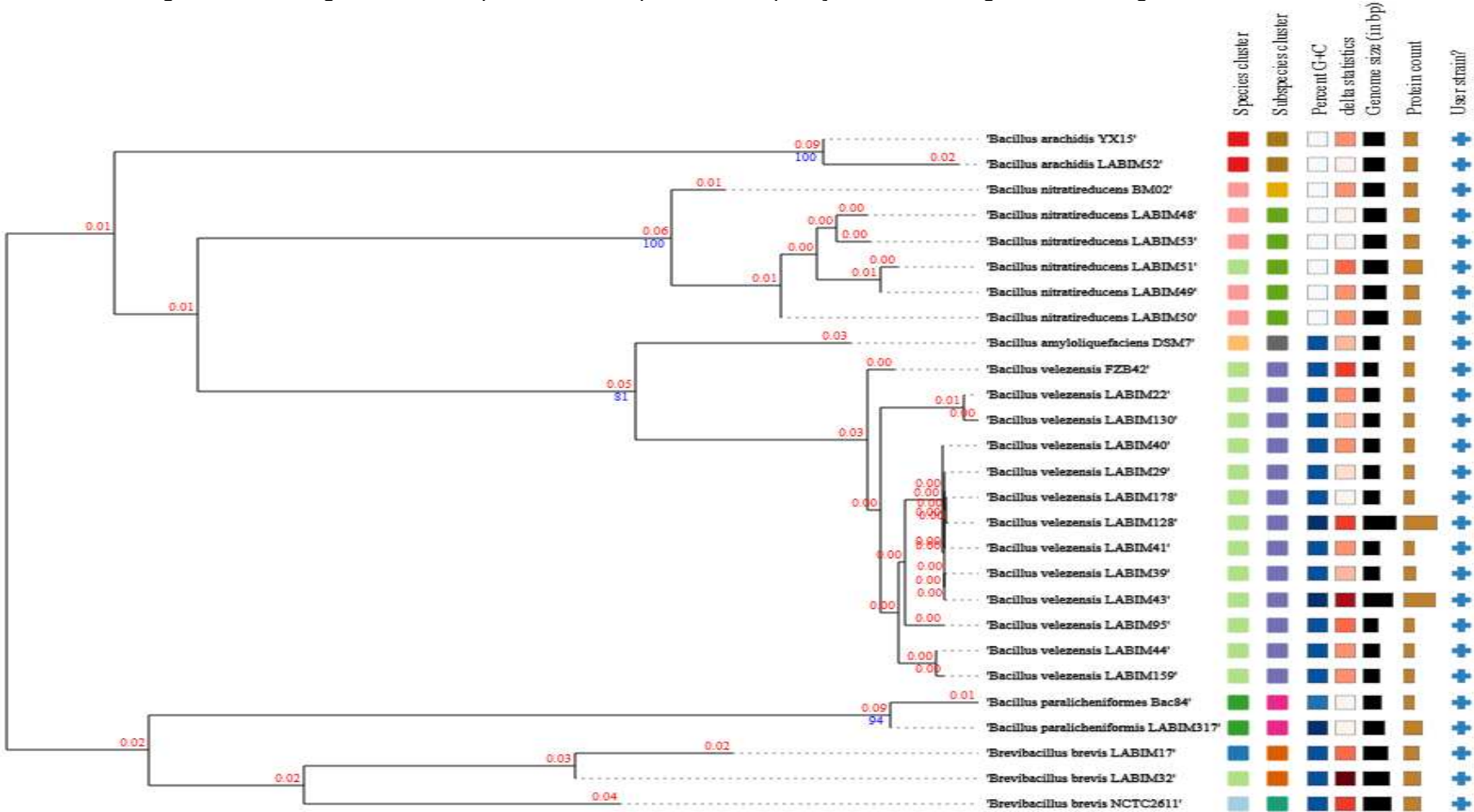
Foram utilizadas as análises computacionais comparativas OrthoANI para a identidade média dos nucleotídeos entre os isolados e outros genomas obtidos no GenBank e dDDH para estimar a porcentagem de sequências genômicas altamente semelhantes. Os estirpes L17, L22 e L40 foram identificados em trabalhos anteriores por DE MEDEIROS CHAGAS et al., 2022, TEIXEIRA, GUSTAVO MANOEL; 2022 e PEZARINI BAPTISTA et al., 2018, respectivamente.

Tabela 7 - Valores de OrthoANI e dDDH da comparação entre as estirpes e as linhagens referência do GenBank

| Isolados | Identificação de espécie          | Referência utilizada                 | OrthoANI | dDDH   |
|----------|-----------------------------------|--------------------------------------|----------|--------|
| L17      | <i>Brevibacillus brevis</i>       | <i>Brevibacillus brevis</i> NCTC2611 | 92.85%   | 71%    |
| L22      | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.07%   | 94%    |
| L29      | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.74%   | 96,30% |
| L32      | <i>Brevibacillus brevis</i>       | <i>Brevibacillus brevis</i> NCTC2611 | 92.78%   | 69%    |
| L39      | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.73%   | 93.3%  |
| L40      | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.72%   | 96,60% |
| L41      | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.71%   | 96,70% |
| L43      | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.73%   | 90,90% |
| L44      | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.74%   | 95,60% |
| L48      | <i>Bacillus nitratireducens</i>   | <i>B. nitratireducens</i> BM02       | 97.55%   | 84,10% |
| L49      | <i>Bacillus nitratireducens</i>   | <i>B. nitratireducens</i> BM02       | 97.39%   | 83,20% |
| L50      | <i>Bacillus nitratireducens</i>   | <i>B. nitratireducens</i> BM02       | 97.49%   | 82,80% |
| L51      | <i>Bacillus nitratireducens</i>   | <i>B. nitratireducens</i> BM02       | 97.40%   | 78,80% |
| L52      | <i>Bacillus arachidis</i>         | <i>B. arachidis</i> YX15             | 98.30%   | 89,90% |
| L53      | <i>Bacillus nitratireducens</i>   | <i>B. nitratireducens</i> BM02       | 97.48%   | 85,30% |
| L95      | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.74%   | 97,10% |
| L128     | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.72%   | 90,80% |
| L130     | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.04%   | 92,60% |
| L159     | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.73%   | 95,70% |
| L178     | <i>Bacillus velezensis</i>        | <i>B. velezensis</i> FZB42           | 98.73%   | 95,90% |
| L317     | <i>Bacillus paralicheniformis</i> | <i>B. paralicheniformes</i> Bac84    | 99.26%   | 87,20% |

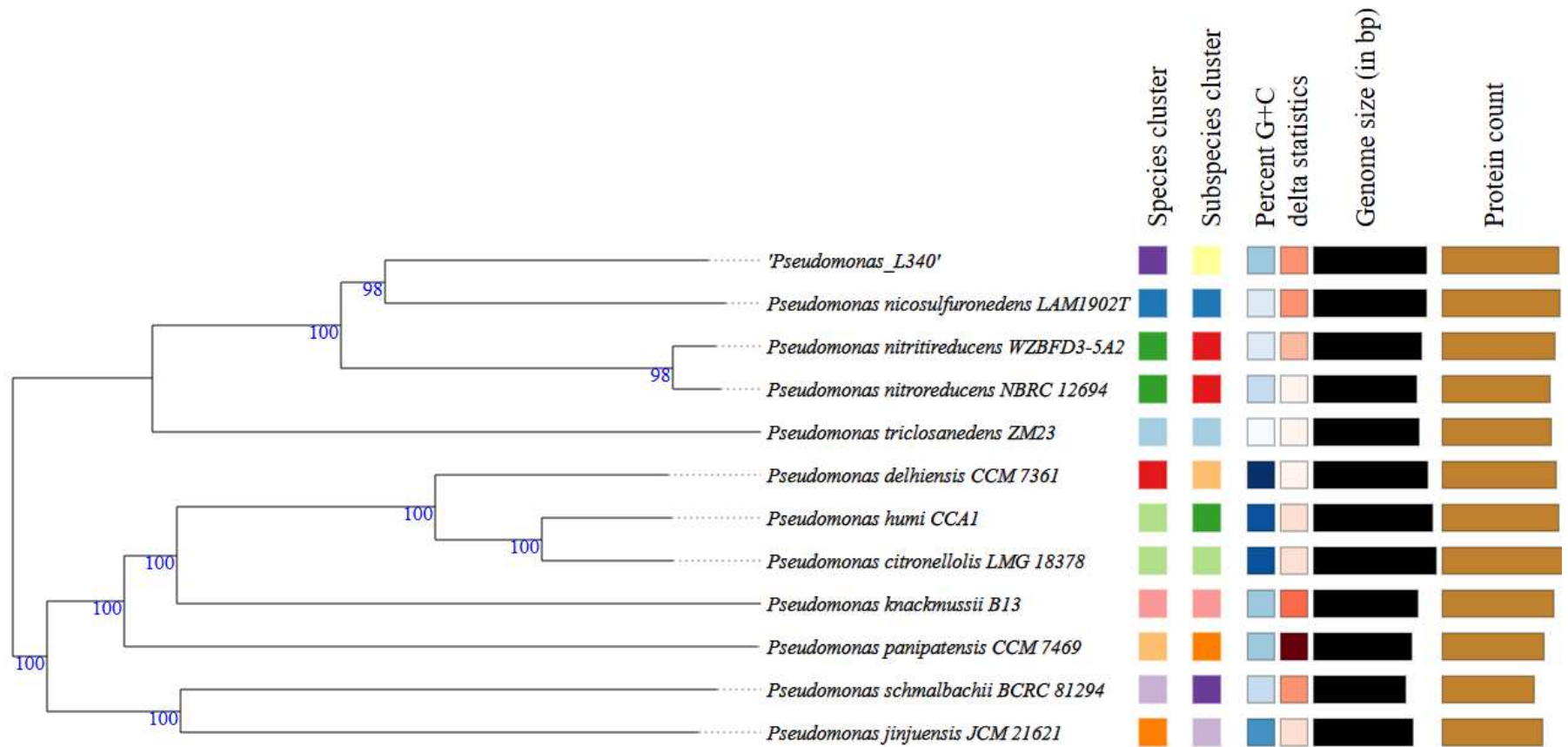
Fonte: O autor. Valores de OrthoANI superiores a 95% e dDDH superiores a 70% sugerem que duas linhagens sejam de uma mesma espécie.

Figura 9 - Dendrograma das estirpes montada a partir da comparação com outros genomas de organismos modelo.



## ANEXO B – Árvore filogenética do estirpe L340.

Figura 10 - Árvore filogenética do isolado L340 montada a partir da comparação com outros genomas de organismos modelo



## ANEXO C - Identificação e filogenia utilizando o gene 16S

Tabela 8 - Matriz de Distâncias Evolutivas FASTME entre Sequências 16S rRNA

| Amostra | Identificação                             | S1   | S2   | S3   | S4   | S5   | S6   | S7   | S8   |
|---------|---|------|------|------|------|------|------|------|------|
| S1      | LABIM46                                   | 0    | 0.13 | 0.05 | 0.13 | 0.12 | 0.1  | 0.1  | 0.13 |
| S2      | LABIM47                                   | 0.13 | 0    | 0.13 | 0.06 | 0.05 | 0.02 | 0.03 | 0.14 |
| S3      | <i>Bacillus mycoides</i><br>DSM11821      | 0.05 | 0.13 | 0    | 0.13 | 0.11 | 0.1  | 0.1  | 0.09 |
| S4      | <i>Priestia megaterium</i> RS5            | 0.13 | 0.06 | 0.13 | 0    | 0.06 | 0.04 | 0.04 | 0.14 |
| S5      | <i>Bacillus zanthoxyli</i><br>HBPT67      | 0.12 | 0.05 | 0.11 | 0.06 | 0    | 0.03 | 0.03 | 0.12 |
| S6      | <i>Bacillus sp. firmicutes</i><br>TA1_217 | 0.1  | 0.02 | 0.1  | 0.04 | 0.03 | 0    | 0.03 | 0.11 |
| S7      | <i>Priestia aryabhatai</i> TC1_29         | 0.1  | 0.03 | 0.1  | 0.04 | 0.03 | 0.03 | 0    | 0.11 |
| S8      | <i>Bacillus velezensis</i> FZB42          | 0.13 | 0.14 | 0.09 | 0.14 | 0.12 | 0.11 | 0.11 | 0    |

As amostras LABIM46 (S1) e LABIM47 (S2) apresentam relações filogenéticas distintas dentro do filo *Firmicutes*. LABIM47 é geneticamente mais próxima de *Bacillus sp. firmicutes* TA1\_217 (S6) (0,02), sugerindo forte afinidade com esse gênero, além de proximidade moderada com *Bacillus zanthoxyli* (S5) e *Priestia megaterium* (S4). Em contrapartida, LABIM46 tem maior similaridade com *Bacillus mycoides* DSM11821 (S3) – 0,05, indicando uma relação evolutiva mais próxima com essa espécie.

Apesar de fazerem parte do mesmo estudo, LABIM46 e LABIM47 possuem entre si uma distância genética de 0,13, sugerindo que pertencem a agrupamentos evolutivos distintos. A árvore filogenética reforça essa diferenciação, posicionando LABIM47 junto a *Bacillus sp.* e LABIM46 mais próxima de *Bacillus mycoides*, evidenciando a diversidade

genética entre essas amostras.

Figura 11 - Árvore filogenética de genes 16s rRNA baseada em Distâncias Evolutivas FASTME

