



ELÍDIO AUGUSTO PINTO

**CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS DE *BACILLUS*
THURINGIENSIS E SEUS EFEITOS NA PROMOÇÃO DO
CRESCIMENTO DE TOMATEIRO (*SOLANUM*
LYCOPERSICUM CV. MICRO-TOM).**

**LAVRAS – MG
2025**

ELÍDIO AUGUSTO PINTO

**CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS DE *BACILLUS THURINGIENSIS* E SEUS
EFEITOS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE TOMATEIRO (*SOLANUM
LYCOPERSICUM* MICRO-TOM)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal área de concentração em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof^a. Dra. Kalynka Gabriella do Livramento
Orientadora

**LAVRAS – MG
2025**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pinto, Elídio Augusto .

Caracterização de Cepas de *Bacillus thuringiensis* e seus efeitos na promoção do crescimento de tomateiro (*Solanum lycopersicum* Micro-tom) / Elídio Augusto Pinto. - 2025.

64 p. : il.

Orientadora: Kalynka Gabriella do Livramento

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.
Bibliografia.

1. *Bacillus thuringiensis*. 2. Agricultura sustentável . 3. Promoção de crescimento.
I. Livramento, Kalynka Gabriella do. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

ELÍDIO AUGUSTO PINTO

CHARACTERIZATION OF *BACILLUS THURINGIENSIS* STRAINS AND THEIR EFFECTS ON THE GROWTH PROMOTION OF TOMATO PLANTS (*SOLANUM LYCOPERSICUM* MICRO-TOM)

CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS DE *BACILLUS THURINGIENSIS* E SEUS EFEITOS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE TOMATEIRO (*SOLANUM LYCOPERSICUM* MICRO-TOM)

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal área de concentração em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 27 de fevereiro de 2025
Dra. Kalynka Gabriella do Livramento, UFLA
Dr. Luciano Vilela Paiva, UFLA
Dr. Renan Terassi Pinto, Agrocere Binova

Prof^a. Dra. Kalynka Gabriella do Livramento
Orientadora

**LAVRAS – MG
2025**

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, à minha mãe, Mônica Pararai Elias, e à minha esposa, Lucinda Luis Weta, por estarem sempre presentes, apoiando-me nos meus sonhos e me dando forças.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço à Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal pela oportunidade de complementar minha formação acadêmica por meio do mestrado. A minha orientadora, Kalyinka, expressei minha profunda gratidão pelo ensinamento, paciência e dedicação, que foram essenciais para minha evolução acadêmica e para a realização deste projeto.

Obrigado, Giovanna, por sua paciência e dedicação na execução deste projeto. Este trabalho é fruto do seu esforço e das suas energias positivas, sempre reafirmando que tudo daria certo.

Não foi fácil, mas Deus me guiou até pessoas maravilhosas que sempre estiveram ao meu lado para me apoiar. Sou imensamente grato à equipe do LCBM: Ana, Giovanna, Caroline, Heliete, professor Luciano, Tácia, Samanta, Paloma, Alisson, Suamith, Marlucia, e, em especial, Fabrício e Ricardo, que se empenharam na busca por reagentes e na execução dos experimentos. Aprendi muito com essa equipe, e os ensinamentos adquiridos certamente me acompanharão ao longo da vida.

Agradeço também ao Pastor Alexandre, ao Pastor Jeferson e ao Apóstolo Manuel, cujas orações fortaleceram meu espírito e foram fundamentais para o meu crescimento espiritual.

Aos meus amigos Jorge, José Dique, Acides, Massunguire, Severino, a Jacieli, a Marli, a Rose de Oliveira e outros, sou grato por estarem sempre ao meu lado, compartilhando ideias, conselhos e me dando forças para continuar.

Por fim, agradeço a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a construção deste trabalho.

RESUMO

Com o aumento populacional e a crescente preocupação ambiental, as práticas de agricultura sustentável têm se tornado cada vez mais relevantes. Este estudo avaliou o potencial de 13 cepas de *Bacillus thuringiensis* (Bt), oriundas do Laboratório Central de Biologia Molecular (LCBM) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), na promoção do crescimento vegetal por meio da produção de ácido indolacético (AIA), priming de sementes e atividades enzimáticas. Foram analisadas a capacidade de síntese de AIA, o efeito sobre a germinação de sementes de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom e a atividade enzimática (proteolítica, amilolítica, celulolítica, lipolítica e solubilização de fosfato). A produção de AIA foi determinada por colorimetria; o priming foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições; e as atividades enzimáticas foram avaliadas por meio da formação de halos em meios seletivos. A análise estatística incluiu ANOVA e comparação de médias pelos testes de Scott-Knott e Tukey ($p \leq 0,05$). Os resultados mostraram que algumas cepas apresentaram elevada produção de AIA, promoveram a germinação das sementes e expressaram atividades enzimáticas distintas, com destaque para a atividade proteolítica. Esses dados indicam que determinadas cepas de Bt possuem potencial como bioestimulantes agrícolas sustentáveis.

Palavras-chave: Agricultura Sustentável, *Bacillus thuringiensis*, ácido indolacético, priming de sementes, atividade enzimática, bioestimulantes agrícolas.

ABSTRACT

With population growth and increasing environmental concerns, sustainable agricultural practices have become increasingly relevant. This study evaluated the potential of 13 strains of *Bacillus thuringiensis* (Bt), obtained from the Central Laboratory of Molecular Biology (LCBM) at the Federal University of Lavras (UFLA), in promoting plant growth through the production of indole-3-acetic acid (IAA), seed priming, and enzymatic activities. The analysis focused on the strains' ability to synthesize IAA, their effect on the germination of *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom seeds, and their enzymatic activities (proteolytic, amylolytic, cellulolytic, lipolytic, and phosphate solubilization). IAA production was determined by colorimetry; seed priming was conducted in a completely randomized design with three replicates; and enzymatic activities were assessed by halo formation on selective media. Statistical analysis included ANOVA and mean comparisons using Scott-Knott and Tukey tests ($p \leq 0.05$). The results showed that some Bt strains produced high levels of IAA, promoted seed germination, and expressed distinct enzymatic activities, with emphasis on proteolytic activity. These findings suggest that certain Bt strains have potential as sustainable agricultural biostimulants.

Keywords: Sustainable agriculture, *Bacillus thuringiensis*, indole-3-acetic acid, seed priming, enzymatic activity, agricultural biostimulants.

INDICADOR DE IMPACTO

A pesquisa sobre a caracterização de cepas de *Bacillus thuringiensis* e seus efeitos na promoção do crescimento do tomateiro (*Solanum lycopersicum* Micro-tom) apresenta um impacto abrangente em diversas áreas. As cepas bacterianas estudadas no Laboratório Central de Biologia Molecular (LCBM) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) possuem grande potencial para contribuir com avanços científicos e aplicados. No aspecto social, essa pesquisa pode ajudar a garantir a segurança alimentar ao promover o aumento da produtividade agrícola de maneira sustentável, possibilitando o cultivo de plantas mais resilientes e adaptáveis a diferentes condições ambientais, incluindo situações de estresse hídrico e nutricional. Além disso, estimula a aceitação da biotecnologia na agricultura, incentivando práticas agrícolas inovadoras e ambientalmente responsáveis entre os agricultores. O uso desses microrganismos benéficos como bioestimulantes pode reduzir significativamente os custos com fertilizantes e defensivos químicos, tornando a produção agrícola mais acessível e economicamente viável, especialmente para pequenos e médios produtores. Sob a ótica da sustentabilidade e do meio ambiente, contribuindo para a redução da contaminação do solo e da água, além de favorecer a biodiversidade do ecossistema agrícola. Além disso, fortalece a pesquisa científica aplicada à agricultura, incentivando avanços na biotecnologia e na microbiologia agrícola. Dessa forma, o estudo tem o potencial de gerar impactos positivos de longo prazo, contribuindo para a segurança alimentar, o desenvolvimento sustentável e a inovação tecnológica na agricultura moderna.

IMPACT INDICATORS

The research on the characterization of *Bacillus thuringiensis* strains and their effects on promoting the growth of tomato plants (*Solanum lycopersicum* Micro-Tom) presents a broad impact across various areas. The bacterial strains studied at the Central Laboratory of Molecular Biology (LCBM) of the Federal University of Lavras (UFLA) have great potential to contribute to both scientific and applied advancements. From a social perspective, this research can help ensure food security by promoting increased agricultural productivity in a sustainable manner, enabling the cultivation of more resilient and adaptable plants under different environmental conditions, including water and nutrient stress. Furthermore, it encourages the acceptance of biotechnology in agriculture by promoting innovative and environmentally responsible farming practices among producers. The use of these beneficial microorganisms as biostimulants can significantly reduce costs associated with chemical fertilizers and pesticides, making agricultural production more accessible and economically feasible, especially for small and medium-sized farmers. In terms of sustainability and the environment, this approach contributes to reducing soil and water contamination while supporting biodiversity within agricultural ecosystems. Additionally, it strengthens applied scientific research in agriculture, fostering progress in biotechnology and agricultural microbiology. Thus, this study holds the potential to generate long-term positive impacts, contributing to food security, sustainable development, and technological innovation in modern agriculture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mudanças bioquímicas interligadas, estimuladas pelo priming da semente.....	22
Figura 2 – Eventos que ocorrem durante o priming de sementes.....	23
Figura 3 – Curva Padrão de Concentração vs. Absorbância para AIA	25
Figura 4 – Procedimentos usados na promoção da germinação de sementes de tomateiro ...	29
Figura 5 – Detecção qualitativa da produção de ácido indolacético (IAA)	32
Figura 6 – Concentração de ácido indolacético (AIA) produzido pelas cepas.....	32
Figura 7 – Avaliação da atividade de Priming de sementes	33
Figura 8 – Representação do halo incolor observado no teste enzimático, evidenciando a atividade enzimática.	34
Figura 9 – Atividade Enzimática Amilolítica.....	35
Figura 10 – Atividade Enzimática celulolítico.....	35
Figura 11 – Atividade enzimática lipolitica.	36
Figura 12 – Atividade Enzimática Esterase.....	36
Figura 13 – Atividade enzimática esterase	37
Figura 14 – Solubilização de Fosfato Inorgânico.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de diferentes concentrações de 10^8 UFC/mL de cepas Bt..... 31

Tabela 2 – Representação dos dados sobre a atividade enzimática proteolítica 34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	Agricultura Sustentável para a Segurança Alimentar.....	14
2.1.1	Microrganismos na Sustentabilidade Agrícola.....	15
2.2	O <i>Bacillus thuringiensis</i> e Seu Potencial Agrícola.....	16
2.2.1	Características gerais do gênero <i>Bacillus</i>	16
2.2.2	Potencial biotecnológico <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt) na Agricultura Sustentável.....	17
2.3	Priming e Seus Efeitos no Crescimento Vegetal.....	19
2.3.1	Conceito de priming de sementes e indução de resistência sistêmica.....	19
2.3.2	Mecanismos de Ação de Priming em Plantas.....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1	Sementes de tomateiro.....	24
3.2	Cepas bacterianas e Preparação de inóculo.....	24
3.3	Produção de AIA.....	25
3.4	Atividade de cepas Bt na promoção da germinação de sementes de tomateiro.....	26
3.5	Atividade enzimática dos Bts.....	26
3.6	Análise Estatística.....	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1	Resultados.....	31
4.1.1	Preparação de inóculo.....	31
4.1.2	Produção de AIA.....	31
4.1.3	Atividade de cepas Bt no priming de sementes de tomateiro.....	33
4.1.4	Atividade enzimática dos Bts.....	34
4.2	Discussão.....	38
4.2.1	Produção de AIA.....	38
4.2.2	Atividade de cepas Bt no priming de sementes de tomateiro.....	39
4.2.3	Atividade enzimática dos Bts.....	42
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
6	CONCLUSÃO.....	47
7	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	48
	APÊNDICES.....	61

1. INTRODUÇÃO

A busca por alternativas sustentáveis para aumentar a produtividade agrícola tem se intensificado devido aos desafios pelas mudanças climáticas e à necessidade de reduzir a dependência de fertilizantes e defensivos químicos. Nesse contexto, microrganismos promotores de crescimento vegetal têm sido amplamente estudados como soluções promissórias para estimular o desenvolvimento das plantas por meio de diversos mecanismos, incluindo a produção de fitormônios, solubilização de nutrientes e atividade enzimática (Paul et al., 2022; Raj & Raj, 2019).

As práticas agrícolas geralmente dependem de fertilizantes e pesticidas sintéticos que podem ter efeitos adversos sobre humanos, animais e o meio ambiente (Leibman-Markus et al., 2023). Para minimizar esses impactos, cientistas estão engajados em encontrar alternativas para a produção agrícola que sejam menos dependentes de insumos químicos (Jannat et al., 2024).

Representantes do gênero *Bacillus* foram reconhecidos como microrganismos de importância agrícola, atuando como potentes agentes de biocontrole e rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (Habibi et al., 2023; Jannat et al., 2024; Miljaković et al., 2024). Essas rizobactérias promovem o crescimento de forma direta ou indireta por meio de diversos mecanismos de ação, incluindo fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, biossíntese de fitormônios, produção de antibióticos, enzimas hidrolíticas e sideróforos, além da indução de resistência sistêmica em plantas (Hernández-Huerta et al., 2023; Matos et al., 2017; Peterson et al., 2023; Yamamoto, 2022).

O *Bacillus thuringiensis* (Bt), tem sido investigado não apenas pelo seu potencial biocontrolador, mas também pelo seu papel como promotor do crescimento vegetal, pois algumas cepas de Bt são capazes de produzir ácido indolacético (AIA), um dos principais fitormônios envolvidos na regulação do crescimento das plantas, promovendo o alongamento celular e o desenvolvimento radicular (Azizoglu et al., 2023; Ganesh et al., 2024; X. Li et al., 2024; Wagi & Ahmed, 2019). Além disso, a aplicação de Bt pode influenciar a germinação das sementes através do processo de priming, melhorando a tolerância das plantas aos estresses abióticos e bióticos (Devika et al., 2021; Habibi et al., 2023; Miladinov et al., 2020).

Outro fator determinante na ação de microrganismos promotores de crescimento é a atividade enzimática, que pode contribuir para a manipulação de polímeros orgânicos e a disponibilização de nutrientes essenciais às plantas (Jannat et al., 2024). As atividades proteolítica, amilolítica, celulolítica, lipolítica e esterase têm sido utilizadas como indicadores

da capacidade dos microrganismos de interagir com a rizosfera e promover benefícios ao crescimento vegetal (Buzo et al., 2023; STAMFORD et al., 1999; Wang et al., 2021). No entanto, a variabilidade na expressão dessas atividades entre diferentes cepas destaca a necessidade de investigações mais planejadas sobre o papel específico de Bt nesses processos.

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) é uma cultura alimentar de grande relevância econômica, que tem sido utilizada como modelo dicotiledôneo ideal para investigações de diversos fenômenos fisiológicos (Carvalho et al., 2011).

Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial de diferentes cepas de *Bacillus thuringiensis* do LCBM na promoção do crescimento vegetal, analisando sua capacidade de produção do AIA, melhorar a germinação de sementes do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) via priming e expressar atividades enzimáticas relacionadas à solubilização de nutrientes e manipulação de compostos orgânicos. Os resultados obtidos poderão contribuir para o desenvolvimento de bioinsumos mais eficientes, favorecendo práticas agrícolas sustentáveis e reduzindo a necessidade de insumos químicos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Agricultura Sustentável para a Segurança Alimentar

O número da população humana no mundo tende a crescer, e deve atingir dois terços da população global até 2030 (Gunapala et al., 2025; Chandio et al., 2024) o que tem sido um grande desafio para garantir a segurança alimentar, visto que os nutrientes e a fertilidade do solo são limitados e diminuem com o tempo (Fasusi et al., 2021).

Após a Segunda Guerra Mundial, a agricultura passou por muitas transformações, com um aumento significativo da produção agrícola devido a novas tecnologias, mecanização, uso intensivo de produtos químicos e políticas governamentais voltadas para a maximização da produtividade (Dubey, 2025; N. F. Khan & Rehman, 2022; E. Gordon et al., 2023; Matteini et al., 2025).

O uso de maquinário pesado, produtos químicos e cultivo intensivo impactou drasticamente o ecossistema, aumentando os níveis de dióxido de carbono, intensificando o efeito estufa e ameaçando a estabilidade climática global (Munonye & Eze, 2022; Sahoo et al., 2025) e como consequências surge o esgotamento do solo superficial, a poluição das águas subterrâneas, o colapso de fazendas familiares e o desrespeito persistente às condições de vida e trabalho (N. F. Khan & Rehman, 2021), a quebra da safra e a insegurança alimentar induzida pelo clima podem empurrar as comunidades vulneráveis para a pobreza extrema (Udayanga et al., 2024).

Segundo S. Kumar & Sindhu (2024),

[...] há uma necessidade urgente de tecnologias modernas, econômicas e ecologicamente corretas para induzir tolerância à seca em plantas cultivadas, levando a práticas agrícolas sustentáveis adaptadas ao clima para a produção sustentada de alimentos.

A intensificação sustentável da agricultura é aquela capaz de aumentar o rendimento agrícola, ao mesmo tempo em que reduz seu impacto ambiental e assegura a saúde dos ecossistemas de apoio (Teixeira, 2022).

A agricultura sustentável é uma abordagem de gestão de recursos que visa sustentar a produção e a eficiência agrícola ao longo do tempo, ao mesmo tempo em que garante a segurança alimentar, a conservação ambiental e o desenvolvimento social em áreas rurais (Asiyat et al., 2024).

As técnicas de cultivo sustentáveis são ideais para todos os domínios e produzem vários tipos de combustíveis, alimentos e fibras, e eles utilizam as mais recentes práticas científicas para aumentar a produtividade e diminuir a degradação ambiental (Pooniyan et al., 2023).

As práticas agrícolas sustentáveis são essenciais para atender à demanda de alimentos da população em constante crescimento, minimizando o impacto no meio ambiente e evitar o esgotamento dos recursos naturais e garantir o equilíbrio dos ecossistemas (Kumar & Sindhu, 2024; Munonye & Eze, 2022).

2.1.1 Microrganismos na Sustentabilidade Agrícola

A agricultura moderna tem sido marcada pela introdução de novas culturas de alto rendimento, geneticamente melhoradas, e pelo uso intensivo de tecnologias como fertilizantes químicos, herbicidas e pesticidas sintéticos. No entanto, esses avanços vêm acompanhados de altos custos produtivos e impactos ambientais significativos, tornando esse modelo insustentável a longo prazo (Clagnan et al., 2024).

A crescente demanda por alimentos saudáveis e seguros, reforça a necessidade de desenvolver sistemas agrícolas sustentáveis (Thepbandit e Athinuwat, 2024). Nesse contexto, os microrganismos desempenham um papel fundamental, sendo capazes de aumentar a biodisponibilidade de micronutrientes essenciais para as plantas, contribuindo para a redução da deficiência nutricional (Maitra et al., 2022), interação com diversas plantas cultivadas, promovendo seu desenvolvimento e conferindo resistência contra patógenos (de Andrade et al., 2023). Além disso, são uma fonte primária de enzimas hidrolíticas, como proteases e lipases, superando plantas e animais na produção dessas biomoléculas. Entre as enzimas mais relevantes destacam-se as carboidratases, incluindo amilases e celulasas, amplamente empregadas na degradação de compostos orgânicos (Arbige et al., 2019).

Além de sua importância para o crescimento vegetal, quando combinados, exercem funções essenciais na biodegradação de contaminantes, manutenção da estrutura do solo, regulação dos ciclos de nutrientes e adaptação das plantas a estresses bióticos e abióticos (Clagnan et al., 2024; Vocciante et al., 2022; Maitra et al., 2022).

O uso excessivo de produtos químicos pode ameaçar a viabilidade dos microrganismos, deste modo para minimizar esses impactos negativos, estratégias alternativas, como a aplicação de insumos de origem orgânica e microbiana, tornam-se essenciais para garantir a sustentabilidade agrícola e a segurança ambiental (Maitra et al., 2022).

O impacto dos microrganismos pode ser direto, por meio da mobilização de nutrientes pouco disponíveis no solo, como fosfatos recalcitrantes, da fixação biológica de nitrogênio e da produção de compostos bioativos, como fitohormônios (auxinas, citocininas e giberelinas). Além disso, enzimas microbianas, como a 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminase, ajudam a modular a produção hormonal das plantas, reduzindo os efeitos do estresse e promovendo o crescimento vegetal (Clagnan et al., 2024; A. R. Khan et al., 2022; Vocciante et al., 2022).

Diante desse cenário, torna-se essencial a seleção criteriosa de microrganismos promissores, aliada ao desenvolvimento de formulações eficientes para sua aplicação na agricultura. O uso de abordagens biotecnológicas pode potencializar os benefícios dos microrganismos, otimizando sua capacidade de adaptação e desempenho no campo (Compant et al., 2019).

2.2 O *Bacillus thuringiensis* e Seu Potencial Agrícola

2.2.1 Características gerais do gênero *Bacillus*

As cepas de *Bacillus* spp. são bactérias Gram-positivas produtoras de esporos com um longo histórico de pesquisa (Liu et al., 2023). A maioria das espécies do gênero *Bacillus* são aeróbias ou anaeróbias facultativas, e apenas algumas são estritamente anaeróbias, com exceção de algumas espécies, como *Bacillus anthracis* e *Bacillus cereus*, a maioria dos *Bacillus* spp. não são patogênicos para humanos e outros animais, sendo geralmente considerados seguros para uso no meio ambiente (Liu et al., 2023). Essas bactérias podem produzir metabólitos secundários notáveis e úteis, sendo encontradas em diversos ambientes, como água, solo, vegetação e no trato gastrointestinal de insetos e mamíferos (A. R. Khan et al., 2022; Nicholson, 2002).

Segundo Vojnovic et al. (2024),

[...] embora bactérias Gram-positivas como *Bacillus* e *Streptomyces* spp. sejam amplamente utilizadas na produção de enzimas industrialmente relevantes, há um grande potencial para expandir seu papel na biotecnologia, elas secretam múltiplas enzimas hidrolíticas, permitindo a degradação de substratos orgânicos complexos, o que favorece sua sobrevivência em ambientes hostis.

Os membros do gênero *Bacillus* têm uma distribuição global devido à capacidade de seus esporos de resistirem a radiação UV, calor, dessecação, radiação ionizante e produtos químicos tóxicos (Khan et al., 2022; Tsotetsi et al., 2022; Wagi e Ahmed, 2019) e desempenham

um papel fundamental na promoção do crescimento vegetal e na proteção contra microrganismos fitopatogênicos (Lu et al., 2021).

Numerosos estudos demonstram que *Bacillus* pode contribuir para o controle de doenças, tolerância ao estresse, absorção de nutrientes e aumento da produtividade vegetal e o seu uso tem sido amplamente explorado na agricultura moderna como agente biológico ecologicamente correto (Hernández-Huerta et al., 2023; Peterson et al., 2023; Vlajkov et al., 2022). O Wang et al., (2020), demonstrou que a inoculação de endófitos em mostarda indiana aumenta a produção de biomassa entre 12,0% e 17,4%, além de elevar a absorção total de metais pesados entre 24,2% e 32,0%, evidenciando o potencial desses microrganismos na fitorremediação.

Na agricultura, o gênero *Bacillus* é amplamente utilizado como agente de biocontrole contra pragas de insetos e fitopatógenos microbianos, sendo uma alternativa aos agroquímicos (Hernández-Huerta et al., 2023; Hussain et al., 2024; Vlajkov et al., 2022). *Bacillus cereus* (Bc) e *Bacillus thuringiensis* (Bt) são estudados por suas atividades fungicidas e inseticidas, mas seu uso como biofertilizantes e agentes de biocontrole contra bactérias fitopatogênicas ainda é limitado (Hernández-Huerta et al., 2023).

Bacillus thuringiensis participa da degradação de compostos orgânicos por meio de enzimas como quitinases, proteases e lipases (STAMFORD et al., 1999). Com vantagens como redução da necessidade de energia, aumento do rendimento do produto, aumento da eficiência catalítica redução de perdas e subprodutos do catalisador (Danilova & Sharipova, 2020).

Microrganismos como *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens* e *Trichoderma spp.* são frequentemente utilizados, pois produzem fitormônios, enzimas hidrolíticas e sideróforos, além de promoverem a solubilização de nutrientes (Hernández-Huerta et al., 2023; Kiani Dehkian et al., 2024).

Desse modo, os *Bacillus* destacam-se não apenas por seu papel fundamental em processos biológicos essenciais, mas também por sua ampla aplicação nas indústrias alimentícia, de couro, de detergentes e farmacêutica, consolidando-se como um segmento de grande relevância no mercado global de enzimas (Danilova & Sharipova, 2020).

2.2.2 Potencial biotecnológico *Bacillus thuringiensis* (Bt) na Agricultura Sustentável

Em muitos países em desenvolvimento, a baixa produtividade agrícola é um desafio devido a problemas fitossanitários e para fortalecer a segurança alimentar em condições ambientais, econômicas e geopolíticas adversas (Gupta et al., 2020), o uso de agentes de biocontrole microbiano tem se tornado uma alternativa cada vez mais desejável.

O *Bacillus thuringiensis* (Bt) tem recebido maior atenção no setor de biotecnologia vegetal, é usado para produzir plantas resistentes a insetos e biopesticidas (A. R. Khan et al., 2022).

O Bt é uma bactéria capaz de produzir toxinas Cry, que são reconhecidas por suas ações de biocontrole contra insetos (Bulla, 2025; Suárez-Barrera et al., 2021). As toxinas Bt, como as proteínas Cry e Citolítica (Cyt), estão presentes na forma de cristais, com efeitos tóxicos em diversos vetores de pragas (Melo et al., 2016a) e são venenosas para lepidópteros, coleópteros e dípteros, entre outras pragas de insetos (A. R. Khan et al., 2022)..

É o principal microrganismo utilizado no controle biológico desde o primeiro relato de Ishiwata, em 1902, sobre uma infecção em *Bombyx mori* (Azizoglu et al., 2023; Melo et al., 2016b). Tem sido explorado como fonte genética para o desenvolvimento de culturas geneticamente modificadas (GM-Bt) (Souza et al., 2018). Ela também é considerada uma rizobactéria promotora do crescimento de plantas (PGPR), pois possui efeitos benéficos no crescimento vegetal (Aloo et al., 2019; Suliasih & Widawati, 2020) favorecendo a absorção de nitrogênio e fósforo e estimulam a modificação da arquitetura radicular em condições de seca (Jannat et al., 2024; Pathak et al., 2021).

Além de sua atividade biopesticida, Bt produz diversos metabólitos (Azizoglu et al., 2023), como a desaminase do ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), ácido indol-3-acético (IAA), prolina e enzimas solubilizadoras de fosfato, que melhoram o crescimento vegetal sob estresses abióticos, incluindo salinidade e seca (Arafa et al., 2021; Azizoglu et al., 2023; Devika et al., 2021).

Estudo desenvolvido por Agunbiade et al., (2024) concluiu que, inoculantes bacterianos mostraram aumento na biomassa aérea de plantas submetidas a deficiência hídrica moderada em até 89%, sugerindo que podem aumentar a tolerância à seca e a aquisição de nutrientes, reduzindo impactos do estresse hídrico.

O *Bacillus thuringiensis* vai além do seu uso clássico como bioinseticida e se destaca como uma ferramenta valiosa para a agricultura sustentável. Seu papel na promoção do crescimento vegetal, melhoria da fertilidade do solo, controle de fitopatógenos e recuperação ambiental reforça sua importância como um microrganismo multifuncional, contribuindo para sistemas agrícolas mais resilientes e ecológicos.

2.3 Priming e Seus Efeitos no Crescimento Vegetal

2.3.1 Conceito de priming de sementes e indução de resistência sistêmica

O priming de sementes pré-semeadura é um dos métodos usados para melhorar o desempenho de plantas sob estresse salino, mas seu efeito na fotossíntese, rendimento e qualidade ainda não foram bem investigados (Habibi et al., 2023), é um tipo de tratamento de sementes que emprega entidades biológicas, que envolve a hidratação de sementes e a inoculação com microrganismos benéficos (Mitra et al., 2021). É um método para sincronizar culturas fora do campo e retomar sementes armazenadas, melhorando o vigor e permitindo uma emergência rápida e uniforme das plântulas (Granata et al., 2024).

Ele também promove a emergência rápida e uniforme, melhora a resistência das culturas em condições de estresse e produz benefícios associados em culturas críticas (Arafa et al., 2021; Aswathi et al., 2022; Devika et al., 2021; S. Kumar et al., 2024; Miladinov et al., 2020; Paul et al., 2022; Raj & Raj, 2019; V. N. Silva et al., 2023).

O aumento do potencial de tolerância ao estresse por meio de várias técnicas de condicionamento de sementes é uma estratégia promissora para mitigar os efeitos prejudiciais do estresse hídrico no crescimento e na produtividade das plantas (Aswathi et al., 2022; Miladinov et al., 2020).

Algumas das características mais atraentes do preparo de sementes incluem maior porcentagem de germinação, velocidade de germinação, brotos e raízes (comprimento, peso fresco e seco), pigmentos fotossintéticos e algumas outras características promotoras de crescimento (Habibi et al., 2023; Kaushal et al., 2024; S. Kumar et al., 2024; Miladinov et al., 2020; Mitra et al., 2021; Tarchoun et al., 2024).

O priming de sementes acelera o processo de germinação e aumenta a taxa de emergência de mudas, mesmo em condições climáticas extremas e em solos problemáticos (Arafa et al., 2021; Aswathi et al., 2022; Miladinov et al., 2020).

Várias técnicas de priming são experimentadas para mitigar o efeito adverso do estresse hídrico no desempenho da planta, é uma tecnologia sustentável e de baixo custo que provou ser de imenso potencial para aumentar a tolerância à seca e aumentar a produtividade das culturas (Aswathi et al., 2022; Kaushal et al., 2024).

A preparação de sementes é categorizada em diferentes tipos, a saber, hidropriming, osmopriming, halopriming, Priming hormonal e biopriming, e fornece amplos benefícios à cultura (S. Kumar et al., 2024; Paul et al., 2022; Raj e Raj, 2019).

O Hidropriming que consiste na imbebição controlada das sementes em água por um período determinado, seguido de secagem antes da sementeira. Esse tratamento promove a reativação do metabolismo celular sem que ocorra a protrusão da raiz primária, preparando a semente para uma germinação mais rápida e uniforme (Kaushal et al., 2024). Durante o processo, há uma reativação de enzimas hidrolíticas, que auxiliam na mobilização das reservas energéticas, além de um aumento na atividade antioxidante, reduzindo os danos oxidativos causados por estresses ambientais (Granata et al., 2024).

Esse método é amplamente utilizado devido à sua simplicidade, baixo custo e ausência de resíduos químicos que possam afetar o meio ambiente (Tanwar et al., 2023). Assim, no início de um ambiente favorável por meio de chuva ou irrigação, as plantas emergidas das sementes preparadas se recuperam de maneira mais rápida e aprimorada (Aswathi et al., 2022).

Na pesquisa realizada por (Forti et al., 2020), obteve resultados que mostram, o hidropriming como consequência do aumento significativamente a porcentagem de germinação das sementes, enquanto o biopriming resultou em melhor desenvolvimento das plântulas, representado pelo aumento da biomassa em vez do comprimento das mudas.

O hidropriming de sementes de arroz melhora efetivamente a porcentagem de germinação, encurta o período de germinação e promove o crescimento das mudas, tem impacto em acelerar o crescimento em condições de solo seco, evitando assim os danos causados pela seca (Choi et al., 2024).

Já o osmopriming baseia-se na imbebição controlada das sementes em soluções com potenciais osmóticos negativos, utilizando substâncias como polietilenoglicol (PEG), sais inorgânicos (KNO_3 , CaCl_2), açúcares ou glicerol (Mamedí et al., 2022). Na presença de agentes osmóticos, a quantidade de água que entra nas sementes é limitada, mas suficiente para desencadear o metabolismo pré-germinativo, a taxa e a porcentagem de germinação são mais responsivas ao tempo de imersão do que ao potencial hídrico imposto pelo agente osmótico (Pagano et al., 2023).

Esse método permite a entrada gradual de água, prevenindo a ativação prematura dos processos germinativos enquanto estimula mecanismos fisiológicos associados à tolerância ao estresse (Kaushal et al., 2024).

Além de melhorar a germinação, o osmopriming pode aumentar a resistência da semente a estresses abióticos, como seca e salinidade, devido à ativação de vias metabólicas relacionadas à síntese de proteínas de choque térmico (HSPs) e enzimas antioxidantes (Lemmens et al., 2019). Apesar dos benefícios, o osmopriming requer um controle rigoroso do potencial

osmótico e do tempo de exposição, pois um tratamento inadequado pode levar à indução de estresse osmótico, reduzindo o vigor das plântulas.

O Sghayar et al., (2023), considera o hidrocondicionamento e o priming osmótico serem eficientes por diminuírem significativamente a gravidade da doença *Aspergillus niger* em trigo (*Triticum aestivum* L.), em 70,59–75,00% e 64,71–88,33%, respectivamente.

O biopriming combina o processo de embebição das sementes com a inoculação de microrganismos benéficos, incluindo bactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPR), fungos micorrízicos e actinobactérias (Author, 2020; D. M. M. da Silva et al., 2024b; Forti et al., 2020; Shaffique et al., 2022; Tarchoun et al., 2024).

Biopriming não apenas melhora a germinação e o desenvolvimento inicial das plantas, mas também confere proteção contra patógenos do solo e estimula a resistência sistêmica induzida (ISR) (Shaffique et al., 2022).

O bio-priming é uma estratégia sustentável para a agricultura, podendo reduzir a necessidade de defensivos químicos e fertilizantes sintéticos, mas seu sucesso depende da compatibilidade entre os microrganismos e a cultura-alvo, além da viabilidade da formulação microbiológica utilizada.

O biopriming aliviou os efeitos negativos da salinidade, das sementes submetidas a cinco tratamentos de biopriming, na cultura de microalgas particularmente *T. harzianum*, *Parachlorella* sp. + *B. subtilis* e *Parachlorella* sp. + *T. harzianum*, o que levou a altas taxas de germinação e mudas normais (D. M. M. da Silva et al., 2024a).

O halopriming, as sementes são embebidas em soluções contendo sais inorgânicos, por exemplo, NaCl, KNO₃, CaCl₂, CaSO₄ (Pagano et al., 2023).

O nanopriming, as nanopartículas (NPs) de óxidos metálicos, amplamente utilizadas nas indústrias, surgem como ferramentas emergentes para fins de condicionamento de sementes na agricultura. A aplicação de nanopartículas de selênio e óxido de zinco (SeNPs, ZnONPs) durante a embebição de sementes de *B. napus* sob estresse de salinidade mostrou como o nanopriming foi capaz de modular a expressão de genes relacionados ao ABA (Pagano et al., 2023).

As técnicas de preparação de sementes podem lidar com condições prejudiciais em terras frágeis, como seca, estresse por calor, salinidade, estresse por nutrientes e vários estresses ambientais (Habibi et al., 2023; Jannat et al., 2024; Miljaković et al., 2024; Tarchoun et al., 2024).

2.3.2 Mecanismos de Ação de Priming em Plantas

O priming de sementes induz uma série de modificações bioquímicas e fisiológicas que fortalecem a capacidade germinativa e preparam a planta para enfrentar desafios ambientais (Devika et al., 2021; Kaushal et al., 2024). Entre essas mudanças, destacam-se a ativação de enzimas essenciais, a síntese de substâncias promotoras do crescimento, o metabolismo de inibidores da germinação e o reparo de danos celulares, otimizando a viabilidade e o desempenho inicial da planta (Devika et al., 2021).

[...] esse processo estimula o metabolismo celular, ativando enzimas, fazendo o reparo celular, intensificação da defesa antioxidante e síntese de proteínas, contribuindo também diretamente para uma germinação mais rápida, crescimento vigoroso das mudas e maior produtividade da cultura (Paul et al., 2022).

Segundo Devika et al. (2021) o processo de *priming* de sementes é dividido em três estágios. No primeiro estágio, chamado de embebição, a semente absorve rapidamente água devido ao seu baixo potencial hídrico. No segundo estágio, conhecido como fase de ativação, ocorrem diversos processos metabólicos e de reparo celular, como a síntese de proteínas, formação de novas mitocôndrias, ativação de enzimas e do sistema antioxidante, além da reparação do DNA. A embebição é interrompida após essa fase, mas já há mudanças celulares importantes, incluindo divisão celular, produção de ATP e antioxidantes. No terceiro estágio, há uma nova absorção rápida de água e a protrusão da radícula indica que a semente entrou na fase de germinação, com início do crescimento e alongamento celular, como ilustra a Figura 1.

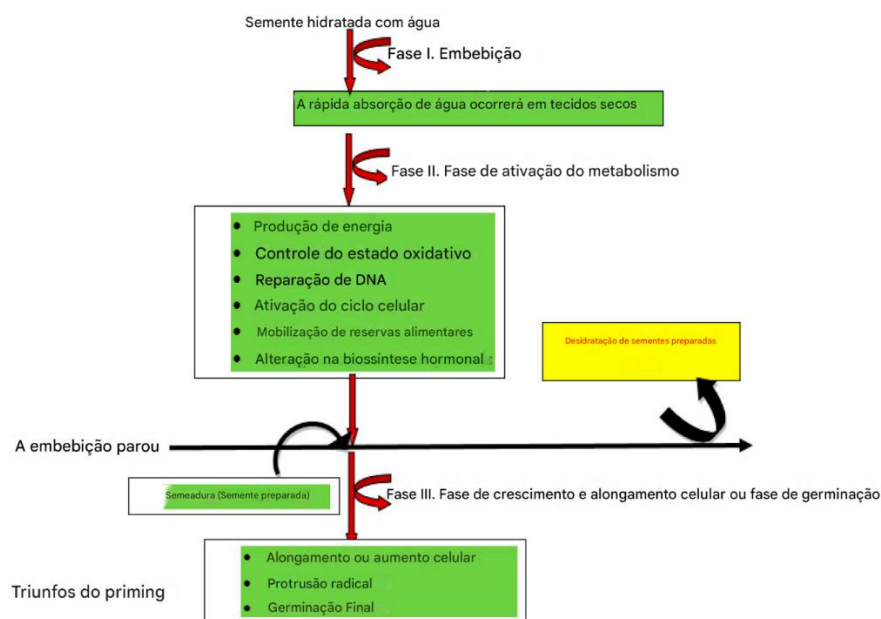
Figura 1: Mudanças bioquímicas interligadas, estimuladas pelo priming da semente



Fonte: Devika et al. (2021)

As sementes submetidas ao tratamento (priming) apresentam germinação mais uniforme devido à ativação de enzimas, mecanismos de reparo celular, síntese de proteínas e fortalecimento das defesas antioxidantes, em comparação com sementes não tratadas. Além disso, esse tratamento favorece o acúmulo de osmólitos como prolina, glicina-betaína e poliaminas, resultado de alterações nos processos metabólicos e da transição entre os estados de dormência e germinação em resposta à hidratação das sementes (Marthandan et al., 2020). conforme ilustrado na Figura 2.

Figura 2: Eventos que ocorrem durante o priming de sementes



Fonte: Marthandan et al. (2020)

Durante o priming de sementes, ocorrem adaptações metabólicas temporárias que atuam como uma forma de memória de estresse (Paul et al., 2022), permitindo que lidem com condições prejudiciais, como seca, estresse por calor, salinidade, estresse por nutrientes e vários estresses ambientais (Marthandan et al., 2020).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Sementes de tomateiro

Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) cv Micro-tom, foram cultivadas em câmara de crescimento da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Minas Gerais, Brasil, sob condições controladas com temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 16h, onde os seus frutos foram coletados após estarem completamente maduros, para a remoção da polpa e extração das sementes, as sementes foram colocadas em suspensão em uma solução de água e fermento biológico comercial, *Saccharomyces cerevisiae*, por um período de 2 a 4h, e de seguida as sementes foram lavadas em água corrente, selecionadas e mantidas em temperatura ambiente até completamente secas e foram armazenadas (Pino et al., 2010).

3.2 Cepas bacterianas e Preparação de inóculo

Treze (13) cepas pertencentes à espécie *Bacillus thuringiensis* foram utilizadas neste estudo, nomeadamente: LCBM1, LCBM2, LCBM3, LCBM4, LCBM5, LCBM6, LCBM7, LCBM8, LCBM9, LCBM10, LCBM11 e LCBM12, todas fornecidas pelo Laboratório Central de Biologia Molecular (LCBM) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Minas Gerais, Brasil. Além dessas, foi utilizada como controle uma cepa comercial (T24). Todas as cepas foram fixadas em uma fita, e a pesquisa foi desenvolvida no próprio LCBM/UFLA.

As cepas foram plaqueadas em meio sólido ágar Luria-Bertani (LB a 25 g/L) e incubadas por dois dias a 28°C . O experimento foi conduzido em duas etapas: na primeira, foram cultivadas seis cepas (LCBM2, LCBM3, LCBM4, LCBM5, LCBM6 e LCBM7); na segunda etapa, foram utilizadas as cepas LCBM1, LCBM8, LCBM9, LCBM10, LCBM11, LCBM12 e a cepa comercial T24.

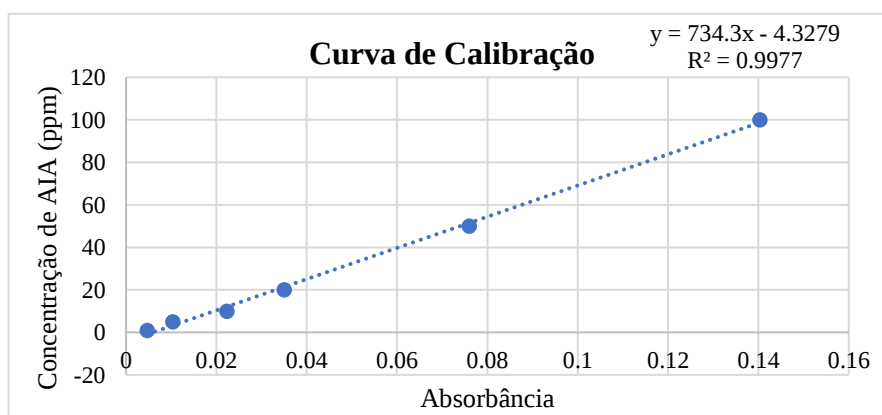
Primeiramente, foram plaqueadas as cepas LCBM2, LCBM3, LCBM4, LCBM5, LCBM6 e LCBM7, em meio sólido ágar LB e incubadas por 2 dias a 28°C em uma placa de petri estéril de 90x15mm, de seguida foi realizado o cultivo de uma colônia Bt da placa para um Erlenmeyer de 10ml com caldo nutriente LB a 150 rpm e 28°C por 7 horas, em condições de escuridão e 15 horas na luz, de seguida 100uL foram pipetados da suspensão de 10mL para 50ml de LB e foi centrifugada a 6000 rpm por 10 minutos a temperatura de 25°C , e as células bacterianas foram ressuspensas em tampão fosfato de sódio (100 mM, pesou-se 5,999g de NaH_2PO_4 para solver 500mL e usou-se o NaOH para ajustar o pH para $7,0 \pm 0,2$). As

concentrações bacterianas foram determinadas espectrofotometricamente (GeneQuant *pro*) e ajustadas para 10^8 unidades formadoras de colônias (UFC)/ml, por diluição com tampão fosfato em tubos Falcons de 15ml (Aiuchi et al., 2016; Amruta et al., 2019). E o mesmo procedimento foi repetido para o segundo experimento. E essas suspensões com concentrações bacterianas ajustadas a 10^8 UFC/ml foram utilizadas para experimentos subsequentes.

3.3 Produção de AIA

No experimento para avaliação do Ácido indolacético (AIA) nas 13 cepas bacterianas, foi utilizado a suspensão mencionada anteriormente, ajustadas para 10^8 UFC/ml, por diluição com tampão fosfato, onde foram coletados 100uL de concentrações bacterianas diluídos em tampão fosfato e foram pipetados em 50ml do meio TSA a 10% (40g L^{-1}) suplementados com L-triptofano ($1,021\text{g L}^{-1}$) de seguida foram colocado sub agitação a 150rpm por 2 dias, incubados a 28°C , em 24h foi feita a primeira colheita de 1200uL (em eppendorf) e foi levado a centrifuga (6000rpm, por 5min, 25°C) e a segunda colheita foi feita após 48h (6000rpm, por 5min, 25°C), e o sobrenadante foi utilizado como amostra, cada tubo em duplicata. As soluções-padrão de AIA com concentrações de 1, 5, 10, 20, 50 e 100 mg/L foram misturadas com o reagente colorimétrico Salkowski, usado para estimar o AIA (ácido indolacético), que foi utilizado: 1 mL da amostra foi misturado com 2 mL do reagente de Salkowski (1 mL de FeCl_3 0,5 M, 50 mL de HClO_4 35%), as amostras foram incubadas por 25 minutos no escuro à temperatura ambiente, a água destilada foi utilizada como amostra em branco e a concentração de AIA foi determinada por avaliação espectrofotométrica da OD_{530} , seguida de comparação com uma curva padrão de concentração-absorbância (Glickmann e Dessaux, 1995; Gordon e Weber, 1950).

Figura 3: Curva Padrão de Concentração vs. Absorbância para AIA



Fonte: O autor (2025)

3.4 Atividade de cepas *Bt* na promoção da germinação de sementes de tomateiro

Para avaliar os efeitos do priming de sementes do filtrado da cultura de *B. thuringiensis* na germinação de sementes, realizou-se tratamento bacteriano de sementes de tomateiro, onde elas foram esterilizadas superficialmente no álcool 70% por 30 segundos e em Hipoclorito de sódio a 1% por 15 min e lavado com água esterilizada por três vezes (Carvalho et al., 2011; Pino et al., 2010), em seguida imerso em filtrado de cultura bacteriana e suspensão bacteriana. Após 24h, o filtrado da cultura bacteriana (ou suspensão bacteriana) foi descartado e as sementes foram secos por 12 horas em placas de Petri estéreis (90x15mm) com papel filtro. Após secagem, foram distribuídas 25 sementes em cada placa estéril, germinadas sobre papel filtro umedecido com uma quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel e por fim foram levadas ao escuro a 25°C e no quinto dia foi retirado para o fotoperíodo de 16h com temperatura de 25°C (Pino et al., 2010), e 3 dias após a inoculação, a germinação das sementes foi avaliada (Aiuchi et al., 2016).

As sementes foram germinadas sobre papel filtro umedecido com uma quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel. Como tratamento controle, foram utilizadas as sementes de tomateiro embebidas apenas em tampão fosfato, meio LB e água (Aiuchi et al., 2016; Amruta et al., 2019). A avaliação foi feita diariamente, durante 14 dias para verificação de porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e posteriormente comprimento de parte aérea e raiz. Foram utilizadas 3 repetições de 25 sementes para cada cepa de *Bacillus thuringiensis* (13 cepas), somando 1200 sementes, junto as 3 repetições de controles, distribuídas em 48 placas. A figura 4 indica todos os precedimentos seguidos.

3.5 Atividade enzimática dos *Bts*

Após obtenção das concentrações bacterianas que foram determinadas espectrofotometricamente e ajustadas para 10^8 UFC/ml, por diluição com tampão fosfato, em todos os testes 15ul de microrganismos foram inoculados no centro da placa, com uma pipeta em forma de um pingo, e incubados a 28° C, após 48 horas foram feitas medições do diâmetro do halo produzido e da colônia com uma régua (STAMFORD et al., 1999). Cada teste difere-se pelo material usado em cada meio.

a) Atividade enzimática amilolítica

As bactérias previamente isoladas e ajustadas para 10^8 UFC por diluição com tampão fosfato, foram plaqueadas em meio TSA, incrementado com 0,5% de extrato de levedura, e 1% de amido solúvel (v/v) e incubadas por 48 horas, a uma temperatura de 28°C. Depois de verificado o crescimento, foram adicionados 10 ml de Lugol (solução de iodo), e então feita a lavagem quase imediata da mesma com água destilada (HANKIN e ANAGNOSTAKIS, 1975).

b) Atividade enzimática celulolítica

As bactérias Bt previamente isoladas e ajustadas para 10^8 UFC por diluição com tampão fosfato, foram plaqueadas em meio TSA incrementado com 0,5% de extrato de levedura, 1% de carboximetilcelulose (CMC) e o pH ajustado para 7,0, vertidos em uma placa e em seguida foram inoculados 15 μ l de microrganismos no centro da placa, incubadas por 48 horas, a uma temperatura de 28°C. Após a verificação do crescimento, foram adicionados 10 mL de corante Vermelho Congo à placa, (por 15 min) e posteriormente foi feita a lavagem da mesma com NaCl (5M, 15 min) para medição das zonas de crescimento e halo foi realizada 10 min após a remoção da solução de NaCl (Teather & Wood, 1982).

c) Atividade enzimática proteolítica

As bactérias previamente isoladas e ajustadas para 10^8 UFC por diluição com tampão fosfato, foram plaqueadas em meio TSA suplementado após a esterilização, com 10% de leite desnatado, 15 μ l de microrganismos foram inoculados na placa e incubadas por 48 horas, a uma temperatura de 28°C (STAMFORD et al., 1999). A avaliação da atividade enzimática foi realizada com base na aparência do crescimento da biomassa e na zona clara ao seu redor (Vlajkov et al., 2022).

d) Atividade enzimática lipolítica

As bactérias previamente isoladas e ajustadas para 10^8 UFC por diluição com tampão fosfato, foram plaqueadas em meio TSA que após a esterilização foi incrementado com 1% (v/v) de Tween 20 previamente esterilizado. As bactérias foram incubadas por 48 horas, a uma temperatura de 28°C (SIERRA, 1956).

e) Atividade enzimática esterase em meio TSA

As bactérias previamente isoladas e ajustadas para 10^8 UFC por diluição com tampão fosfato. Nesse teste, utilizou-se a mesma metodologia empregada da atividade enzimática de lipases, porém foi substituído o uso de Tween 20 por Tween 80 (SIERRA, 1956).

f) Atividade enzimática esterase em meio LB

As bactérias previamente isoladas e ajustadas para 10^8 UFC por diluição com tampão fosfato, foram plaqueadas em meio LB suplementado após a esterilização com o Tween 80 (SIERRA, 1956). As bactérias foram incubadas por 48 horas, a uma temperatura de 28°C .

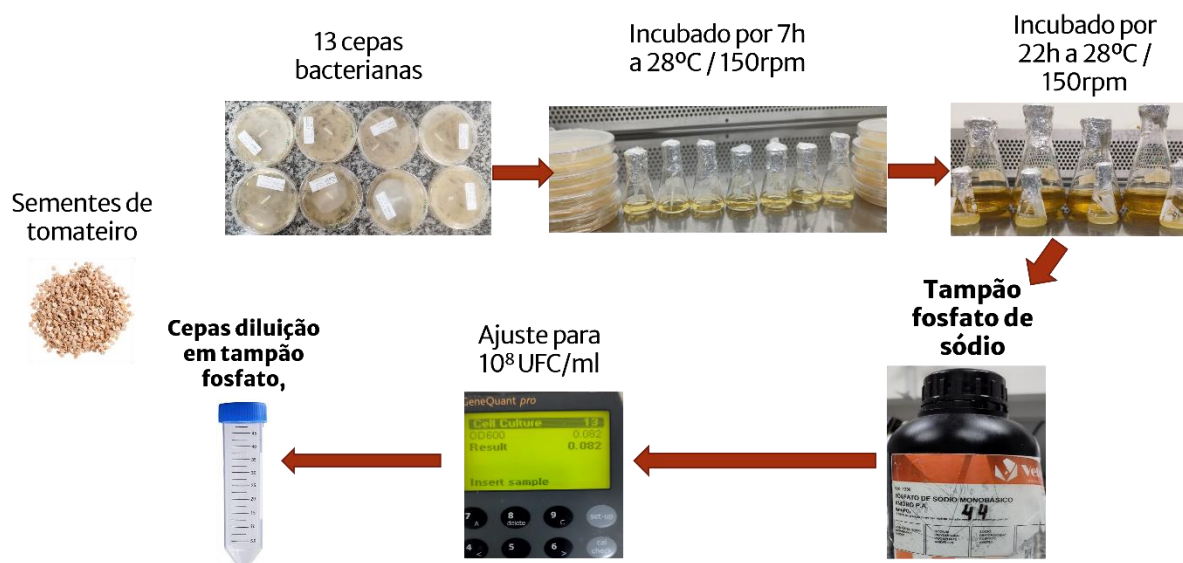
g) Solubilização de fosfato inorgânico

As bactérias previamente isoladas e ajustadas para 10^8 UFC por diluição com tampão fosfato, foram plaqueadas em meio de cultura contendo 0,525g de fosfato inorgânico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), 8,4g de Dextrose, 0,0525g de Sulfato de Magnésio (MgSO_4), 1,05g de Cloreto de Magnésio (MgCl), 0,0425 de cloreto de potássio (KCl), 0,021g de sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), 8g de ágar e 210mL de água destilada estéril em pH 7,0., após esfriar as cepas foram inoculadas no centro das placas de Petri e incubadas a $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 2 dias (Agunbiade et al., 2024; Matos et al., 2017).

h) Atividade enzimática Fosfato LB

As bactérias previamente isoladas e ajustadas para 10^8 UFC por diluição com tampão fosfato, foram plaqueadas em meio de cultura LB contendo fosfato inorgânico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) e foram incubadas por 48 horas, a uma temperatura de 28°C (Matos et al., 2017).

Figura 4: Procedimentos usados na promoção da germinação de sementes de tomateiro



Legenda: Sementes de tomateiro foram esterilizadas superficialmente e a tratamento bacteriano foi preparado e as sementes foram imerso no filtrado de cultura bacteriana por 24h suspensão bacteriana e foi descartado e as sementes foram secos por 12 horas em placas de Petri estéreis e a avaliação foi feita diariamente, durante 14 dias para verificação de porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e posteriormente comprimento de parte aérea e raiz.

Fonte: O autor (2024)

3.6 Análise Estatística

A análise estatística dos dados experimentais foi realizada de forma robusta, com a aplicação de métodos apropriados para garantir a validade e a confiabilidade dos resultados. O experimento foi conduzido utilizando o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), no qual foram avaliadas treze cepas de *Bacillus thuringiensis* e controles, com a medição de variáveis como a produção de AIA e o desempenho das sementes. O uso de três repetições de 25 sementes por tratamento garantiu uma amostra adequada para a análise dos efeitos das cepas bacterianas.

Os dados obtidos para cada cepa foram analisados utilizando a ANOVA (Análise de Variância), permitindo comparar os efeitos das diferentes cepas e controles sobre as variáveis dependentes. A normalidade dos dados foi verificada através do teste de Shapiro-Wilk, assegurando que os resíduos seguissem uma distribuição normal, um pressuposto fundamental para a validade da ANOVA.

Para garantir que as variâncias entre os grupos fossem homogêneas, foi aplicado o teste de Bartlett, que confirmaria a adequação da ANOVA aos dados. Após a ANOVA, foi realizado o teste de Scott-Knott para a comparação das médias, permitindo identificar quais tratamentos

diferiram significativamente entre si. Esse teste foi particularmente útil para separar as diferentes cepas de *Bacillus thuringiensis* em termos de seus efeitos na promoção da germinação e na produção de AIA (Hernández-Huerta et al., 2023).

Para a análise dos testes enzimáticos, que avaliaram a atividade amilolítica, proteolítica e lipolítica das cepas, o teste de Tukey foi empregado para comparar as médias de cada atividade enzimática, considerando o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software R Studio v2024.04.0, que é amplamente utilizado para análise de dados experimentais, garantindo que os resultados fossem confiáveis e representassem com precisão os efeitos das diferentes cepas sobre as variáveis estudadas.

Em geral, os testes realizados asseguram a validade das conclusões, indicando que as cepas de *Bacillus thuringiensis* apresentaram diferentes níveis de atividade nas variáveis analisadas, com alguns tratamentos mostrando efeitos significativos na promoção da germinação de sementes e nas atividades enzimáticas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados

4.1.1 Preparação de inóculo

As cepas pertencentes à espécie *Bacillus thuringiensis*, nomeadamente LCBM₁, LCBM₂, LCBM₃, LCBM₄, LCBM₅, LCBM₆, LCBM₇, LCBM₈, LCBM₉, LCBM₁₀, LCBM₁₁, LCBM₁₂ e a cepa comercial T24, plaqueadas em meio LB sólido por 48 horas a 28°C mostraram um crescimento ótimo, permitindo assim o acerto das concentrações bacterianas que foram determinadas espectrofotometricamente e ajustadas para 10⁸ UFC/ml e diluídas em tampão fosfato (Tabela 1), que permitiram o prosseguimento dos experimentos subseqüente.

Tabela 1: Valores de diferentes concentrações de 10⁸ UFC/mL de cepas Bt

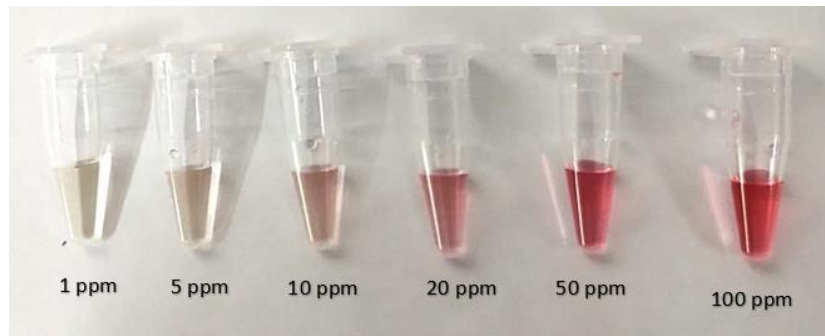
Experimento 1	Concentrações em 10 ⁸ UFC/ml	Experimento 1	Concentrações em 10 ⁸ UFC/ml
LCBM ₂	0,084	LCBM ₁	0,085
LCBM ₃	0,086	LCBM ₈	0,080
LCBM ₄	0,088	LCBM ₉	0,087
LCBM ₅	0,086	LCBM ₁₀	0,080
LCBM ₆	0,085	LCBM ₁₁	0,082
LCBM ₇	0,087	LCBM ₁₂	0,088
		T24	0,086

Legenda: os valores representam concentrações bacterianas que foram determinadas espectrofotometricamente e ajustadas para 10⁸ UFC/ml e diluídas em tampão fosfato.

4.1.2 Produção de AIA

De referir que todas as cepas exibiram uma reação positiva ao desenvolver uma cor rosa e rosa-avermelhada quando reagiram com o reagente de Salkowski, o que indica um resultado positivo para a produção de IAA com base na determinação qualitativa (Figura 5).

Figura 5: Detecção qualitativa da produção de ácido indolacético (IAA)

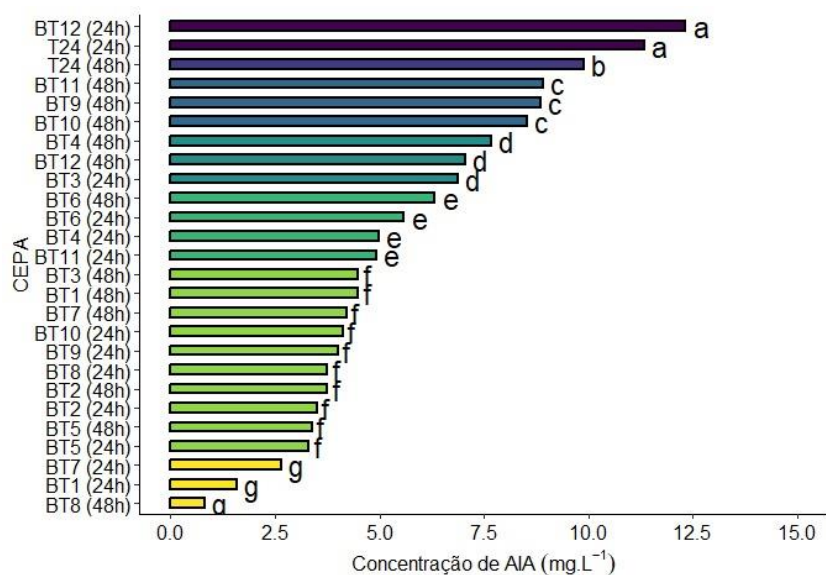


Legenda: A figura representa as concentrações de AIA a partir de 1, 5, 10, 20, 50 e 100ppm, todas as cepas apresentaram uma coloração rosa a rosa-avermelhada, indicando um resultado positivo para a produção de IAA.

Fonte: O autor (2024)

As 13 cepas das quais 12 obtidas do LCBM, foram avaliadas quando incubados em 24h e 48h à 28°C, e elas apresentaram uma faixa altamente variável, em 24h produzindo AIA dentro de uma faixa de 1,596500 e 12,329233 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e em 48h dentro de uma faixa de 0,821100 a 9,887300 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Notavelmente, as cepas Bt 12 (LCBM₁₂) e T24 (a comercial) que em 24h elas produziram maiores quantidades de AIA com uma média de 12,329233 e 11,337167 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente em relação a 48h teve 7,053750 e 9,887300 $\mu\text{g mL}^{-1}$, veja a figura 6.

Figura 6: Concentração de ácido indolacético (AIA) produzido pelas cepas testadas após 24 e 48 horas de incubação.



Fonte: O autor(2024)

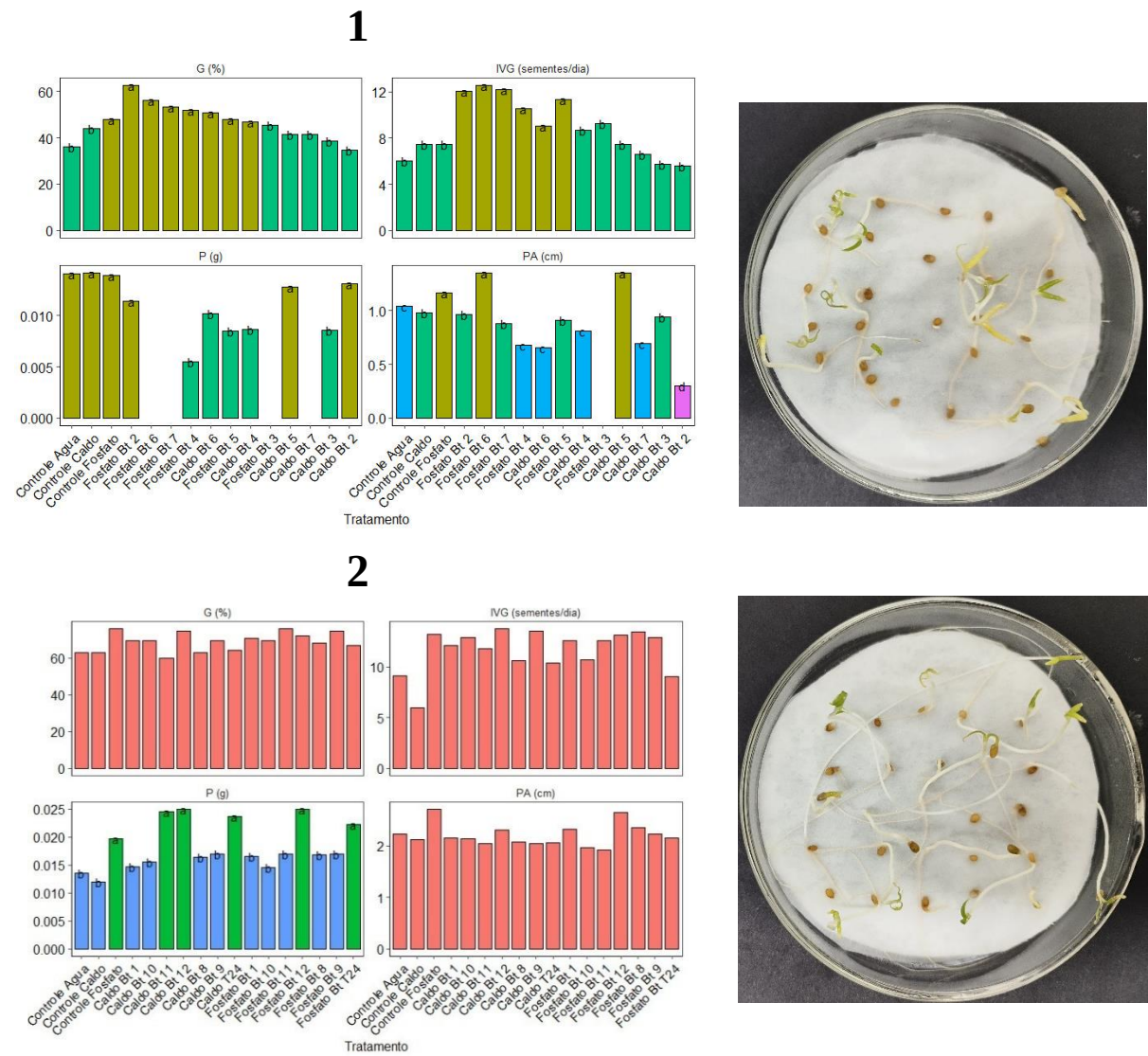
Os valores foram obtidos por espectrofotometria, com base na curva padrão de concentração-absorbância, utilizando o reagente de Salkowski para detecção.

Observa-se a variação na produção de AIA entre os tempos analisados, indicando possíveis diferenças na taxa de síntese entre as cepas.

4.1.3 Atividade de cepas *Bt* no priming de sementes de tomateiro

A avaliação da atividade de germinação foi feita diariamente, durante 14 dias para verificação de porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e posteriormente comprimento de parte aérea (PA) e peso (P), em dois experimentos, tendo obtido os seguintes resultados ilustrado (Figura 7):

Figura 7: Avaliação da atividade de Priming de sementes



Legenda: Avaliação da atividade de germinação (**G**) ao longo de 14 dias, considerando a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (**IVG**). Após esse período, foram mensurados o peso (**P**) e o comprimento da parte aérea (**PA**) e a demonstração de sementes germinadas. Os resultados apresentados comparam o desempenho germinativo das sementes em dois experimentos distintos, onde 1 representa o primeiro experimento e 2 representa o segundo experimento.

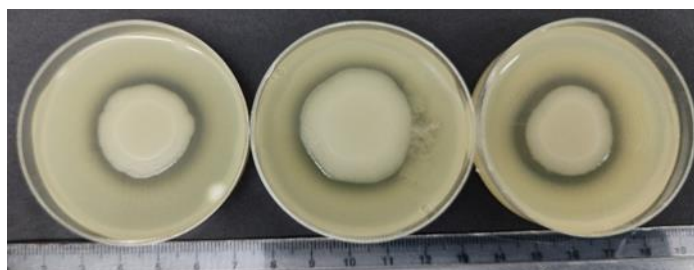
4.1.4 Atividade enzimática dos *Bts*

A atividade enzimática foi determinada através da relação entre o diâmetro médio do halo de degradação e o diâmetro médio da colônia, expresso como Índice Enzimático (HANKIN & ANAGNOSTAKIS, 1975).

a) Atividade enzimática proteolítica

Nesta actividade enzimática, verificou-se a formação de halos incolores (Figura 8).

Figura 8: Representação do halo incolor observado no teste enzimático



Fonte: O autor (2024)

Verifica-se que a média do índice enzimático proteolítico, os dados foram considerados normais no teste de Shapiro-Wilk com 5% de significância (Tabela 2).

Tabela 2: Representação dos dados sobre a atividade enzimática proteolítica

Tratamento	Proteolítico
Bt T24	1.166620
Bt 1	1.710229
Bt 10	1.356266
Bt 11	1.205619
Bt 12	1.390067
Bt 8	1.203309
Bt 9	1.356957

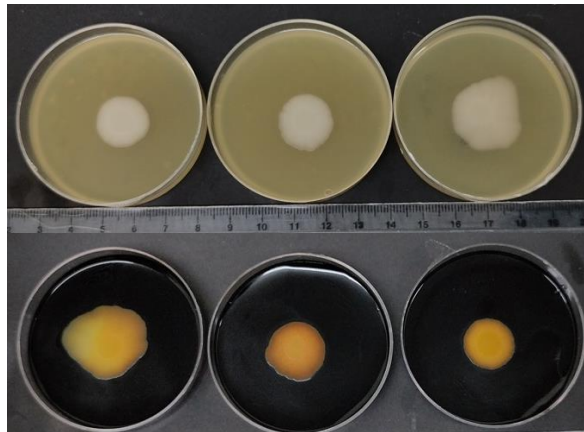
Bt 2	1.249256
Bt 3	1.186659
Bt 4	1.307119
Bt 5	1.232937
Bt 6	1.264489
Bt 7	1.217404

Fonte: O autor (2024)

b) Atividade enzimática amilolítica

Neste teste verificou-se um crescimento por parte das Bt, mas houve formação de halos.

Figura 9: Atividade Enzimática Amilolítica

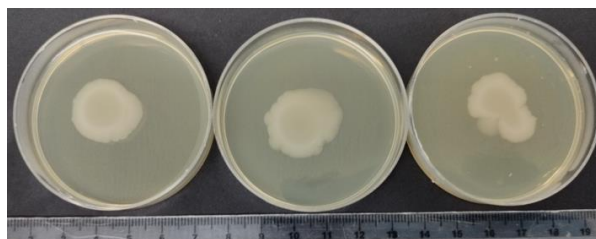


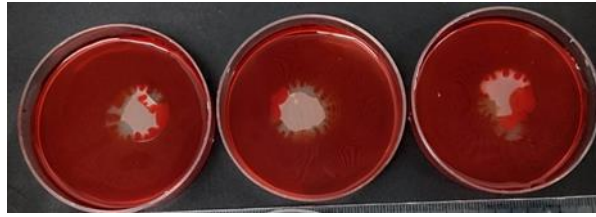
Fonte: O autor (2025)

c) Atividade enzimática celulolítica

Neste teste verificou-se um crescimento por parte das Bt, mas houve formação de halos.

Figura 10: Atividade Enzimática celulolítica



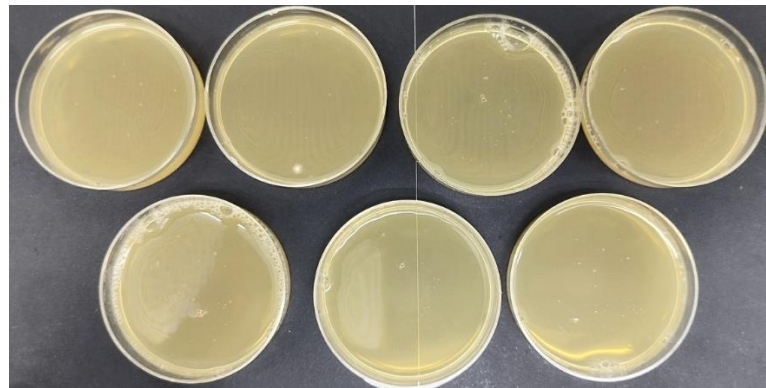


Fonte: O autor (2025)

d) Atividade enzimática lipolítica

Neste teste não houve crescimento das Bt e nem houve formação de halos.

Figura 11: Atividade enzimática lipolítica

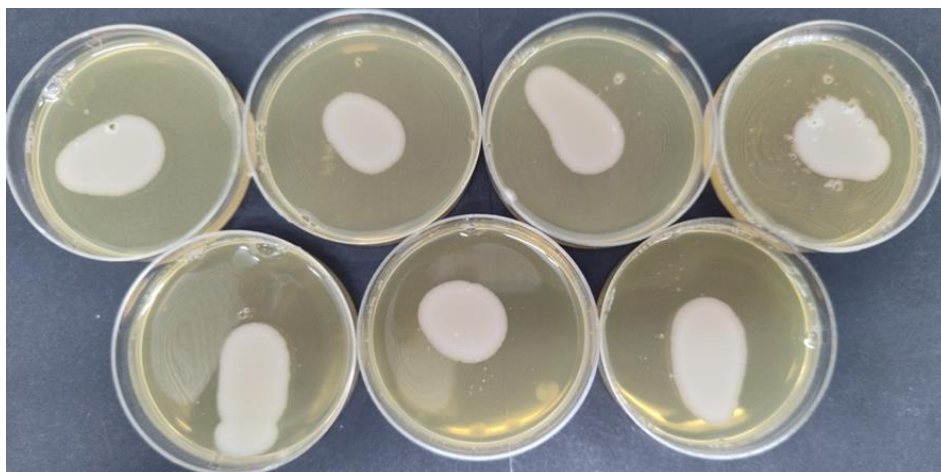


Fonte: O autor (2025)

e) Atividade enzimática esterase em meio LB

Neste teste verificou-se um crescimento por parte das Bt, mas houve formação de halos.

Figura 12: Atividade Enzimática Esterase

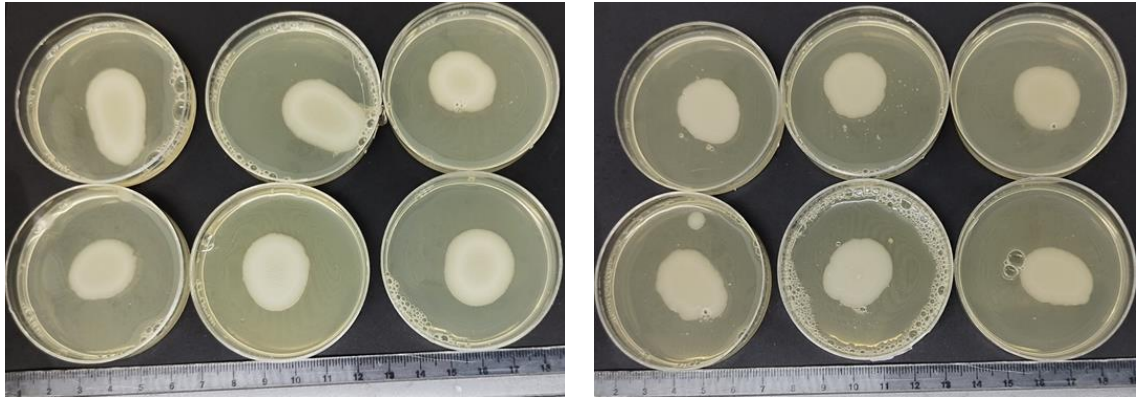


Fonte: O autor (2025)

f) Atividade enzimática esterase em meio TSA

As cepas cresceram, mas não formaram halos.

Figura 13: Atividade enzimática esterase em meio TSA

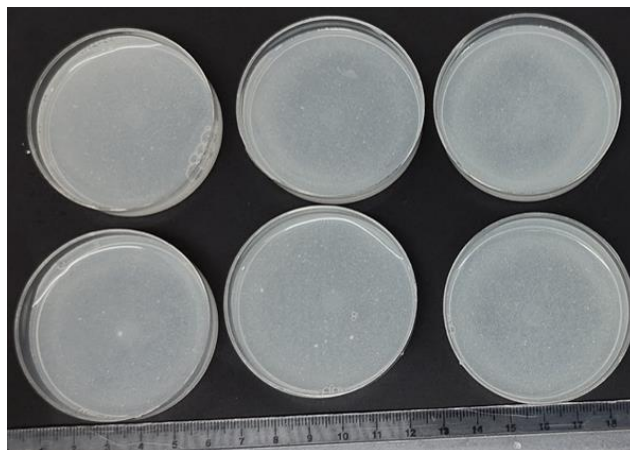


Fonte: O autor (2025)

g) Solubilização de fosfato inorgânico

Não cresceram e nem formaram halos.

Figura 14: Solubilização de Fosfato Inorgânico



Fonte: O autor (2025)

4.2 Discussão

4.2.1 Produção de AIA

As 13 cepas testadas apresentaram uma produção de AIA variando entre $0,821 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $12,329 \mu\text{g mL}^{-1}$, valores significativamente superiores aos relatados por (Ríos-Ruiz et al., 2024), cujos isolados bacterianos produziram AIA em quantidades entre $2,01$ e $7,26 \mu\text{g mL}^{-1}$, e por Suliasih & Widawati (2020), que relataram valores entre $2,88$ e $5,14 \mu\text{g mL}^{-1}$ em 19 isolados de bactérias produtoras de AIA. A cepa BT12 (24h) apresentou o maior índice de produção ($12,329 \mu\text{g mL}^{-1}$), seguida pela cepa comercial T24 (24h) com $11,337 \mu\text{g mL}^{-1}$, ambas pertencentes ao grupo estatístico "a". Esses resultados indicam que essas cepas são altamente eficientes na biossíntese de AIA e possuem potencial para uso como biofertilizantes, contribuindo para a produtividade das culturas. No entanto, é necessária uma identificação molecular mais aprofundada e estudos de campo adicionais (Lata et al., 2024).

Por outro lado, a cepa BT8 (48h) apresentou a menor produção de AIA ($0,821 \mu\text{g mL}^{-1}$), pertencendo ao grupo estatístico "g", evidenciando uma menor eficiência nessas condições experimentais. Diferentemente do estudo de Lata et al. (2024), no qual o crescimento bacteriano diminuiu após 72h, nossos resultados sugerem que o tempo de incubação pode influenciar negativamente a produção do fitohormônio por algumas cepas, possivelmente devido ao consumo de triptofano disponível ou à regulação metabólica do próprio microrganismo.

A análise estatística revelou diferenças significativas entre as cepas e os tempos de incubação. As cepas que apresentaram maior produção de AIA em 24h (BT12 e T24) tiveram redução nos níveis após 48h, como observado para T24 (48h) ($9,887 \mu\text{g mL}^{-1}$, grupo "b") e BT12 (48h) ($7,053 \mu\text{g mL}^{-1}$, grupo "d"). Essa diminuição pode ser explicada pela degradação do AIA ao longo do tempo ou pelo consumo do hormônio pelas próprias bactérias para outros processos metabólicos.

Outras cepas, como BT9, BT10 e BT11 (48h), apresentaram médias intermediárias de produção de AIA ($8,85 - 8,52 \mu\text{g mL}^{-1}$, grupo "c"), demonstrando que algumas linhagens conseguem manter uma produção relativamente estável por um período maior. Suliasih & Widawati, (2020) observaram que a produção máxima de AIA por *Bacillus siamensis* foi alcançada em 96 horas de incubação, atingindo $9,89 \mu\text{g mL}^{-1}$, o que corrobora a variabilidade entre linhagens.

As menores médias de produção de AIA foram observadas nas cepas BT1 (24h), BT7 (24h) e BT8 (48h), pertencentes ao grupo "g", com valores entre $0,821$ e $2,64 \mu\text{g mL}^{-1}$. Essa

baixa produção pode estar associada à menor capacidade biossintética dessas linhagens ou a fatores ambientais que inibiram sua atividade metabólica. Suliasih & Widawati (2020) relatam que a produção de AIA varia entre diferentes espécies e cepas, sendo influenciada por diversos fatores, como a disponibilidade de substrato, as condições de cultivo e o estágio de crescimento bacteriano.

Os resultados deste estudo são compatíveis com os reportados por Cheng et al., (2024), que demonstraram que um consórcio de *Bacillus safensis*, *B. stratosphericus* e *B. halotolerans* apresentou uma produção de AIA entre 3,0 e 6,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, promovendo significativamente o crescimento de mudas de nogueira, esse efeito foi atribuído à ação sinérgica na produção de AIA e na formação de biofilme, melhorando a colonização bacteriana na rizosfera e, consequentemente, o desempenho das plantas.

Neste estudo, a cepa *Bacillus sp.* BioSol021 demonstrou potencial para produzir AIA em concentrações de 6,76 mg/L, tornando-se um candidato promissor para o desenvolvimento de produtos biotecnológicos destinados ao uso agrícola (Vlajkov et al., 2022). A capacidade de síntese de AIA é um critério essencial na seleção de bactérias promotoras de crescimento vegetal, devido ao seu impacto positivo na proliferação radicular e no aumento da taxa de germinação (Rahmani et al., 2009).

O AIA é um hormônio vegetal essencial para o crescimento, promovendo a divisão e diferenciação celular, aumentando o volume e a massa das plantas (Hou et al., 2024). Estudos indicam que o AIA produzido por rizobactérias influencia diretamente o alongamento da raiz principal, a proliferação das raízes laterais e a sinalização hormonal entre raiz e parte aérea (Carril et al., 2018; Hou et al., 2024). Esses efeitos são fundamentais para a absorção eficiente de nutrientes e água, aumentando a tolerância das plantas a estresses ambientais (Agunbiade et al., 2024).

Estudos em casa de vegetação mostraram que isolados bacterianos promovem significativamente o crescimento de culturas agrícolas. Por exemplo, inoculantes aplicados em melancia aumentaram a eficiência fotossintética, a produtividade e a qualidade dos frutos (L. Li et al., 2025). Esses achados reforçam o potencial biotecnológico das cepas estudadas para desenvolvimento de biofertilizantes sustentáveis.

4.2.2 Atividade de cepas *Bt* no priming de sementes de tomateiro

A utilização de microrganismos promotores de crescimento vegetal, como *Bacillus thuringiensis* (Bt), tem sido amplamente estudada devido ao seu potencial na melhoria da

germinação, crescimento inicial e desenvolvimento das plântulas. Os dois experimentos conduzidos avaliaram o efeito de diferentes cepas Bt, cultivadas tanto em meio caldo quanto em meio fosfatado, sobre a germinação de sementes de tomateiro e seu desenvolvimento inicial.

Foi examinado o potencial dos isolados de *Bacillus* spp. de melhor desempenho por meio de inoculação e biocondicionamento de sementes para melhorar a germinação na presença de infecção fúngica (*Fusarium proliferatum* PS1 e *Paecilomyces equiseti* PS18) e reduzir a incidência de patógenos em sementes de ervilha (Miljaković et al., 2024).

Os resultados gerais indicam que a inoculação com Bt promoveu um aumento significativo na germinação e na velocidade de germinação das sementes, além de impactar o crescimento da parte aérea e o peso seco das plântulas. No entanto, houve variação no desempenho entre as diferentes cepas e tipos de tratamento (caldo ou fosfato), sugerindo que os efeitos são dependentes da cepa e do meio de cultivo.

A inoculação de sementes aumentou o rendimento da cultura, e isso pode estar ligado à capacidade das cepas bacterianas de se adaptarem e sobreviverem a condições adversas. Nossos estudos atuais se alinham com a literatura, que afirma que as culturas em condições naturalmente estressadas pela seca são berços convenientes de bactérias tolerantes à seca com perspectivas de aumento do crescimento das plantas (Agunbiade et al., 2024).

Nos dois experimentos, as sementes inoculadas com Bt apresentaram taxas de germinação superiores aos controles. No primeiro experimento, os maiores valores de germinação foram observados nos tratamentos Fosfato Bt 2 (62,67%) e Fosfato Bt 6 (56%), enquanto no segundo experimento, os tratamentos Fosfato Bt 11 e Fosfato Bt 12 (76%) e Fosfato Bt 9 (74,67%) apresentaram os melhores desempenhos.

O tratamento das plantas com produtos à base de bactérias produtoras de AIA induz a proliferação de raízes laterais e pêlos radiculares, além de aumentar a taxa de germinação (Mohite, 2013).

O IVG seguiu um padrão semelhante, com valores elevados para Fosfato Bt 6 (12,55) no primeiro experimento e Fosfato Bt 12 (13,77) no segundo experimento, confirmando que as cepas Bt não apenas aumentam a germinação, mas também aceleram esse processo, o que pode ser fundamental para garantir um rápido estabelecimento da cultura no campo.

O impacto fitoestimulatório do AIA na melhoria do crescimento das plantas é explicado pela estimulação do desenvolvimento das raízes das plantas e pelo aumento da área de superfície em relação ao volume das raízes, o que, consequentemente, resulta em uma melhor absorção de água e nutrientes, levando a maiores rendimentos (Wagi & Ahmed, 2019).

Esse efeito pode estar relacionado à produção de ácido indolacético (AIA) pelas cepas Bt, que atua na estimulação da divisão celular e no crescimento radicular, bem como à solubilização de fosfato, melhorando a disponibilidade de nutrientes essenciais para o metabolismo inicial da semente (Cheng et al., 2024).

A altura da parte aérea das plântulas foi significativamente influenciada pelos tratamentos com Bt, especialmente nos tratamentos fosfatados. No primeiro experimento, os valores mais altos foram encontrados no tratamento Fosfato Bt 6 (1,35 cm), enquanto no segundo experimento, os tratamentos Controle Fosfato (2,70 cm) e Fosfato Bt 12 (2,64 cm) apresentaram os melhores desempenhos.

Em relação ao peso seco, os tratamentos com Bt também demonstraram superioridade, com Caldo Bt 12 (0,02499 g) e Fosfato Bt 12 (0,02499 g) no segundo experimento apresentando os maiores valores. Esses resultados estão em consonância com a pesquisa feita por Hernández-Huerta et al. (2023), que avaliou cepas que aumentaram o peso seco de raízes, caules e folhas em 46,1%, 45,4% e 37,8%, respectivamente, em comparação com as mudas do controle absoluto e do produto comercial. Além disso, Lata et al., (2024) demonstraram que o peso seco das raízes aumentou 273% com a cepa GAC-92, 231% com GAC-61 e 228% com GAC-73, enquanto GAC-22 reduziu o peso seco em 62% em comparação com o controle não inoculado. Esses resultados sugerem que as cepas Bt promovem melhor desenvolvimento e alocação de biomassa nas plântulas, permitindo um crescimento mais vigoroso.

A melhora no crescimento da parte aérea pode estar associada à produção de metabólitos secundários e fitormônios pelas bactérias, além da formação de biofilme e colonização eficiente da rizosfera, que aumentam a absorção de água e nutrientes (Aloo et al., 2019; Ríos-Ruiz et al., 2024).

Ao comparar os tratamentos em meio caldo e meio fosfatado, observa-se que os tratamentos com fosfato solubilizado por Bt apresentaram melhor desempenho na maioria dos parâmetros analisados, incluindo germinação, IVG e crescimento da parte aérea. Esse resultado indica que, além dos possíveis efeitos hormonais promovidos pelas cepas, a disponibilização de fósforo foi um fator determinante para o sucesso do crescimento inicial das plântulas (Devika et al., 2021; P. Kumar et al., 2022).

A literatura confirma que a solubilização de fosfato por rizobactérias melhora a absorção de fósforo, um nutriente essencial para o crescimento radicular e a divisão celular. Assim, as plântulas inoculadas com essas cepas podem ter experimentado maior absorção de fósforo disponível, promovendo um crescimento mais robusto (Huei-Ru Lin, 2014).

Além disso, foi observado que algumas cepas cultivadas em meio fosfatado apresentaram desempenho superior ao de outras cultivadas em caldo, possivelmente devido à ativação de genes associados ao metabolismo do triptofano e à produção de AIA (Paul et al., 2022). Esse mecanismo pode explicar o aumento da ramificação radicular e do desenvolvimento da parte aérea observado nas plântulas inoculadas (Carril et al., 2024).

Os elevados níveis de produção de AIA pelas cepas BT12 e T24 (24h) indicam que essas linhagens podem ser exploradas no desenvolvimento de biofertilizantes à base de *Bacillus* para aplicação agrícola. No entanto, a queda na produção após 48h para algumas linhagens sugere a necessidade de otimização das condições de cultivo para garantir uma produção sustentada. Dessa forma, os resultados desta pesquisa reforçam a importância do uso de microrganismos promotores de crescimento vegetal (PGPBs) para aplicações agrícolas sustentáveis, destacando o potencial biotecnológico das cepas BT12 e T24 como agentes promotores do crescimento vegetal.

4.2.3 Atividade enzimática dos Bts

a) Atividade Enzimática Proteolítica

A atividade enzimática proteolítica foi avaliada por meio da formação de halos de degradação de proteínas ao redor das colônias de *Bacillus thuringiensis* em meio sólido. Quanto maior a capacidade de produção de proteases, maior o diâmetro das zonas de halo (Pathak et al., 2021). A análise do índice enzimático proteolítico mostrou que os dados seguem uma distribuição normal no teste de Shapiro-Wilk com 5% de significância, permitindo uma interpretação estatística confiável dos resultados.

Entre as cepas testadas, Bt 1 apresentou o maior índice enzimático proteolítico (1.710229mm), sugerindo uma atividade proteolítica significativa, compatível com os achados de Vlajkov et al., (2022), que relataram atividades proteolíticas variando entre 1 e 2 mm de diâmetro na zona de hidrólise, com algumas cepas superando 40 mm. Pathak et al., (2021) também relataram que todas as cepas testadas produziram proteases, evidenciado pela formação de halos ao redor das colônias em meio de ágar leite desnatado.

Esses resultados são consistentes com o potencial das *Bacillus spp.* em produzir proteases com aplicações industriais em detergentes e alimentos (Degli-Innocenti et al., 2023). No presente estudo, a produção de proteases por *Bacillus sp.* BioSol021 foi investigada não apenas para degradação de substratos complexos no solo, mas também para aumento da

atividade antifúngica, com valores de atividade enzimática (EAI) variando de 1,06 a 3,51 (Vlajkov et al., 2022).

A cepa Bt 10 (1.356266) também apresentou boa atividade proteolítica, embora inferior à Bt 1. As cepas Bt 11, Bt 12, Bt 9 e Bt 2 apresentaram índices enzimáticos entre 1.2 e 1.4, indicando atividade moderada, enquanto Bt T24, Bt 8, Bt 3, Bt 4, Bt 5, Bt 6 e Bt 7 demonstraram índices mais baixos (~ 1.2), sugerindo menor capacidade de degradação proteica. A protease, ao hidrolisar ligações peptídicas, pode atuar na lise de fungos patogênicos, contribuindo como agente de biocontrole (HANKIN e ANAGNOSTAKIS, 1975; Pathak et al., 2021).

b) Atividade Enzimática Amilolítica

As cepas de *Bacillus thuringiensis* testadas apresentaram formação de halos em meio amilolítico, indicando presença de atividade enzimática. No entanto, os halos formados foram pouco expressivos, sugerindo que a produção de amilase foi moderada ou baixa. Essa baixa expressão pode estar relacionada às condições do meio de cultivo, como pH, temperatura e fonte de carbono.

A otimização dessas condições pode ser um caminho para aumentar a expressão da enzima e explorar seu potencial em aplicações industriais, como na produção de biocombustíveis e na indústria alimentícia.

c) Atividade Enzimática Celulolítica

No teste de atividade celulolítica, observou-se crescimento das colônias sem formação de halos, sugerindo uma produção limitada de celulasas. Estudos anteriores indicam que a degradação eficiente da celulose requer uma interação complexa entre endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases (Vlajkov et al., 2022). Isso sugere que a baixa expressão da celulase pode ser resultado da ausência de um ou mais desses componentes enzimáticos.

A atividade celulolítica tem potencial em aplicações biotecnológicas, incluindo a produção de biocombustíveis. Assim, ajustes nas condições de cultivo e seleção de substratos específicos podem maximizar essa atividade.

d) Atividade Enzimática Lipolítica

No teste lipolítico, não foi observado crescimento das cepas nem formação de halos, indicando ausência de atividade lipolítica significativa. Isso sugere que as linhagens de *Bacillus thuringiensis* testadas não possuem um sistema enzimático adequado para a degradação de lipídeos no meio utilizado. A atividade lipolítica é essencial em processos industriais, como tratamento de óleos e gorduras, sendo um critério relevante para futuras seleções de linhagens (SIERRA, 1956).

d) Atividade Esterase em Meio LB e TSA

A atividade esterase foi confirmada em meio LB, com a formação de halos ao redor das colônias. No entanto, essa atividade não foi observada em meio TSA, sugerindo que as condições de cultivo impactam diretamente a expressão dessas enzimas. As esterases possuem ampla aplicação industrial, especialmente na indústria farmacêutica e química (Buzo et al., 2023; Wang et al., 2021). Estudos futuros podem explorar condições otimizadas para maximizar a produção dessas enzimas.

e) Solubilização de Fosfato Inorgânico

No teste de solubilização de fosfato inorgânico, não houve crescimento das cepas nem formação de halos, indicando baixa capacidade de solubilização de fosfato por *Bacillus thuringiensis*. A literatura sugere que a capacidade de solubilização de fosfato por *Bacillus* pode variar conforme o habitat de origem das cepas (Pathak et al., 2021). A solubilização de fosfato é essencial para aumentar a disponibilidade de nutrientes em solos pobres, sendo um fator relevante para a promoção do crescimento vegetal (Matos et al., 2017). Estudos futuros podem explorar modificações nas condições de cultivo para estimular essa atividade.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que as cepas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) apresentaram potencial significativo na produção de ácido indolacético (AIA), na promoção da germinação de sementes de tomateiro (“priming”) e em diferentes atividades enzimáticas.

Na análise da produção de AIA, verificou-se que as cepas produziram quantidades variáveis do fitormônio, indicando diferenças na capacidade de estimulação do crescimento vegetal. A produção desse regulador de crescimento é essencial para o desenvolvimento radicular e o aumento da absorção de nutrientes, podendo contribuir significativamente para a promoção do crescimento de plântulas.

No experimento de priming, as cepas de Bt demonstraram influência positiva na germinação e no crescimento inicial das plântulas de tomateiro. A análise estatística indicou diferenças significativas entre os tratamentos, com destaque para algumas cepas que promoveram maior índice de velocidade de germinação e crescimento da parte aérea das plântulas. Estes resultados reforçam a capacidade de *Bacillus thuringiensis* em atuar como promotor de crescimento vegetal.

As atividades enzimáticas das cepas de Bt evidenciaram diferenças no perfil metabólico dessas bactérias. A análise proteolítica mostrou valores do índice enzimático variáveis entre as cepas, indicando que algumas têm maior potencial de degradação de proteínas. No entanto, para outras atividades enzimáticas, como amilolítica, celulolítica e lipolítica, os resultados foram limitados, sugerindo que nem todas as cepas possuem a mesma capacidade degradativa. A atividade esterase foi observada em meio LB, mas não em meio TSA, evidenciando que o meio de cultivo pode influenciar a expressão das enzimas.

Os resultados obtidos reforçam o potencial de diferentes cepas de *Bacillus thuringiensis* na promoção do crescimento vegetal e na atividade enzimática, com aplicações promissoras na agricultura, especialmente no desenvolvimento de bioinsumos para melhorar a germinação de sementes e o crescimento inicial das plantas. O uso de Bt pode ser explorado para reduzir a dependência de fertilizantes sintéticos e melhorar a sustentabilidade agrícola.

No entanto, para validar plenamente esses resultados e ampliar sua aplicabilidade, estudos adicionais são necessários para compreender melhor os mecanismos envolvidos na produção de AIA e nas respostas enzimáticas. Investigações futuras devem considerar a interação dessas cepas com diferentes tipos de solo e culturas, além da sua capacidade de colonização e persistência no ambiente. Dessa forma, o aproveitamento de *Bacillus*

thuringiensis pode se tornar uma estratégia eficiente para a agricultura biotecnológica e sustentável.

6. CONCLUSÃO

Esta pesquisa caracterizou 12 cepas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) isoladas do LCBM, demonstrando seu potencial para aplicação em priming de sementes de tomateiro (*Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom). Os resultados revelaram que as cepas de Bt promovem benefícios agrônômicos significativos, onde o primeiro experimento teve os maiores valores de germinação foram observados nos tratamentos Fosfato Bt 2 (62,67%) e Fosfato Bt 6 (56%), enquanto no segundo experimento, os tratamentos Fosfato Bt 11 e Fosfato Bt 12 (76%) e Fosfato Bt 9 (74,67%) apresentaram os melhores desempenhos. Adicionalmente, foi constatada a maior produção de AIA pelas cepas de Bt 12 (LCBM12) e T24 (a comercial) que em 24h elas produziram maiores quantidades de AIA com uma média de 12,329233 e 11,337167 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente em relação a 48h teve 7,053750 e 9,887300 $\mu\text{g mL}^{-1}$, o que pode contribuir para o desenvolvimento do sistema radicular das plantas.

Esses resultados inovadores abrem perspectivas promissoras para o desenvolvimento de bioinsumos eficientes e sustentáveis para a agricultura. A tecnologia de priming de sementes com Bt representa uma alternativa promissora aos agroquímicos tradicionais, com potencial para reduzir os impactos ambientais e promover a produção de alimentos mais saudáveis.

No entanto, são necessários estudos adicionais para aprofundar a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na promoção do crescimento e na resistência a pragas, bem como para avaliar a eficácia das cepas de Bt em diferentes condições de solo, clima e cultivo. A investigação da interação das cepas de Bt com outros microrganismos do solo também é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de biocontrole mais eficientes e duradouras.

Acredita-se que esta pesquisa representa um avanço significativo na biotecnologia agrícola e contribui para o desenvolvimento de novas tecnologias inovadoras que podem impulsionar a segurança alimentar e a sustentabilidade da produção de alimentos. Os conhecimentos gerados nesta dissertação servem de base para futuras pesquisas e para o desenvolvimento de produtos biológicos mais eficientes e ecologicamente corretos.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Agunbiade, V. F., Fadiji, A. E., Agbodjato, N. A., & Babalola, O. O. (2024). **Isolation and Characterization of Plant-Growth-Promoting, Drought-Tolerant Rhizobacteria for Improved Maize Productivity.** *Plants*, 13(10). <https://doi.org/10.3390/plants13101298>
- Aiuchi, D., Tani, M., Koike, M., Qi, J., & Asano, S.-I. (2016). **Potential of Entomopathogenic *Bacillus thuringiensis* as Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Biological Control Agents for Tomato Fusarium Wilt.** In *International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR)* (ISSN (Vol. 2, Issue 6). <https://www.researchgate.net/publication/304629085>
- Aloo, B. N., Makumba, B. A., & Mbega, E. R. (2019). **The potential of Bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability.** In *Microbiological Research* (Vol. 219, pp. 26–39). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.011>
- Amruta, N., Prasanna Kumar, M. K., Kandikattu, H. K., Sarika, G., Puneeth, M. E., Ranjitha, H. P., Vishwanath, K., Manjunatha, C., Pramesh, D., Mahesh, H. B., & Narayanaswamy, S. (2019). **Bio-priming of rice seeds with novel bacterial strains, for management of seedborne *Magnaporthe oryzae* L.** *Plant Physiology Reports*, 24(4), 507–520. <https://doi.org/10.1007/s40502-019-00492-6>
- Arafa, S. A., Attia, K. A., Niedbała, G., Piekutowska, M., Alamery, S., Abdelaal, K., Alateeq, T. K., Ali, M. A. M., Elkelish, A., & Attallah, S. Y. (2021). **Seed priming boost adaptation in pea plants under drought stress.** *Plants*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/plants10102201>
- Arbige, M. V., Shetty, J. K., & Chotani, G. K. (2019). **Industrial Enzymology: The Next Chapter.** In *Trends in Biotechnology* (Vol. 37, Issue 12, pp. 1355–1366). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.09.010>
- Asiyat, B., Zemfira, M., Svyatoslav, S., & Lyubov, K. (2024). **Sustainable Agricultural Development: Theoretical Aspects.** *Lecture Notes in Networks and Systems*, 1130 LNNS, 450–461. https://doi.org/10.1007/978-3-031-70673-8_47
- Aswathi, K. P. R., Kalaji, H. M., & Puthur, J. T. (2022). **Seed priming of plants aiding in drought stress tolerance and faster recovery: a review.** In *Plant Growth Regulation* (Vol.

97, Issue 2, pp. 235–253). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s10725-021-00755-z>

Author, C. (2020). **Biopriming with bacterial inoculants on seed quality parameters of maize hybrid COH (M) 6 seeds.** ~ 3340 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(4), 3340–3343. www.phytojournal.com

Azizoglu, U., Salehi Jouzani, G., Sansinenea, E., & Sanchis-Borja, V. (2023). **Biotechnological advances in *Bacillus thuringiensis* and its toxins: Recent updates.** In *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* (Vol. 22, Issue 2, pp. 319–348). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11157-023-09652-5>

Buzo, F. H., Fernando, ·, Cedenro, R. P., Brienzo, · Michel, & Fernando Masarin, ·. (2023). **Application of Enzyme Preparation as a Coadjuvant in the Control of Foam Formation in the Bioethanol Industrial Fermentation Process.** *BioEnergy Research*, 1, 3. <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10664-w>

Carvalho, R. F., Campos, M. L., Pino, L. E., Crestana, S. L., Zsögön, A., Lima, J. E., Benedito, V. A., & Peres, L. E. (2011). **Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: “Micro-Tom” as an effective toolkit for plant development research.** <http://www.plantmethods.com/content/7/1/18>

Cheng, Q., Sun, S., Ning, X., Qiao, M., Chen, W., Zhang, P., Liu, K., & Ding, Y. (2024). **A Synergistic Indole-3-Acetic Acid-Producing Synthetic Bacterial Consortium Benefits Walnut Seedling Growth.** *Agronomy*, 14(8). <https://doi.org/10.3390/agronomy14081657>

Choi, J. Y., Ju, Y. H., Nakamichi, A., Cho, S. W., Woo, S. H., & Sakagami, J. I. (2024). **Effect of Seed Hydropriming on the Elongation of Plumule and Radicle During the Germination Process and Changes in Enzyme Activity Under Water-Deficient Conditions.** *Plants*, 13(24). <https://doi.org/10.3390/plants13243537>

Clagnan, E., Costanzo, M., Visca, A., Di Gregorio, L., Tabacchioni, S., Colantoni, E., Sevi, F., Sbarra, F., Bindo, A., Nolfi, L., Magarelli, R. A., Trupo, M., Ambrico, A., & Bevivino, A. (2024). **Culturomics- and metagenomics-based insights into the soil microbiome preservation and application for sustainable agriculture.** In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1473666>

- Compant, S., Samad, A., Faist, H., & Sessitsch, A. (2019). **A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application.** In *Journal of Advanced Research* (Vol. 19, pp. 29–37). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.004>
- da Silva, D. M. M., Santos, C. C., Wagner, F. E., Martins, L. O. M., Ozório, J. P. A., da Silva, O. A., Ribeiro, D. M., & Scalón, S. de P. Q. (2024a). **Seed biopriming with *Parachlorella*, *Bacillus subtilis*, and *Trichoderma harzianum* alleviates the effects of salinity in soybean.** *BMC Plant Biology*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05646-9>
- da Silva, D. M. M., Santos, C. C., Wagner, F. E., Martins, L. O. M., Ozório, J. P. A., da Silva, O. A., Ribeiro, D. M., & Scalón, S. de P. Q. (2024b). **Seed biopriming with *Parachlorella*, *Bacillus subtilis*, and *Trichoderma harzianum* alleviates the effects of salinity in soybean.** *BMC Plant Biology*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05646-9>
- Danilova, I., & Sharipova, M. (2020). **The practical potential of bacilli and their enzymes for industrial production.** In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01782>
- de Andrade, L. A., Santos, C. H. B., Frezarin, E. T., Sales, L. R., & Rigobelo, E. C. (2023). **Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production.** In *Microorganisms* (Vol. 11, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>
- Degli-Innocenti, F., Breton, T., Chinaglia, S., Esposito, E., Pecchiari, M., Pennacchio, A., Pischedda, A., & Tosin, M. (2023). **Microorganisms that produce enzymes active on biodegradable polyesters are ubiquitous.** *Biodegradation*, 34, 489–518. <https://doi.org/10.1007/s10532-023-10031-8>
- Devika, O. S., Singh, S., Sarkar, D., Barnwal, P., Suman, J., & Rakshit, A. (2021). **Seed Priming: A Potential Supplement in Integrated Resource Management Under Fragile Intensive Ecosystems.** In *Frontiers in Sustainable Food Systems* (Vol. 5). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.654001>
- Dubey, A. (2025, May 3). **Sustainable Agriculture.** The Editors of Encyclopedia Britannica.
- Fasusi, O. A., Cruz, C., & Babalola, O. O. (2021). **Agricultural sustainability: Microbial biofertilizers in rhizosphere management.** In *Agriculture (Switzerland)* (Vol. 11, Issue 2, pp. 1–19). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020163>

- Forti, C., Shankar, A., Singh, A., Balestrazzi, A., Prasad, V., & Macovei, A. (2020). **Hydropriming and biopriming improve medicago truncatula seed germination and upregulate dna repair and antioxidant genes.** *Genes*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/genes11030242>
- Ganesh, J., Hewitt, K., Devkota, A. R., Wilson, T., & Kaundal, A. (2024). **IAA-producing plant growth promoting rhizobacteria from Ceanothus velutinus enhance cutting propagation efficiency and Arabidopsis biomass.** *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1374877>
- Glickmann, E., & Dessaux, Y. (1995). **A Critical Examination of the Specificity of the Salkowski Reagent for Indolic Compounds Produced by Phytopathogenic Bacteria.** In *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* (Vol. 61, Issue 2). <https://journals.asm.org/journal/aem>
- Gordon, S. A., & Weber, R. P. (1950). **COLORIMETRIC ESTIMATION OF INDOLEACETIC ACID (WITH ONE FIGURE).**
- Granata, A., Capozzi, F., Gaglione, A., Riccardi, R., Spigno, P., Giordano, S., Sorrentino, M. C., & Spagnuolo, V. (2024). **Seed priming enhances seed germination and plant growth in four neglected cultivars of Capsicum annuum L.** *PeerJ*, 12(10). <https://doi.org/10.7717/peerj.18293>
- Gunapala, R., Gangahagedara, R., Wanasinghe, W. C. S., Samaraweera, A. U., Gamage, A., Rathnayaka, C., Hameed, Z., Baki, Z. A., Madhujith, T., & Merah, O. (2025). **Urban agriculture: A strategic pathway to building resilience and ensuring sustainable food security in cities.** In *Farming System* (Vol. 3, Issue 3). China Agricultural University. <https://doi.org/10.1016/j.farsys.2025.100150>
- Gupta, S., Brazier, A. K. M., & Lowe, N. M. (2020). **Zinc deficiency in low- and middle-income countries: prevalence and approaches for mitigation.** In *Journal of Human Nutrition and Dietetics* (Vol. 33, Issue 5, pp. 624–643). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jhn.12791>
- Habibi, N., Aryan, S., Amin, M. W., Sanada, A., Terada, N., & Koshio, K. (2023). **Potential Benefits of Seed Priming under Salt Stress Conditions on Physiological, and Biochemical**

Attributes of Micro-Tom Tomato Plants. *Plants*, 12(11).
<https://doi.org/10.3390/plants12112187>

HANKIN, L., & ANAGNOSTAKIS, S. L. (1975). *The use of solid media for detection of enzyme production by fungi*. (Mycologia, Vol. 67).

Hernández-Huerta, J., Tamez-Guerra, P., Gomez-Flores, R., Delgado-Gardea, M. C. E., Robles-Hernández, L., Gonzalez-Franco, A. C., & Infante-Ramirez, R. (2023). **Pepper growth promotion and biocontrol against *Xanthomonas euvesicatoria* by *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* formulations.** *PeerJ*, 11. <https://doi.org/10.7717/peerj.14633>

Hou, J., Liao, K., Zhang, Y. J., Li, J. Z., & Wei, H. L. (2024). **Phenotypic and Genomic Characterization of *Pseudomonas wuhanensis* sp. nov., a Novel Species with Promising Features as a Potential Plant Growth-Promoting and Biocontrol Agent.** *Microorganisms*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12050944>

Hussain, S., Ahmed, S., Akram, W., Sardar, R., Abbas, M., & Yasin, N. A. (2024). **Selenium-Priming mediated growth and yield improvement of turnip under saline conditions.** *International Journal of Phytoremediation*, 26(5), 710–726.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2023.2261548>

Jannat, M., Auyon, S. T., Tushar, A. S. M., Tonny, S. H., Hasan, M. H., Shahi, M., Singha, U. R., Sultana, A., Akter, S., & Islam, M. R. (2024). **Seed Priming with Rhizospheric *Bacillus subtilis*: A Smart Strategy for Reducing Fumonisin Contamination in Pre-Harvest Maize.** *Toxins*, 16(8). <https://doi.org/10.3390/toxins16080337>

Kaushal, K., Rajani, K., Kumar, R. R., Ranjan, T., Kumar, A., Ahmad, M. F., Kumar, V., Kumar, V., & Kumar, A. (2024). **Physio-biochemical responses and crop performance analysis in chickpea upon botanical priming.** *Scientific Reports*, 14(1).
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-59878-8>

Khan, A. R., Mustafa, A., Hyder, S., Valipour, M., Rizvi, Z. F., Gondal, A. S., Yousuf, Z., Iqbal, R., & Daraz, U. (2022). ***Bacillus* spp. as Bioagents: Uses and Application for Sustainable Agriculture.** In *Biology* (Vol. 11, Issue 12). MDPI.
<https://doi.org/10.3390/biology11121763>

Khan, N. F., & Rehman, S. (2021). **Understanding sustainable agriculture**. *Sustainable Agriculture: Technical Progressions and Transitions*, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-3-030-83066-3_1

Khan, N. F., & Rehman, S. (2022). **Understanding Sustainable Agriculture**. *Sustainable Agriculture: Technical Progressions and Transitions*, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-3-030-83066-3_1

Kiani Dehkian, Z., Taheri, H., Pakdaman Sardrood, B., & Farkhari, M. (2024). **Controlling Tomato Fusarium Wilt Disease through Bacillus thuringiensis-Mediated Defense Priming**. *Iranian Journal of Biotechnology*, 22(1), 11–20. <https://doi.org/10.30498/ijb.2024.394291.3690>

Kumar, P., Patel, P. K., & Sonkar, M. K. (2022). **Propagation through juvenile shoot cuttings in difficult-to-root Dalbergia latifolia – examining role of endogenous IAA in adventitious rooting**. *Plant Physiology Reports*, 27(2), 242–249. <https://doi.org/10.1007/s40502-022-00664-x>

Kumar, S., Arutselvan, R., Greeshma, K., Bodhankar, S., Akash, A. U., Prasad, V. S. S. K., Nehela, Y., Singh, U. B., Bhupenchandra, I., Sen, A., Rajput, L. S., Burachevskaya, M., Minkina, T., & Keswani, C. (2024). Unraveling the Seed Bio-priming Contours for Managing Plant Health. *Journal of Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11277-z>

Kumar, S., & Sindhu, S. S. (2024). **Drought stress mitigation through bioengineering of microbes and crop varieties for sustainable agriculture and food security**. In *Current Research in Microbial Sciences* (Vol. 7). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100285>

Lata, D. L., Abdie, O., & Rezene, Y. (2024). **IAA-producing bacteria from the rhizosphere of chickpea (Cicer arietinum L.): Isolation, characterization, and their effects on plant growth performance**. *Heliyon*, 10(21). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e39702>

Leibman-Markus, M., Schneider, A., Gupta, R., Marash, I., Rav-David, D., Carmeli-Weissberg, M., Elad, Y., & Bar, M. (2023). **Immunity priming uncouples the growth-defense trade-off in tomato**. *Development (Cambridge)*, 150(21). <https://doi.org/10.1242/dev.201158>

- Lemmens, E., Deleu, L. J., De Brier, N., De Man, W. L., De Proft, M., Prinsen, E., & Delcour, J. A. (2019). **The Impact of Hydro-Priming and Osmo-Priming on Seedling Characteristics, Plant Hormone Concentrations, Activity of Selected Hydrolytic Enzymes, and Cell Wall and Phytate Hydrolysis in Sprouted Wheat (*Triticum aestivum* L.)**. *ACS Omega*, 4(26), 22089–22100. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03210>
- Li, L., Liu, K., Lan, F., Xiao, W., Wang, B., Zhou, J., Zhang, J., Wen, Y., Wang, X., & Shi, X. (2025). **A Study on the Preparation of Multifunctional *Bacillus* spp. Composite Inoculants and Their Ability to Promote Watermelon Growth**. *Agronomy*, 15(2), 350. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020350>
- Li, X., Tao, H., Wang, S., Zhang, D., Xiong, X., & Cai, Y. (2024). **IAA Synthesis Pathway of *Fitibacillus barbaricus* WL35 and Its Regulatory Gene Expression Levels in Potato (*Solanum tuberosum* L.)**. *Microorganisms*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12081530>
- Liu, Y., Yue, Z., Sun, Z., & Li, C. (2023). **Harnessing Native *Bacillus* spp. for Sustainable Wheat Production**. In *Applied and Environmental Microbiology* (Vol. 89, Issue 2). American Society for Microbiology. <https://doi.org/10.1128/aem.01247-22>
- Lu, P., Jiang, K., Hao, Y. Q., Chu, W. Y., Xu, Y. D., Yang, J. Y., Chen, J. Le, Zeng, G. H., Gu, Z. H., & Zhao, H. X. (2021). **Profiles of *Bacillus* spp. Isolated from the rhizosphere of *Suaeda glauca* and their potential to promote plant growth and suppress fungal phytopathogens**. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(9), 1231–1240. <https://doi.org/10.4014/jmb.2105.05010>
- Maitra, S., Brestic, M., Bhadra, P., Shankar, T., Praharaj, S., Palai, J. B., Shah, M. M. R., Barek, V., Ondrisik, P., Skalický, M., & Hossain, A. (2022). **Bioinoculants—natural biological resources for sustainable plant production**. In *Microorganisms* (Vol. 10, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010051>
- Mamedì, A., Sharifzadeh, F., Maali-Amiri, R., Divargar, F., & Rasoulnia, A. (2022). **Seed osmopriming with Ca²⁺ and K⁺ improves salt tolerance in quinoa seeds and seedlings by amplifying antioxidant defense and ameliorating the osmotic adjustment process**. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(1), 251–274. <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01125-3>

- Marthandan, V., Geetha, R., Kumutha, K., Renganathan, V. G., Karthikeyan, A., & Ramalingam, J. (2020). **Seed priming: A feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants.** In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 21, pp. 1–23). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21218258>
- Matos, A. D. M., Gomes, I. C. P., Nietsche, S., Xavier, A. A., Gomes, W. S., dos Santos Neto, J. A., & Pereira, M. C. T. (2017). **Phosphate solubilization by endophytic bacteria isolated from banana trees.** *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 89(4), 2945–2954. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160111>
- Melo, A. L. D. A., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2016a). **Bacillus thuringiensis: Mechanism of action, resistance, and new applications: A review.** In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 36, Issue 2, pp. 317–326). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.960793>
- Melo, A. L. D. A., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2016b). **Bacillus thuringiensis: Mechanism of action, resistance, and new applications: A review.** In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 36, Issue 2, pp. 317–326). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.960793>
- Miladinov, Z., Maksimović, I., Balešević-Tubić, S., Đukić, V., Nikolić, Z., Milošević, B., & Katanski, S. (2020). **Priming seeds-method for increasing the germination of soybean seeds under drought stress conditions.** *Acta Agriculturae Serbica*, 25(50), 105–111. <https://doi.org/10.5937/aaser2050105m>
- Miljaković, D., Marinković, J., Tamindžić, G., Milošević, D., Ignjatov, M., Karačić, V., & Jakšić, S. (2024). **Bio-Priming with Bacillus Isolates Suppresses Seed Infection and Improves the Germination of Garden Peas in the Presence of Fusarium Strains.** *Journal of Fungi*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/jof10050358>
- Mitra, D., Mondal, R., Khoshru, B., Shadangi, S., Das Mohapatra, P. K., & Panneerselvam, P. (2021). **Rhizobacteria mediated seed bio-priming triggers the resistance and plant growth for sustainable crop production.** In *Current Research in Microbial Sciences* (Vol. 2). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100071>

- Mohite, B. (2013). **Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth.** In *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* (Vol. 13, Issue 3).
- Munonye, J. O., & Eze, G. C. (2022). **The Concept of Sustainable Agriculture.** In *World Sustainability Series* (pp. 3–15). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. https://doi.org/10.1007/978-3-030-98617-9_1
- Nicholson, W. L. (2002). ***Roles of Bacillus endospores in the environment.***
- Pagano, A., Macovei, A., & Balestrazzi, A. (2023). **Molecular dynamics of seed priming at the crossroads between basic and applied research.** In *Plant Cell Reports* (Vol. 42, Issue 4, pp. 657–688). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00299-023-02988-w>
- Pathak, E., Sanjyal, A., Regmi, C. R., Paudel, S., & Shrestha, A. (2021). **Screening of Potential Plant Growth Promoting Properties of Bacillus Species Isolated from Different Regions of Nepal.** *Nepal Journal of Biotechnology*, 9(1), 79–84. <https://doi.org/10.3126/njb.v9i1.38672>
- Paul, S., Dey, S., & Kundu, R. (2022). **Seed priming: an emerging tool towards sustainable agriculture.** In *Plant Growth Regulation* (Vol. 97, Issue 2, pp. 215–234). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s10725-021-00761-1>
- Peterson, P. S., de Medeiros, F. H. V., de Oliveira, T. S., de Almeida Zago, J. R., & Bettiol, W. (2023). **Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis promote tomato growth.** *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(1), 397–406. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00874-3>
- Pino, L. E., Lombardi-Crestana, S., Azevedo, M. S., Scotton, D. C., Borgo, L., Quecini, V., Figueira, A., & Peres, L. E. (2010). **The Rg1 allele as a valuable tool for genetic transformation of the tomato “Micro-Tom” model system.** <http://www.plantmethods.com/content/6/1/23>
- Pooniyan, S., Yadav, R., & Gora, R. (2023). **SUSTAINABLE AGRICULTURAL PRACTICES.** <https://www.researchgate.net/publication/370817047>
- Rahmani, F., Hummel, M., Schuurmans, J., Wiese-Klinkenberg, A., Smeeckens, S., & Hanson, J. (2009). **Sucrose control of translation mediated by an upstream open reading frame-**

encoded peptide. *Plant Physiology*, 150(3), 1356–1367.
<https://doi.org/10.1104/pp.109.136036>

Raj, A. B., & Raj, S. K. (2019). **Seed priming: An approach towards agricultural sustainability.** *Journal of Applied and Natural Science*, 11(1), 227–234.
<https://doi.org/10.31018/jans.v11i1.2010>

Ríos-Ruiz, W. F., Tarrillo-Chujutalli, R. E., Rojas-García, J. C., Tuanama-Reátegui, C., Pompa-Vásquez, D. F., & Zumaeta-Arévalo, C. A. (2024). **The Biotechnological Potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Isolated from Maize (*Zea mays* L.) Cultivations in the San Martin Region, Peru.** *Plants*, 13(15). <https://doi.org/10.3390/plants13152075>

Sghayar, S., Debez, A., Lucchini, G., Abruzzese, A., Zorrig, W., Negrini, N., Morgutti, S., Abdelly, C., Sacchi, G. A., Pecchioni, N., & Vaccino, P. (2023). **Seed priming mitigates high salinity impact on germination of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by improving carbohydrate and protein mobilization.** *Plant Direct*, 7(6). <https://doi.org/10.1002/pld3.497>

Shaffique, S., Khan, M. A., Wani, S. H., Imran, M., Kang, S. M., Pande, A., Adhikari, A., Kwon, E. H., & Lee, I. J. (2022). **Biopriming of Maize Seeds with a Novel Bacterial Strain SH-6 to Enhance Drought Tolerance in South Korea.** *Plants*, 11(13).
<https://doi.org/10.3390/plants11131674>

SIERRA, G. (1956). **A SIMPLE METHOD FOR THE DETECTION OF LIPOLYTIC ACTIVITY OF MICRO-ORGANISMS AND SOME OBSERVATIONS ON THE INFLUENCE OF THE CONTACT BETWEEN CELLS AND FATTY SUBSTRATES** 1) by GONZALO SIERRA 2).

Silva, V. N., Bernardes, M. M., Pereira, A. A. S., Ferreira, R. A., Pereira, E. G., & Bicalho, E. M. (2023). **Seed Priming of *Handroanthus heptaphyllus* for the Restoration of the Mining Fields.** *Water, Air, and Soil Pollution*, 234(1). <https://doi.org/10.1007/s11270-022-06032-7>

Souza, C. S. F., Silveira, L. C. P., Paula, D. P., Andow, D. A., & Mendes, S. M. (2018). **Transfer of Cry1F from Bt maize to eggs of resistant *Spodoptera frugiperda*.** *PLoS ONE*, 13(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203791>

STAMFORD, T. L. M., ARAÚJO, J. M., & STAMFORD, N. P. (1999). **ENZYMATIC ACTIVITY OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM YAM BEAN LEGUME (*Pachyrhizus erosus* L. Urban).** *SciELO - Scientific Electronic Library Online*.

Suárez-Barrera, M. O., Visser, L., Rondón-Villarreal, P., Herrera-Pineda, D. F., Alarcón-Aldana, J. S., Van den Berg, A., Orozco, J., Pinzón-Reyes, E. H., Moreno, E., & Rueda-Forero, N. J. (2021). **Genetic modification approaches for parasporins bacillus thuringiensis proteins with anticancer activity.** In *Molecules* (Vol. 26, Issue 24). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules26247476>

Suliasih, & Widawati, S. (2020). **Isolation of indole acetic acid (IAA) producing *Bacillus siamensis* from peat and optimization of the culture conditions for maximum IAA production.** *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 572(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/572/1/012025>

Tanwar, H., Mor, V. S., Sharma, S., Khan, M., Bhuker, A., Singh, V., Yadav, J., Sangwan, S., Singh, J., Yashveer, S., & Singh, K. (2023). **Optimization of ‘on farm’ hydropriming conditions in wheat: Soaking time and water volume have interactive effects on seed performance.** *PLoS ONE*, 18(1 January). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280962>

Tarchoun, N., Saadaoui, W., Hamdi, K., Falleh, H., Pavli, O., Ksouri, R., & Petropoulos, S. A. (2024). **Seed Priming and Biopriming in Two Squash Landraces (*Cucurbita maxima* Duchesne) from Tunisia: A Sustainable Strategy to Promote Germination and Alleviate Salt Stress.** *Plants*, 13(17). <https://doi.org/10.3390/plants13172464>

Teather, R. M., & Wood, P. J. (1982). **Use of Congo Red-Polysaccharide Interactions in Enumeration and Characterization of Cellulolytic Bacteria from the Bovine Rument.** In *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* (Vol. 43, Issue 4).

Teixeira, A. L. (2022). **Sistemas agrícolas mais sustentáveis.** In: *Plataforma Visão de Futuro Do Agro*. <https://www.embrapa.br/visao-de-futuro/sustentabilidade/sinal-e-tendencia/sistemas-agricolas-mais-sustentaveis>

Thepbandit, W., & Athinuwat, D. (2024). **Rhizosphere Microorganisms Supply Availability of Soil Nutrients and Induce Plant Defense.** In *Microorganisms* (Vol. 12, Issue 3). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030558>

- Tsotetsi, T., Nephali, L., Malebe, M., & Tugizimana, F. (2022). **Bacillus for Plant Growth Promotion and Stress Resilience: What Have We Learned?** In *Plants* (Vol. 11, Issue 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants11192482>
- Udayanga, S., Bellanthudawa, B. K. A., & Perera, N. (2024). **Climate Change, Hunger, and Food Security in the Global South.** *The Palgrave Handbook of Global Social Change*, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-3-030-87624-1_409-1
- Vlajkov, V., Pajčin, I., Loc, M., Budakov, D., Dodić, J., Grahovac, M., & Grahovac, J. (2022). **The Effect of Cultivation Conditions on Antifungal and Maize Seed Germination Activity of Bacillus-Based Biocontrol Agent.** *Bioengineering*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/bioengineering9120797>
- Voccianti, M., Grifoni, M., Fusini, D., Petruzzelli, G., & Franchi, E. (2022). **The Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Mitigating Plant's Environmental Stresses.** In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/app12031231>
- Vojnovic, S., Aleksic, I., Ilic-Tomic, T., Stevanovic, M., & Nikodinovic-Runic, J. (2024). **Bacillus and Streptomyces spp. as hosts for production of industrially relevant enzymes.** In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 108, Issue 1). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12900-x>
- Wagi, S., & Ahmed, A. (2019). **Bacillus spp.: Potent microfactories of bacterial IAA.** *PeerJ*, 2019(7). <https://doi.org/10.7717/peerj.7258>
- Wang, L., Huang, W., Sha, Y., Yin, H., Liang, Y., Wang, X., Shen, Y., Wu, X., Wu, D., & Wang, J. (2021). **Co-cultivation of two bacillus strains for improved cell growth and enzyme production to enhance the degradation of aflatoxin b1.** *Toxins*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/toxins13070435>
- Wang, L., Lin, H., Dong, Y., Li, B., & He, Y. (2020). **Effects of endophytes inoculation on rhizosphere and endosphere microecology of Indian mustard (Brassica juncea) grown in vanadium-contaminated soil and its enhancement on phytoremediation.** *Chemosphere*, 240. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124891>

Yamamoto, T. (2022). **Engineering of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins.** *Journal of Pesticide Science*, 47(2), 47–58. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D22-016>

APÊNDICES

Apêndice A: Tabela de concentração de AIA em cepas de Bts obtidas

DIFERENÇA DE MEDIAS	CEPA	Médias (ppm)
A	BT12 (24h)	12,329233
A	T24 (24h)	11,337167
B	T24 (48h)	9,887300
C	BT9 (48h)	8,848233
C	BT10 (48h)	8,522350
C	BT11 (48h)	8,914900
D	BT3 (24h)	6,869167
D	BT4 (48h)	7,680600
D	BT12 (48h)	7,053750
E	BT4 (24h)	4,973233
E	BT6 (24h)	5,585150
E	BT6 (48h)	6,319450
E	BT11 (24h)	4,912000
F	BT1 (48h)	4,483700
F	BT2 (24h)	3,504633
F	BT2 (48h)	3,749400
F	BT3 (48h)	4,483700
F	BT5 (24h)	3,305167
F	BT5 (48h)	3,382250
F	BT7 (48h)	4,205600
F	BT8 (24h)	3,749400
F	BT9 (24h)	3,994167
F	BT10 (24h)	4,116550
G	BT1 (24h)	1,596500
G	BT7 (24h)	2,647950
G	BT8 (48h)	0,821100

Apêndice B: Tabela de Priming do primeiro e segundo experimento

Tratamento	Germinação de sementes	Índice de Velocidade de Germinação	Parte Aérea	Peso
Controle Água	36.00000	6.003175	1.0370370	0.014089285
Controle Caldo	44.00000	7.414021	0.9776094	0.014148864
Controle Fosfato	48.00000	7.426070	1.1644444	0.013880000
Fosfato Bt 2	62.66667	12.045767	0.9669312	0.011356349
Fosfato Bt 6	56.00000	12.555556	1.3466667	-----
Fosfato Bt 7	53.33333	12.182828	0.8750000	-----
Fosfato Bt 4	52.00000	10.500400	0.6750000	0.005459167
Caldo Bt 6	50.66667	9.017857	0.6540404	0.010177889
Fosfato Bt 5	48.00000	11.288462	0.9079630	0.008498889
Caldo Bt 4	46.66667	8.661905	0.8085714	0.008626840
Fosfato Bt 3	45.33333	9.214286	-----	-----
Caldo Bt 5	41.33333	7.438889	1.3500000	0.012775000
Caldo Bt 7	41.33333	6.614286	0.6958333	-----
Caldo Bt 3	38.66667	5.736508	0.9366667	0.008562222
Caldo Bt 2	34.66667	5.592063	0.3033333	0.013100000

Tratamento	Germinação	Índice de Velocidade de Germinação	Parte Aérea	Peso
Controle Água	62.66667	9.112302	2.233589	0.01352113
Controle Caldo	62.66667	5.950036	2.115926	0.01203875
Controle Fosfato	76.00000	13.203319	2.707456	0.01969930
Caldo Bt 1	69.33333	12.101852	2.143163	0.01462870
Caldo Bt 10	69.33333	12.865212	2.127381	0.01554142
Caldo Bt 11	60.00000	11.811111	2.033333	0.02453709
Caldo Bt 12	74.66667	13.778968	2.300000	0.02499519
Caldo Bt 8	62.66667	10.623942	2.074709	0.01637580
Caldo Bt 9	69.33333	13.502116	2.046726	0.01698593
Caldo T24	64.00000	10.365608	2.062546	0.02366407
Fosfato Bt 1	70.66667	12.590608	2.315305	0.01655201
Fosfato Bt 10	69.33333	10.725397	1.964946	0.01450178
Fosfato Bt 11	76.00000	12.550794	1.920417	0.01700132
Fosfato Bt 12	72.00000	13.169180	2.640952	0.02499519
Fosfato Bt 8	68.00000	13.474747	2.348376	0.01690333
Fosfato Bt 9	74.66667	12.857720	2.233333	0.01698593
Fosfato Bt T24	66.66667	9.049892	2.143153	0.02224842
Fosfato Bt 11	76.00000	12.550794	1.920417	0.01700132

Tratamento	Germinação	Índice de Velocidade de Germinação	Parte Aérea	Peso
Fosfato Bt 12	72.00000	13.169180	2.640952	0.02499519
Fosfato Bt 8	68.00000	13.474747	2.348376	0.01690333
Fosfato Bt 9	74.66667	12.857720	2.233333	0.01698593
Fosfato Bt T24	66.66667	9.049892	2.143153	0.02224842