REVISTA TÓPICOS
ISSN 2965-6672 | Qualis A2

AVALIAÇÃO DE RISCO ECOTOXICOLÓGICO DE ESTIRPES BACTERIANAS ISOLADAS E EM CONSÓRCIOS EM ALFACE (LACTUCA SATIVA L.)

ECOTOXICOLOGICAL RISK ASSESSMENT OF ISOLATED BACTERIAL STRAINS AND CONSORTIA IN LETTUCE (LACTUCA SATIVA L.)

Ciências Biológicas, Ciências Agrárias, Ciências da Saúde • 28/11/2026

REGISTRO DOI: 10.70773/revistatopicos/795728421

Victor Augustus Marin[1]

Claudia Antonia Vieira Rossetto[2]

Piettra Alves Manso[3]

Silvia Emanuela Luiz Fernandes[4]

Rayany Pereira Pina da Silva[5]

Francisco Nader Barão[6]

Gabriela Guimarães Strang[7]

RESUMO

O protocolo internacional EPA 600/3-88/029 foi aplicado para avaliar riscos ecotoxicológicos de cinco estirpes bacterianas isoladas e três consórcios sobre sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). Sementes foram inoculadas com suspensões calibradas (1,5 × 10^8 UFC mL^{-1}) de CCBL 33 (*Pseudomonas oryzihabitans*), CCBL 84 (Klebsiella pasteurii), CCBL 04 (*Priestia megaterium*), CCBL 18 (*Bacillus subtilis*) e CCBL 36 (*Priestia aryabhattai*), dois consórcios (T4: 33+84; T8: 04+18+36) e um consórcio completo (T9: todas), além do controle (H_2O), incubadas no escuro a 23 °C por 120 h. Não houve fitotoxicidade aguda (raiz: P = 0,550; total: P = 0,481), e as cepas CCBL 33 e CCBL 84 foram classificadas como não patogênicas a humanos (PathogenFinder2 e software registrado no INPI) e susceptíveis a antibióticos críticos (cefalosporinas de 3ª/4ª geração e carbapenêmicos). A ANOVA revelou efeito significativo sobre a germinação (P = 0,046); o teste de Dunnett mostrou que os isolados T6 (*B. subtilis*) e T5 (*P. megaterium*) superaram o controle (P = 0,0184 e P = 0,0405). Embora os consórcios T4 e T8 não tenham superado o controle na germinação, a análise genômica revelou funções agronômicas cruciais: o T4 combina solubilização de P e K e ACC desaminase (*P. oryzihabitans*) com FBN e produção de AIA (*K. pasteurii*), configurando um biofertilizante NPK; o T8 une o arsenal de biocontrole de *B. subtilis* (fengicina, bacilaene, etc.) à resiliência a estresses de *P. aryabhattai* (*proABC*, *phoADPR*). Conclui-se que as cepas são biosseguras, os isolados T5/T6 são bioestimulantes de germinação e os consórcios T4/T8 têm funções agronômicas que transcendem o ensaio EPA, recomendando-se sua validação em campo.

Palavras-chave: Inoculantes bacterianos; Skotodormência; Ecotoxicologia; Bioinsumos; Biossegurança; Genômica.

ABSTRACT

The international protocol EPA 600/3-88/029 was applied to assess the ecotoxicological risks of five isolated bacterial strains and three consortia on lettuce seeds (*Lactuca sativa* L.). Seeds were inoculated with calibrated suspensions (1.5×10^8 CFU mL^{-1}) of CCBL 33 (*Pseudomonas oryzihabitans*), CCBL 84 (*Klebsiella pasteurii*), CCBL 04 (*Priestia megaterium*), CCBL 18 (*Bacillus subtilis*), and CCBL 36 (*Priestia aryabhattai*), two consortia (T4: 33+84; T8: 04+18+36), and a complete consortium (T9: all), plus a control (H_2O), incubated in darkness at 23 °C for 120 h. No acute phytotoxicity was observed (root: P = 0.550; total: P = 0.481), and strains CCBL 33 and CCBL 84 were classified as non-pathogenic to humans (PathogenFinder2 and INPI-registered software) and susceptible to critical antibiotics (3rd/4th gen cephalosporins and carbapenems). ANOVA revealed a significant effect on germination (P = 0.046); Dunnett's test showed that isolates T6 (*B. subtilis*) and T5 (*P. megaterium*) outperformed the control (P = 0.0184 and P = 0.0405). Although consortia T4 and T8 did not outperform the control in germination, genomic analysis revealed crucial agronomic functions: T4 combines P and K solubilization and ACC deaminase (*P. oryzihabitans*) with BNF and IAA production (*K. pasteurii*), configuring an NPK biofertilizer; T8 combines the biocontrol arsenal of *B. subtilis* (fengycin, bacillaene, etc.) with stress resilience of *P. aryabhattai* (*proABC*, *phoADPR*). It is concluded that the strains are biosafe, isolates T5/T6 are germination biostimulants, and consortia T4/T8 have agronomic functions beyond the EPA assay, warranting field validation.

Keywords: Bacterial inoculants; Skotodormancy; Ecotoxicology; Bioinputs; Biosafety; Genomics.

1. INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças folhosas de maior relevância econômica global. Contudo, o estabelecimento uniforme de plântulas em campo é frequentemente limitado pelo fotoblastismo positivo, onde sementes enterradas ou sem radiação luminosa ativa entram em estado de dormência induzida pelo escuro (skotodormência), prejudicando a população inicial de plantas (Bewley *et al.*, 2013; Hsiao e Quick, 1996).

A utilização de consórcios microbianos é apontada como a nova fronteira nos estudos sobre bioinsumos porque, partindo da constatação de que os microrganismos não vivem isolados na natureza, acredita-se que a combinação de diferentes cepas pode ser mais eficaz na promoção do crescimento das plantas do que um único indivíduo, já que essa estratégia aumenta a chance de ao menos uma cepa escapar da exclusão competitiva e garante a sobrevivência e a funcionalidade do inoculante, desde que os microrganismos escolhidos tenham habilidades complementares e sejam capazes de coexistir sem antagonismo; nessa direção, a Embrapa destaca explicitamente que o “consórcio de bactérias, ou de fungos, pode ser a nova fronteira na agricultura sustentável”, com estudos mostrando que a combinação de duas bactérias proporcionou rendimento 11% maior em comparação ao tratamento com apenas um microrganismo, além de consórcios terem sido eficazes na mitigação de estresses abióticos e no crescimento mais robusto de raízes (AGROIN, 2024; ESALQ, 2025).

Nesse cenário, o emprego de Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV) consolida-se como estratégia biotecnológica sustentável para a agricultura regenerativa. Ainda que não substituam o estímulo luminoso mediado pelo sistema fitocromo, essas bactérias modulam a ativação metabólica inicial por meio da

síntese de fitohormônios com destaque para o Ácido Indol-3-Acético (AIA), produzido principalmente via rota do indol-3-piruvato sob regulação do gene *ipdC*, além de desempenharem funções críticas como fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilização de fósforo e potássio e biocontrole de fitopatógenos (Palacios *et al.*, 2016; Patten; Glick, 2002; Marin *et al.*, 2026b).

Para a triagem inicial de segurança e eficácia biológica de novos isolados microbianos, o protocolo internacional EPA 600/3-88/029 (Ensaio A.8.7: "Lettuce root elongation") oferece um modelo experimental sensível e padronizado (Epa, 1988). Em estudo prévio avaliando diferentes estirpes da Coleção de Cultura de Bactérias do LACOMEN (CCBL) sobre alface cv. Regina de Verão (ISLA), demonstrou-se que a inoculação bacteriana é capaz de mitigar a skotodormência sem causar toxicidade aguda; contudo, observou-se que determinados consórcios portadores do gene *ipdC* (como *Enterobacter* sp. em associação com *Phytobacter diazotrophicus* e *Pantoea dispersa*) promoveram forte gatilho de emergência acompanhado de restrição no alongamento radicular devido à saturação exógena de auxinas, exigindo manejo sequencial distinto entre tratamento de sementes e pós-emergência (Marin *et al.*, 2026b).

Diante da necessidade de ampliar o portfólio de bioinsumos seguros e compreender a interação funcional entre diferentes grupos taxonômicos, o objetivo deste estudo foi avaliar o risco ecotoxicológico e a bioatividade de cinco novas estirpes bacterianas isoladas e três consórcios sobre sementes de alface (*Lactuca sativa* L., cv. Regina de Verão), integrando o bioensaio fenotípico (protocolo EPA 600/3-88/029) à caracterização genômica funcional e à análise de biossegurança (patogenicidade *in silico* e perfil de

susceptibilidade antimicrobiana). Partiu-se da hipótese de que as estirpes selecionadas são biosseguras e que os consórcios avaliados reúnem atributos agronômicos complementares que transcendem a resposta imediata de germinação no escuro.

2. METODOLOGIA

2.1. Material Vegetal e Condições do Teste

Foram utilizadas sementes de alface lisa (*Lactuca sativa* L., cultivar Regina de Verão; ISLA Sementes) como organismo-teste. O bioensaio foi conduzido conforme as diretrizes adaptadas do protocolo EPA 600/3-88/029 (Epa, 1988; Marin *et al.*, 2026b). As sementes foram previamente distribuídas em placas de Petri esterilizadas contendo papel de filtro qualitativo umedecido, alocando-se 15 sementes por unidade experimental. Cada placa recebeu uma alíquota de 5 mL da respectiva suspensão bacteriana ou solução controle. O experimento foi instalado em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), composto por 9 tratamentos e 5 repetições (placas) por tratamento, totalizando 45 unidades experimentais e 675 sementes avaliadas. As placas foram mantidas em câmara incubadora tipo BOD a 23 °C$\pm$2, sob ausência total de luz (escuro contínuo), durante 120 horas (5 dias).

2.2. Estirpes Bacterianas e Consórcios

Os inóculos foram preparados a partir de culturas puras calibradas à densidade óptica correspondente à Escala 0,5 de McFarland (1,5 x 10^8 UFC mL^{-1} em água destilada esterilizada), a qual também constituiu o tratamento controle (T1). Todas as estirpes pertencem ao acervo da

Coleção de Cultura de Bactérias do LACOMEN (CCBL/UNIRIO) (Marin, 2026) e foram organizadas nos seguintes tratamentos:

T1: Controle negativo (H_2O destilada esterilizada);

T2: Estirpe CCBL 33 (*Pseudomonas oryzihabitans*);

T3: Estirpe CCBL 84 (*Klebsiella pasteurii*);

T4: Consórcio 1 (CCBL 33 + CCBL 84);

T5: Estirpe CCBL 04 (*Priestia megaterium*);

T6: Estirpe CCBL 18 (*Bacillus subtilis*);

T7: Estirpe CCBL 36 (*Priestia aryabhattai*);

T8: Consórcio 2 (CCBL 04 + CCBL 18 + CCBL 36);

T9: Consórcio Completo (CCBL 33 + CCBL 84 + CCBL 04 + CCBL 18 + CCBL 36).

Previamente à montagem dos consórcios funcionais candidatos T4 (CCBL 33 + CCBL 84) e T8 (CCBL 04 + CCBL 18 + CCBL 36), a compatibilidade entre as respectivas estirpes foi avaliada por meio de ensaio de antibiose cruzada *in vitro* (estrias perpendiculares/sobreposição em ágar nutriente, incubadas a 28 °C por 48 h), verificando-se a ausência de halos de inibição mútua.

2.3. Biossegurança e Análise Genômica

Para assegurar a viabilidade regulatória e ambiental das estirpes Gram-negativas de maior atenção clínica (CCBL 33 e CCBL 84), a

biossegurança foi verificada sob dois critérios complementares:

1. **Teste de susceptibilidade antimicrobiana:** realizado pelo método de disco-difusão em ágar Mueller Hinton frente a antimicrobianos criticamente importantes segundo a Organização Mundial da Saúde (cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações e carbapenêmicos) tanto pelo CLSI como pelo BRCAST;

2. **Predição de patogenicidade *in silico***: conduzida por meio da plataforma *PathogenFinder2* (Cosentino *et al.*, 2013) e validada pelo software *Analisador de Patogenicidade Bacteriana* (Registro INPI: BR512026010289-8)(Marin, 2026a).

Adicionalmente, os genomas anotados das cinco estirpes (arquivos em formato .gbk) foram minerados para identificação de genes marcadores de promoção de crescimento vegetal (síntese de auxinas, atividade de ACC desaminase, metabolismo de fosfato e nitrogênio), biocontrole (peptídeos não ribossomais, policetídeos e sideróforos), resiliência a estresses abióticos e elementos genéticos móveis (transposases). A solubilização *in vitro* de fosfato e potássio foi confirmada qualitativamente nos meios seletivos Ágar Pikovskaya e Ágar Aleksandrov, respectivamente.

2.4. Parâmetros Avaliados e Análise Estatística

Após 120 h foram quantificados: (i) o número de sementes responsivas por placa (definido pela protrusão radicular ≥ 1 mm); (ii) o comprimento da raiz principal (cm); e (iii) o comprimento total do eixo embrionário (hipocótilo + raiz, cm) das plântulas viáveis. Para o parâmetro de comprimento total no tratamento T7 (*Priestia aryabhattai* CCBL 36), uma das unidades experimentais (repetição

R1) sofreu desidratação excessiva do substrato por falha de vedação da embalagem de incubação, comprometendo o alongamento do hipocótilo e resultando na exclusão dessa parcela da análise biométrica (n = 4). Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) sob o modelo linear de DIC e ao teste F. Para o agrupamento das médias, aplicou-se inicialmente o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, visando eliminar ambiguidades de sobreposição (Marin *et al.*, 2026b). Em virtude da sensibilidade exigida para detectar incrementos sutis na quebra de dormência em relação à testemunha absoluta, procedeu-se à análise complementar pelo teste de Dunnett (5%) para contrastes diretos contra o controle (T1). A precisão experimental foi aferida pelo Coeficiente de Variação (CV%). O processamento estatístico e a plotagem gráfica foram executados em ambiente Python (v. 3.10), utilizando os pacotes statsmodels, pandas, matplotlib e seaborn, seguindo a metodologia analítica descrita por Marin *et al.* (2026b). Informa-se o uso assistido de Inteligência Artificial Generativa (IAG) exclusivamente para suporte à revisão gramatical e estruturação textual, mantendo-se integral responsabilidade dos autores sobre a geração, curadoria e interpretação científica dos dados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Biossegurança e Ausência de Fitotoxicidade Aguda

Os resultados biométricos atestam a total ausência de fitotoxicidade aguda das estirpes isoladas e dos consórcios sobre a alface cv. Regina de Verão. Nenhum dos tratamentos biológicos provocou inibição estatisticamente significativa no comprimento da raiz principal (F = 0,87; P = 0,550; CV = 16,16%) ou no comprimento total do

eixo embrionário (F = 0,96; P = 0,481; CV = 13,33%) quando comparados ao controle hídrico (Tabela 1).

Esse comportamento contrasta de forma relevante com os achados de Marin *et al.* (2026b) na cultivar Regina de Verão, na qual a inoculação com *Enterobacter* sp. (L13) isolada ou em consórcio (T5) reduziu o alongamento radicular em cerca de 46% a 50% em função da hiperprodução exógena de AIA mediada pelo gene *ipdC*. No presente trabalho, mesmo nas estirpes portadoras do gene *ipdC,* CCBL 84 (*K. pasteurii*) e CCBL 04 (*P. megaterium*), a modulação hormonal manteve-se dentro da faixa fisiológica ótima, preservando a arquitetura radicular das plântulas.

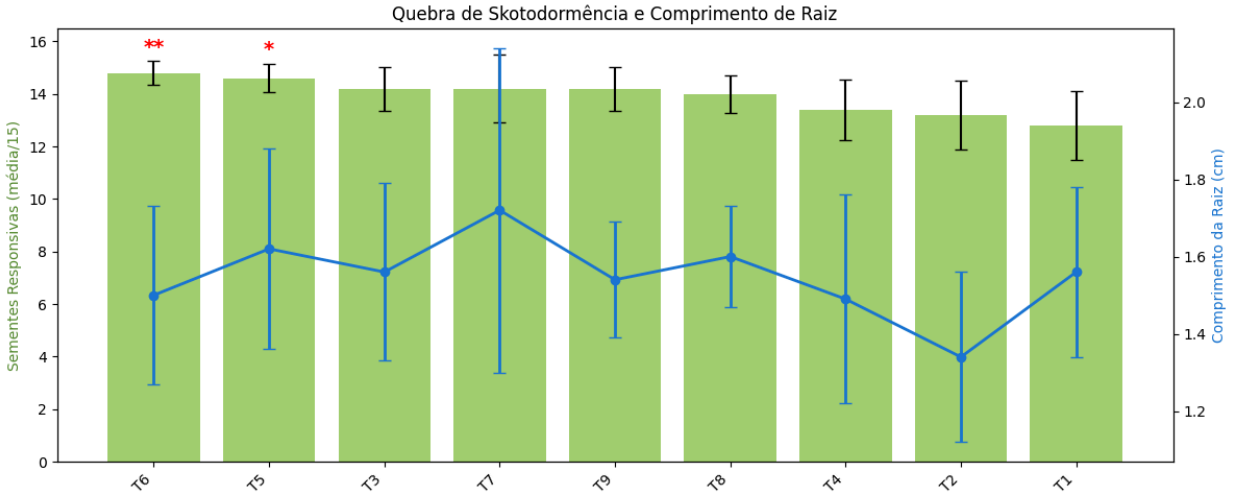
Sob a ótica sanitária e regulatória, as estirpes CCBL 33 (*P. oryzihabitans*) e CCBL 84 (*K. pasteurii*) demonstraram plena susceptibilidade às cefalosporinas de 3ª e 4ª geração e aos carbapenêmicos, além de serem classificadas como não patogênicas a humanos tanto pelo *PathogenFinder2* quanto pelo algoritmo *Analisador de Patogenicidade Bacteriana* (INPI BR512026010289-8). O atendimento simultâneo à ausência de fitotoxicidade vegetal, ausência de determinantes de virulência humana e sensibilidade a antimicrobianos críticos alinha-se às diretrizes internacionais de avaliação de risco de bioinsumos (EFSA, 2024; Marin, 2026a).

3.2. Bioatividade na Quebra de Skotodormência: Desempenho dos Isolados

A análise de variância demonstrou efeito significativo dos tratamentos sobre o número de sementes responsivas no escuro (F = 2,25; P = 0,046; CV = 7,17). Embora o critério conservador de Scott-

Knott não tenha particionado os tratamentos em grupos distintos (todos classificados no grupo "a"), a análise de contrastes pelo teste de Dunnett evidenciou que os isolados T6 (*Bacillus subtilis* CCBL 18, média de 14,80 ± 0,45 sementes/15) e T5 (*Priestia megaterium* CCBL 04, média de 14,60 ± 0,55 sementes/15) superaram significativamente o controle T1 (12,80 ± 1,30 sementes/15), com valores de P = 0,0184 e P = 0,0405, respectivamente (Figura 1).

Figura 1.



Perfil comparativo de eixos combinados ordenado por proporção média de sementes responsivas (barras verdes, eixo à esquerda) e comprimento radicular associado (linha azul, eixo à direita) em plântulas de alface cv. Regina de Verão (ISLA) após 120 h de incubação no escuro contínuo. As barras verticais indicam o desvio padrão (n = 5). Asteriscos indicam tratamentos que superaram significativamente o controle pelo teste de Dunnett (*P < 0,05; **P < 0,01).

A eficácia superior de *Bacillus subtilis* na superação da skotodormência corrobora os resultados reportados por Marin *et al.* (2026b), nos quais a estirpe *B. subtilis* L39 também figurou entre os tratamentos isolados mais eficientes na emergência e vigor radicular de alface no escuro. A mineração genômica elucida os mecanismos subjacentes ao desempenho de T6 e T5:

- CCBL 18 (*B. subtilis* - T6): apresenta agrupamentos gênicos biossintéticos completos para lipopeptídeos cíclicos,

policetídeos e sideróforos, incluindo fengicina, bacilaene, subtulosina, bacilisina, bacilibactina e ácido pulcherrimínico. Além de suprimir patógenos espermosféricos durante a embebição, esses metabólitos secundários modulam a permeabilidade de membrana e a sinalização redox na semente, favorecendo a protrusão radicular sob restrição luminosa.

- CCBL 04 (*P. megaterium* - T5): abriga o gene *ipdC*, promovendo a síntese gradual e equilibrada de AIA a partir do triptofano exsudado pela semente, o que estimula o afrouxamento da parede celular e o alongamento do eixo embrionário sem atingir o limiar inibitório mediado pelo etileno (Patten; Glick, 2002; Marin *et al.*, 2026b).

3.3. O Consórcio 1 (T4) Como Candidato a Biofertilizante Completo (NPK + AIA + ACC)

Os ensaios de compatibilidade in vitro confirmaram a ausência de antagonismo direto entre as estirpes que compõem o Consórcio 1 (T4) e o Consórcio 2 (T8), atestando sua viabilidade para co-inoculação. Assim, a ausência de incremento estatístico imediato do Consórcio 1 (T4: CCBL 33 + CCBL 84) sobre a germinação em papel de filtro (13,40 ± 1,14 sementes) não reflete ausência de potencial agronômico, mas sim uma limitação intrínseca do ensaio ecotoxicológico EPA, o qual é conduzido em substrato inerte (H_2O e celulose) por apenas cinco dias.

A integração fenotípico-genômica demonstra que T4 reúne mecanismos complementares essenciais para o desenvolvimento em solo:

1. CCBL 33 (*Pseudomonas oryzihabitans*): possui o gene *acdS* codificador da enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase, responsável por clivar o precursor imediato do etileno vegetal, mitigando estresses osmóticos, hídricos e mecânicos na rizosfera. Adicionalmente, apresentou halos positivos de solubilização de fosfato inorgânico (Ágar Pikovskaya) e de potássio (Ágar Aleksandrov).

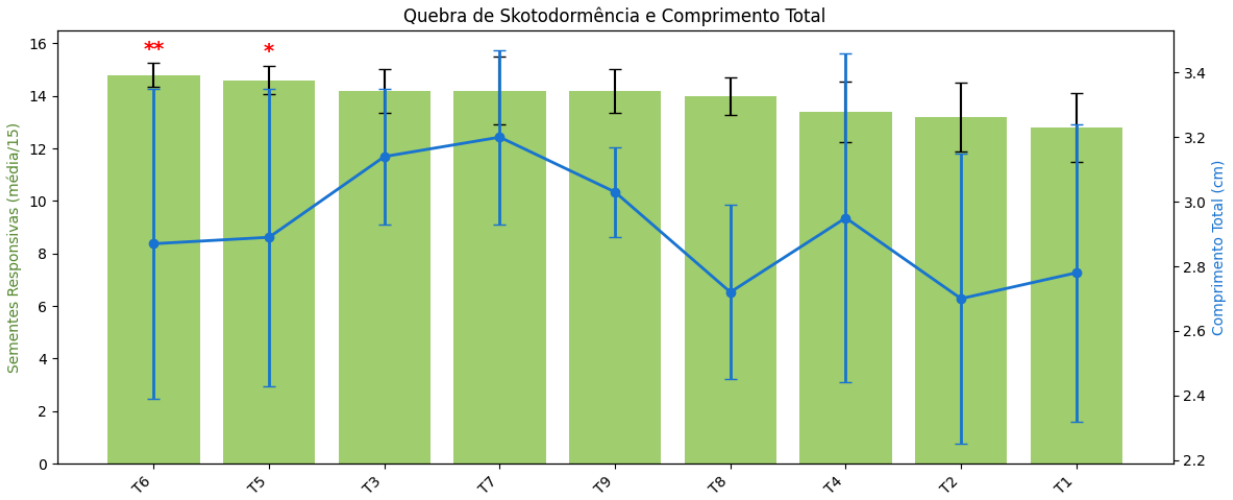
2. CCBL 84 (*Klebsiella pasteurii*): carrega o operon de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e o gene *ipdC* para produção de AIA.

Dessa forma, o Consórcio 1 (T4) configura um biofertilizante multifuncional completo (NPK + AIA + ACC desaminase), cuja expressão fenotípica plena depende da interação com a matriz do solo e com a rizosfera estabelecida, justificando sua recomendação para inoculação em substrato de mudas ou aplicação em sulco de plantio.

3.4. O Consórcio 2 (T8) E a Sinergia Entre Biocontrole e Resiliência Abiótica

O Consórcio 2 (T8: CCBL 04 + CCBL 18 + CCBL 36) apresentou taxa de sementes responsivas de 14,00 ± 0,71 (sem diferença estatística frente ao controle pelo teste de Dunnett, P = 0,2934) e elevada uniformidade no desenvolvimento radicular (DP = 0,13 cm), mantendo o padrão de sinergia positiva observado anteriormente por Marin *et al.* (2026b) para o consórcio composto por *Bacillus subtilis* e *Priestia aryabhattai* (T9 naquele estudo) (Figura 2).

Figura 2.



Perfil comparativo de eixos combinados ordenado por proporção média de sementes responsivas (barras verdes, eixo à esquerda) e comprimento total do eixo embrionário (linha azul, eixo à direita) em plântulas de alface cv. Regina de Verão (ISLA) após 120 h de incubação no escuro contínuo. Barras verticais indicam o desvio padrão (n = 5; T7 comprimento total com n = 4).

Genomicamente, T8 integra três eixos funcionais distintos: o estímulo auxínico de *P. megaterium* (CCBL 04), a proteção antimicrobiana de amplo espectro de *B. subtilis* (CCBL 18) e o aparato de adaptação ambiental de *P. aryabhattai* (CCBL 36). Esta última estirpe destaca-se pela presença dos operons *proABC* (biossíntese de prolina como osmoprotetor), *phoADPR* (regulação da captação e mineralização de fosfato), *gadA*, *sodA* e *katA* (defesa antioxidante enzimática contra espécies reativas de oxigênio), além dos genes *alsS*, *alsD* e *bdhA*, envolvidos na síntese dos compostos orgânicos voláteis acetoína e 2,3-butanodiol, reconhecidos indutores de resistência sistêmica e promoção de crescimento vegetal.

O Consórcio 2 (T8) não diferiu significativamente do controle pelo teste de Dunnett (P = 0,2934). No entanto, vale registrar que, na análise exploratória inicial pelo teste de Duncan (que não controla a FWER e é mais permissivo), o T8 havia apresentado uma tendência positiva (P = 0,087). Essa discrepância entre os testes reforça a necessidade de cautela na interpretação do T8, cujo potencial

(biocontrole e resiliência) deve ser validado em ensaios de campo com maior poder estatístico.

3.5. Plasticidade Genômica e Estabilidade Evolutiva

A prospecção de elementos genéticos móveis revelou baixa abundância de transposases nos genomas analisados: 3 cópias em *B. subtilis* (CCBL 18), 8 em *P. oryzihabitans* (CCBL 33), 11 em *P. megaterium* (CCBL 04), 17 em *P. aryabhattai* (CCBL 36) e 21 em *K. pasteurii* (CCBL 84). Essa arquitetura genômica equilibrada sugere estabilidade estrutural, minimizando riscos de transferência horizontal de genes deletérios, ao mesmo tempo em que preserva a plasticidade adaptativa necessária para a colonização eficiente de diferentes nichos radiculares.

3.6. Síntese dos Parâmetros Biométricos e Funcionais

Para integrar de forma sistemática as respostas fenotípicas observadas no bioensaio ecotoxicológico com os determinantes moleculares identificados na prospecção genômica, os parâmetros biométricos médios e os principais marcadores funcionais de cada tratamento foram consolidados na Tabela 1. Essa visão comparativa evidencia o contraste entre a ação imediata dos isolados T5 (*Priestia megaterium*) e T6 (*Bacillus subtilis*) na superação da skotodormência e o perfil multifuncional de longo alcance dos consórcios T4 e T8, demonstrando a complementaridade metabólica entre as estirpes avaliadas e a ausência de comprometimento do vigor radicular em todos os tratamentos.

Tabela 1. Efeito de estirpes bacterianas isoladas e consórcios na taxa de superação da skotodormência, comprimento radicular e comprimento total do eixo embrionário de alface (*Lactuca sativa* L.,

cv. Regina de Verão) mantida no escuro por 120 h, e funções genômicas identificadas (Média ± DP; n = 5; Scott-Knott 5%).

Tratamento	Composição	Genes-chave / Funções identificadas	Sementes Responsivas (unid./15)	Raiz (cm)	Total (c
T1	Controle (H_2O)	-	12,80 ± 1,30 a	1,56 ± 0,22 a	2,78 ± 0 a
T2	CCBL 33 P. oryzihabitans	8 transposases; acds;	13,20 ± 1,30 a	1,34 ± 0,22 a	2,70 ± 0 a

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em: https://revistatopicos.com.br/artigos/avaliacao-de-risco-ecotoxicologico-de-estirpes-bacterianas-isoladas-e-em-consorcios-em-alface-lactuca-sativa-l?noblockage

Legenda: Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (n = 5 placas; T7 comprimento total com n = 4). ANOVA (DIC): sementes responsivas F = 2,25 (P = 0,046); comprimento da raiz F = 0,87 (P = 0,550); comprimento total F = 0,96 (P = 0,481). Teste complementar de Dunnett (5%): T5 (P = 0,0405) e T6 (P = 0,0184) superaram significativamente o controle T1; os demais tratamentos não diferiram do controle (P > 0,05). Linhas em negrito destacam os consórcios bacterianos.

4. CONCLUSÕES

As cinco estirpes bacterianas isoladas e os três consórcios avaliados não apresentam fitotoxicidade aguda sobre sementes e plântulas de

alface (*Lactuca sativa* L., cv. Regina de Verão), preservando o desenvolvimento normal do sistema radicular e do eixo embrionário no ensaio ecotoxicológico EPA 600/3-88/029. Associada à ausência de patogenicidade humana *in silico* e à susceptibilidade a antimicrobianos críticos das estirpes CCBL 33 e CCBL 84, confirma-se a biossegurança do conjunto para uso agrícola.

Os isolados T6 (*Bacillus subtilis* CCBL 18) e T5 (*Priestia megaterium* CCBL 04) promovem incremento significativo na superação da skotodormência em comparação ao controle (P = 0,0184 e P = 0,0405), posicionando-se como candidatos prioritários para o desenvolvimento de bioestimulantes destinados ao tratamento inicial de sementes.

Embora os consórcios T4 e T8 não tenham superado o controle na germinação imediata em substrato inerte, a análise genômica comprova que reúnem funções agronômicas de alta relevância que transcendem o escopo do bioensaio EPA: o Consórcio 1 (T4) configura um candidato a biofertilizante completo (FBN, solubilização de P e K, produção de AIA e atividade de ACC desaminase), enquanto o Consórcio 2 (T8) integra biocontrole de amplo espectro e resiliência a estresses abióticos. Recomenda-se a validação agronômica sequencial dessas formulações em casa de vegetação e campo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Finep pelo apoio financeiro e à Unirio pelo apoio técnico para a realização do estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROIN. Uso de grupos de microrganismos é a nova fronteira em bioinsumos. **AgroIn,** [S. l.], 2024. Disponível em: https://www.agroin.com.br/noticias/26859/uso-de-grupos-de-microrganismos-e-a-nova-fronteira-em-bioinsumos. Acesso em: 20 nov. 2026.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy.** 3. ed. New York: Springer, 2013.

COSENTINO, S.; VOLDSTEDLUND, M.; MØLLER, T. S.; AARESTRUP, F. M.; LUND, O. PathogenFinder - Distinguishing Friend from Foe Using Bacterial Whole Genome Sequence Data. **PLoS ONE,** v. 8, n. 10, p. e77302, 2013.

DUNNETT, C. W. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. **Journal of the American Statistical Association,** v. 50, n. 272, p. 1096-1121, 1955.

EFSA (European Food Safety Authority) *et al.* Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance Bacillus subtilis strain RTI477. **EFSA Journal,** v. 22, n. 9, p. e8989, 2024.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Ecological Effects Test Guidelines: Lettuce Root Elongation (EPA 600/3-88/029).** Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, 1988.

ESALQ. **Visão Agrícola.** Piracicaba: ESALQ/USP, 2025. Disponível em: https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA-15-MIOLO-CAPA-final-alta-resolucao.pdf. Acesso em: 20 nov. 2026.

HSIAO, A. I.; QUICK, W. A. The roles of inorganic nitrogen salts in maintaining phytochrome- and gibberellin A_3-mediated germination control in skotodormant lettuce seeds. **Journal of Plant Growth Regulation,** v. 15, p. 159–165, 1996.

MARIN, V. A. Analisador de Patogenicidade Bacteriana (Software). Registro INPI: BR512026010289-8. Rio de Janeiro: Instituto Nacional da Propriedade Industrial, 2026a.

MARIN, V. A. Coleção de Culturas de Bactérias do LACOMEN - CCBL. Version 1.2423. Rio de Janeiro: UNIRIO, 2026.

MARIN, V. A.; ROSSETTO, C. A. V.; STRANG, G. G.; SÁ, T. P. C.; MANSO, P. A. Avaliação de Risco de Consórcios Bacterianos em Alface Pelo Ensaio Ecotoxicológico EPA. **Revista Tópicos,** Rio de Janeiro, v. 4, n. 34, p. 1–18, 2026b. ISSN: 2965-6672. DOI: https://doi.org/10.70773/revistatopicos/781726993.

PALACIOS, O. A.; CHOIX, F. J.; BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. Tryptophan, thiamine and indole-3-acetic acid exchange between Chlorella sorokiniana and the plant growth-promoting bacterium Azospirillum brasilense. **FEMS Microbiology Ecology,** v. 92, n. 6, p. fiw077, 2016.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 68, n. 8, p. 3795–3801, 2002.

---

[1] Docente da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO). Coordenador do Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos da Escola de Nutrição (LACOMEN), Rio de Janeiro, Brasil.

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9827-6552. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail.

[2] Docente da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Rio de Janeiro, Brasil. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4368-7119. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail.

[3] Discente do Curso Superior de Nutrição da Escola de Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil. ORCID: https://orcid.org/0009-0008-5835-5249. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail.

[4] Discente do Curso Superior de Nutrição da Escola de Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil. ORCID: https://orcid.org/0009-0008-1985-5849. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail.

[5] Discente do Curso Superior de Nutrição da Escola de Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil. ORCID: https://orcid.org/0009-0006-2969-6955. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail.

[6] Discente do Curso Superior de Nutrição da Escola de Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil. ORCID: https://orcid.org/0009-0006-8487-0805. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail.

[7] Nutricionista, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil. ORCID: https://orcid.org/0009-0002-1845-2534. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail.