

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

LARISSA MARQUES NEGRETT

Potencial Biotecnológico do Isolado *Priestia megaterium* cepa E1

Dourados - MS

2025

LARISSA MARQUES NEGRETT

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO ISOLADO *PRIESTIA MEGATERIUM* CEPA E1.

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Banca Examinadora como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, da Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Maricy Raquel Lindenbah Bonfá.

Aprovado em: 26/11/25

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **MARICY RAQUEL LINDENBAH BONFA**
Data: 26/11/2025 15:32:14-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. MARICY RAQUEL LINDENBAH BONFA
Presidente

Documento assinado digitalmente
 **RODRIGO MATHEUS PEREIRA**
Data: 27/11/2025 11:46:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RODRIGO MATHEUS PEREIRA
Membro

Documento assinado digitalmente
 **FABIANA GOMES DA SILVA DANTAS**
Data: 26/11/2025 15:35:38-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. FABIANA GOMES DA SILVA DANTAS
Membro

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

N385p Negrett, Larissa Marques

Potencial Biotecnológico do isolado *Priestia megaterium* cepa E1 [recurso eletrônico] / Larissa Marques Negrett. -- 2025.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Maricy Raquel Lindebah Bonfã .

TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 205.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Biotecnologia Ambiental. 2. Biocatalisadores. 3. Bioconversão. I. Bonfã, Maricy Raquel Lindebah. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

LARISSA MARQUES NEGRETT

Potencial Biotecnológico do Isolado *Priestia megaterium* cepa E1

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia no Curso de Biotecnologia pela Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maricy Raquel Lindenbah Bonfá

Dourados - MS

2025

AGRADECIMENTO

Primeiramente, agradeço a Deus, pela força, pela proteção e pela paz que me guiou em cada etapa dessa caminhada.

Expresso minha gratidão mais profunda aos meus pais, Mara e Ramão, pilares da minha vida, obrigada por cada gesto de amor, por cada palavra de incentivo e por todos os sacrifícios feitos para que eu pudesse chegar até aqui, esta conquista é tão minha quanto de vocês.

Agradeço aos meus irmãos, Mariana e Caíque, que sempre estiveram ao meu lado, aos meus cunhados Luana e Iuri, pela torcida constante, e ao meu sobrinho Arthur, cuja presença alegra meus dias.

Aos meus amigos Sabrina, João Paulo, Ezequiel, Livia e Kauanny, agradeço por cada palavra de apoio, por cada conversa e por acreditarem em mim mesmo quando eu duvidava, vocês tornaram essa trajetória mais leve e feliz.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Maricy, registro a minha admiração e sincera gratidão pela orientação atenta e paciente, foi fundamental para o crescimento deste trabalho e para minha formação como pesquisadora.

Agradeço ainda à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) pelo ambiente de ensino e pesquisa que possibilitou o desenvolvimento e ao CNPq, cujo apoio financeiro foi indispensável para a realização deste projeto.

RESUMO

A crescente produção de plásticos derivados do petróleo e o descarte inadequado, têm ocasionado impactos ambientais severos. Diante desse contexto, os biopolímeros sintetizados por bactérias, como os polihidroxialcanoatos (PHAs), surgem como uma solução promissora para a produção de bioprodutos, com uma variedade ampla de aplicações industriais. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial de produção de PHA e enzimático da bactéria *Priestia megaterium* cepa E1, isolada previamente em solo agrícola, no município de Dourados, MS. Para isso, foram conduzidos testes qualitativos para detecção de PHA por meio de utilização de corantes lipofílicos, como *Sudan Black B* e o *Nile Red*. A avaliação do potencial enzimático foi conduzida pela técnica de *Cup Plate*, utilizando meio mínimo sólido suplementado com *Skim Milk* para análise da atividade proteolítica e amido solúvel para análise da atividade amilolítica. As placas foram incubadas em estufa tipo BOD a 30°C e avaliadas após 24, 48 e 72 horas. O índice enzimático (IE), foi calculado com base na razão entre o diâmetro do halo de degradação e o diâmetro da colônia, sendo os dados analisados por meio da média, desvio padrão e análise de variância seguido do teste de Tukey ($p>0,05$) das triplicatas. A produção de PHA foi confirmada tanto pela coloração azul intensa com *Sudan Black B*, quanto pela fluorescência observada sob luz ultravioleta após cultivo em meio contendo o corante *Nile Red*. Em relação à atividade enzimática, a cepa apresentou desempenho significativamente superior para a produção de protease, alcançando IE médio de 2,97 em 72 horas. Para à amilase nas primeiras 24 horas não houve presença de halos de degradação, entretanto a partir de 48 horas o IE médio foi de 1,5 mm, indicando potencial amilolítico. Os resultados obtidos demonstram que a *Priestia megaterium* cepa E1 possui características relevantes para microrganismos de interesse biotecnológico, seu potencial sustentável o torna essencial na transição para processos produtivos mais limpos, contribuindo para redução do impacto ambiental.

Palavras chave: Biotecnologia Ambiental; Biocatalisadores; Bioconversão.

ABSTRACT

The increasing production of petroleum-derived plastics and their improper disposal have led to severe environmental impacts. In this context, biopolymers synthesized by bacteria, such as polyhydroxyalkanoates (PHAs), emerge as a promising solution for the development of bioproducts with a wide range of industrial applications. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the PHA production and enzymatic potential of the bacterium *Priestia megaterium* strain E1, previously isolated from agricultural soil in the municipality of Dourados, MS, Brazil. For this purpose, qualitative tests were conducted for PHA detection using lipophilic dyes, specifically Sudan Black B and Nile Red. The evaluation of enzymatic potential was performed using the Cup Plate technique with solid minimal medium supplemented with Skim Milk for proteolytic activity and soluble starch for amylolytic activity. Plates were incubated in a BOD incubator at 30 °C and analyzed after 24, 48, and 72 hours. The enzymatic index (EI) was calculated based on the ratio between the degradation halo diameter and the colony diameter. Data were analyzed through mean, standard deviation, and analysis of variance followed by Tukey's test ($p > 0.05$) in triplicates. PHA production was confirmed by the intense blue coloration with Sudan Black B and by fluorescence under ultraviolet light after cultivation in a medium containing Nile Red. Regarding enzymatic activity, the strain exhibited significantly higher performance in protease production, reaching an average EI of 2.97 after 72 hours. For amylase, no degradation halos were observed within the first 24 hours; however, from 48 hours onwards, the average EI was 1.5 mm, indicating amylolytic potential. The results demonstrate that *Priestia megaterium* strain E1 possesses relevant characteristics for microorganisms of biotechnological interest. Its sustainable potential makes it an essential candidate in the transition toward cleaner production processes, contributing to the reduction of environmental impact.

Keywords: Environmental Biotechnology; Biocatalysts; Bioconversion.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 Microrganismos com potencial biotecnológico.....	10
2.2 Plásticos convencionais e Biopolímeros.....	11
2.3 Polihidroxicanoatos.....	13
2.4 Enzimas microbianas.....	14
2.5 <i>Priestia megaterium</i>.....	15
3 OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo geral.....	18
3.2 Objetivos específicos.....	18
4 METODOLOGIA.....	19
4.1 Ativação da bactéria <i>Priestia megaterium</i> cepa E1.....	19
4.2 Classificação morfotintorial.....	19
4.3 <i>Screening</i> de produção de PHA pelo método de coloração de colônias com corante <i>Sudan Black</i>.....	20
4.4 <i>Screening</i> de produção de PHA pelo método de coloração de colônias com corante <i>Nile Red</i>.....	21
4.5 <i>Screening</i> da produção de enzimas.....	21
5 RESULTADOS.....	23
6 DISCUSSÃO.....	26
7 CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

A substituição de polímeros derivados de recursos fósseis é de suma importância, principalmente devido à sua baixa biodegradabilidade. De acordo com relatório elaborado pelo Painel Internacional de Recursos da Organização das Nações Unidas (ONU, 2019), até 2060 o uso global de materiais derivados do petróleo poderá dobrar, atingindo cerca de 190 bilhões de toneladas. Esse aumento significativo tende a intensificar a geração de resíduos, agravando a poluição de solos e oceanos (Isobe; Shinsuke, 2022).

Diante desse contexto, torna-se essencial a busca por alternativas sustentáveis que contribuam para a preservação do meio ambiente. Entre as alternativas, destaca-se a utilização de microrganismos como a bactéria *Priestia megaterium*, espécie com histórico consolidado e ampla aplicação. Estudos relatam sua utilização na síntese de polihidroxialcanoatos (PHA), na produção de vitamina B12 e de diferentes enzimas, evidenciando o potencial de microrganismos multifuncionais para otimizar processos industriais (Biedendieck *et al.*, 2021; do Prado *et al.*, 2022; Ashour; Abd-Elhalim, 2024).

Nesse sentido, os biopolímeros bacterianos, como os PHAs, são armazenados como grânulos intracelulares e apresentam variações na composição de monômeros de ácidos hidroxialcanoatos. São produzidos a partir da fermentação de matérias-primas renováveis e sua síntese ocorre quando a célula está sob estresse. Isso possibilita a produção de vários bioprodutos, como bioplásticos utilizados na fabricação de diversos utensílios descartáveis, como sacolas, copos e embalagens, contribuindo para a redução das emissões de gases de efeito estufa e oferecendo um tempo de degradação significativamente menor em comparação ao plástico de origem fóssil (Khalil *et al.*, 2023; Habitzreuter *et al.*, 2023; Tennakoon *et al.*, 2023; Martins; Gupta 2024).

Além do potencial para a produção de biopolímeros, a utilização de microrganismos na produção de enzimas também têm se destacado na indústria. Essas macromoléculas, obtidas principalmente por fermentação em substratos de origem renovável, atuam como catalisadores biológicos altamente eficientes e específicos, acelerando reações químicas essenciais. Entre as mais relevantes estão a proteases, amilases, celulasas e xilanases, amplamente reconhecidas pela sua escalabilidade, baixo custo e suas metas alinhadas à sustentabilidade (Niyonzima; Venna; Sunil 2020; Artin *et al.*, 2020).

Diversos estudos apontam o gênero *Bacillus* como uma das principais fontes de enzimas de interesse comercial. As proteases microbianas, por exemplo, catalisam a quebra de proteínas em peptídeos e aminoácidos, utilizados nas indústrias de detergentes, têxtil e

alimentos. Já as amilases, atuam na degradação do amido em açúcares menores e os produtos dessa degradação depende do tipo de amilase envolvida. Esses compostos são empregados na produção de fármacos, adoçantes e na fabricação de biocombustíveis (Far *et al.*, 2020; Vojnovic *et al.*, 2024; Khan 2025)

O potencial sustentável de ambas as tecnologias, aliado ao avanço da cultura da economia circular e à crescente pressão por processos de baixo impacto e redução da pegada de carbono, tem incentivado empresas a investirem em pesquisa e no desenvolvimento de soluções inovadoras para a área. No entanto, ainda enfrentam problemas de aceitação no mercado, em razão do seu alto custo de produção e do elevado tempo necessário para a síntese em larga escala. Neste contexto, o uso de fontes de carbono como o glicerol, têm se mostrado promissor, permitindo a redução de custos na produção (Alaerts *et al.*, 2018; Koller; Mukherjee 2022; Tobias-soria *et al.*, 2023).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo, avaliar o potencial biotecnológico do isolado *Priestia megaterium* cepa E1, com ênfase na avaliação de produção de PHA e atividade enzimática.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Microrganismos com potencial biotecnológico

A biotecnologia tem se consolidado como uma área estratégica para o desenvolvimento sustentável, ao empregar organismos vivos ou seus derivados na transformação de recursos naturais em produtos de interesse social e econômico (Buchholz; Collins 2013). Suas origens remontam a práticas ancestrais, como a fermentação de alimentos e bebidas no Egito antigo (Samuel, 1996). No entanto, foi apenas a partir da década de 1970, com os avanços no entendimento da fisiologia e da genética microbiana, que os microrganismos passaram a ser reconhecidos como fonte inesgotável de compostos de alto valor agregado. Desde então, esses organismos vêm cada vez mais sendo empregados no fortalecimento de setores industrial, ambiental, médico e agrícola (Vitorino; Bessa 2017; Unal 2024).

Nesse sentido, a diversidade microbiana constitui uma das principais riquezas da biotecnologia, pois apresenta notável versatilidade metabólica e capacidade de adaptação a condições adversas. Essas características conferem aos microrganismos a capacidade de sintetizar diversos compostos de interesse industrial, como enzimas, biopolímeros, compostos antimicrobianos, vitaminas, dentre outros (Walters; Martiny, 2020; Rossum *et al.*, 2020).

Entre os exemplos mais estudados, destacam-se as bactérias do gênero *Bacillus*, que apresentam elevada capacidade de secreção de proteínas extracelulares, o que facilita a produção de enzimas e outros bioativos de interesse industrial. Além disso, também se destacam na produção de biopolímeros biodegradáveis, mesmo em condições adversas, tolerando uma ampla variação de pH e temperatura (Su *et al.*, 2020; Pan *et al.*, 2023; Vojnovic *et al.*, 2024).

Além destes, outros microrganismos como *Streptomyces* spp. desempenham funções relevantes, sendo reconhecidos como principais produtoras de antibióticos naturais (Maiti *et al.*, 2020). Na agricultura, a utilização de bactérias, fungos e protozoários têm se destacado devido seu potencial de combater patógenos resistentes e promover a absorção de nutrientes, sendo utilizados principalmente na produção de biofertilizantes (Koskey *et al.*, 2021; El-nahal *et al.*, 2022). Outra bactéria extensamente estudada por seu potencial biorremediador é a espécie *Pseudomonas aeruginosa*, que possuem a capacidade de degradar contaminantes e assim permitir a recuperação de ambientes afetados por resíduos de petróleo, inseticida e metais pesados (Ahmed 2022; Liu *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2025).

Desta forma, a bioprospecção de novos microrganismos provenientes de ambientes diversos tem levado à descoberta de novas espécies capazes de interagir entre si, potencializando sua eficiência e aplicação em sistemas integrados (Chen *et al.*, 2024; Rajendran; Loganathan; Popat 2025). Neste contexto, as microalgas se destacam pela sua capacidade de estabelecer relações simbióticas com diferentes microrganismos, sendo muito utilizada na indústria de biocombustíveis, fertilizantes e em recuperação de águas residuais (Ray *et al.*, 2022; Dong *et al.*, 2023; Osório-Reyes *et al.*, 2023).

Paralelamente, a utilização de substratos simples e de baixo custo tem reforçado ainda mais o potencial desses processos, ampliando a sua viabilidade econômica, além dos benefícios ambientais. No estudo de Figueiredo e colaboradores (2014), a bactéria *Cupriavidus necator* apresentou elevada produção de PHA quando cultivada em glicerina bruta, subproduto da indústria de biodiesel. O uso desse resíduo não apenas reduz os custos de produção, mas também agrega valor a um recurso abundante no Brasil. Outros substratos renováveis, como melaço de cana-de-açúcar e subprodutos agroindustriais, também vêm sendo empregados com sucesso, permitindo que os microrganismos expressem seu potencial em condições economicamente mais acessíveis e ambientalmente favoráveis (Costa-Gutierrez *et al.*, 2021; Ramamurthy *et al.*, 2021).

Estudos como a metagenômica ampliaram significativamente o potencial de descoberta, permitindo o acesso direto a genes e enzimas de microrganismos antes não cultivados, revelando novas vias metabólicas de produção de produtos de interesse econômico (Nam *et al.*, 2023). Ainda mais, a exploração desses microrganismos é favorecida por avanços nas técnicas de fermentação, cultivo em biorreatores e estratégias de escalonamento têm possibilitado a produção controlada em larga escala de diferentes produtos (Gómez-Ramos *et al.*, 2024; Jahanian *et al.*, 2024).

Embora persistam desafios relacionados à regulamentação e aos custos de produção, a biotecnologia microbiana mantém papel central no alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), que visam proteger o planeta com o uso responsável e sustentável dos recursos naturais (ONU, 2023).

2.2 Plásticos convencionais e Biopolímeros

Os polímeros convencionais derivados do petróleo, como o polietileno, são produzidos por processos industriais baseados em fontes não renováveis e esgotáveis, cuja degradação no meio ambiente ocorre de forma lenta e complexa. Ainda, o descarte inadequado desses

materiais favorece sua dispersão em diversos ecossistemas, ocasionando a contaminação crescente do ar, do solo e da água. Com o passar do tempo, esses resíduos plásticos sofrem fragmentação, originando microplásticos amplamente identificados em ambientes marinhos, comprometendo a biodiversidade aquática e representando riscos à saúde humana e ao meio ambiente (Alfaro-Núñez *et al.*, 2021; El-Rayes; Aichih; Shi 2023).

Estudos recentes estimam que a produção global de plástico poderá alcançar aproximadamente 12 bilhões de toneladas até 2050, sendo os plásticos de uso único ou de curta vida útil correspondem à fração mais crítica, devido ao seu elevado volume de descarte imediato. Além disso, o acúmulo desses materiais e sua decomposição incompleta contribuem significativamente para o aquecimento global, uma vez que favorecem a emissão de gases de efeito estufa durante todo o seu ciclo de vida (Geyer *et al.*, 2017; Oberoi; Garg 2021).

Assim, diante da crescente preocupação com a poluição plástica, a utilização de polímeros de origem natural, também conhecidos como biopolímeros, desponta como uma alternativa promissora e ambientalmente sustentável aos materiais sintéticos convencionais. Essas macromoléculas são produzidas total ou parcialmente a partir de biomassa renovável, como recursos vegetais, ou sintetizados por microrganismos, como as bactérias (Bastos, 2017; Gamboa, 2018; Abang *et al.*, 2023).

Entre os biopolímeros mais estudados estão o ácido polilático (PLA), polímero que pode ser obtido tanto por rotas petroquímicas quanto por processos fermentativos de base biológica, utilizando substratos como o amido, milho e cana-de-açúcar. Embora o PLA apresente bom processamento e propriedades mecânicas adequadas, sua biodegradabilidade em condições ambientais naturais é relativamente lenta, o que limita parcialmente sua aplicação. Diante disso, estudos na área são frequentemente conduzidos com o objetivo de desenvolver estratégias que acelerem sua degradação e ampliem seu potencial de uso (Guicherd *et al.*, 2024; Shalem *et al.*, 2024).

Entre as características apresentadas, a biodegradabilidade constitui uma das principais vantagens dos biopolímeros, permitindo que esses materiais se decomponham sob condições ambientais específicas, sem geração de resíduos tóxicos. Essas características dos biopolímeros, têm impulsionado o interesse industrial, ampliando suas aplicações principalmente nos setores de embalagens, agrícola e biomédico (Polman *et al.*, 2021; Baranwal *et al.*, 2022; Flórez; Cazón; Vásquez 2023).

O estudo publicado na revista *European Bioplastics* (2020), estima que o valor de produção de biopolímeros cresça, podendo alcançar 5,7 milhões de toneladas em 2029, o que demonstra o forte avanço e consolidação desse setor, considerando a produção em 2024 de

2,43 milhões de toneladas. No entanto, o segmento ainda enfrenta desafios tecnológicos e econômicos, sobretudo relacionados ao alto custo de produção.

2.3 Polihidroxialcanoatos

Os bioplásticos, como os polihidroxialcanoatos (PHA), surgem da necessidade de mitigar os impactos ambientais causados pelo acúmulo de resíduos plásticos. O PHA constitui uma classe de poliésteres microbianos sintetizados intracelularmente sob a forma de grânulos citoplasmáticos translúcidos, que atuam como reserva de carbono e energia em diversos microrganismos. O acúmulo desse polímero ocorre principalmente quando as células são expostas a condições de estresse nutricional, como a limitação de nitrogênio, fósforo e magnésio, bem como excesso de carbono. Nessas circunstâncias, ocorre uma redireção metabólica que favorece a biossíntese e o armazenamento do biopolímero (Calero, 2014; Acharjee *et al.*, 2022; Obruča *et al.*, 2022).

Além disso, fatores ambientais, como variações de pH e temperatura, também influenciam o rendimento e a composição final do polímero. Do ponto de vista estrutural, os PHA são compostos por monômeros de ácidos hidroxialcanoatos, cuja cadeia pode variar em comprimento e estrutura química, conferindo diferentes propriedades físico-químicas ao material. Entre os monômeros mais comuns, destaca-se o ácido 3-hidroxibutírico, composto de três a cinco átomos de carbono, responsável pela formação do polihidroxibutirato (PHB), conhecido por apresentar boas propriedades mecânicas e resistência ao calor, comparáveis ao polipropilenos (PP), polímero de origem fóssil (Kumar *et al.*, 2021; Hachisuka *et al.* 2023; Zheng *et al.*, 2023).

A síntese de PHA ocorre geralmente, por processos fermentativos, utilizando diferentes fontes de carbono, como glicose, glicerol, óleos vegetais e ácidos graxos. O aproveitamento de substratos de baixo custo tem se mostrado uma estratégia promissora para reduzir etapas que influenciam significativamente no custo de produção (Trapé, *et al.*, 2023; Oyewole, *et al.* 2024). Além de avanços tecnológicos, fatores externos, como leis ambientais rigorosas e o aumento da conscientização dos consumidores, têm impulsionado o mercado global de PHA. Desse modo, estima-se que o valor de mercado alcance cerca de US\$121 milhões em 2025, representando um crescimento expressivo em relação aos US\$62 milhões estimados em 2020, embora o setor enfrente desafios regulatórios e de escalabilidade industrial (BusinessWire, 2021; Nanda *et al.*, 2021).

Graças a sua ampla aplicabilidade, os PHAs têm sido explorados no setor de engenharia de materiais no desenvolvimento de embalagens ativas e biodegradáveis, como copos, talheres, canudos e filmes poliméricos, que podem ser aplicados como embalagens para alimentos contribuindo na preservação da qualidade durante o armazenamento e diminuição do crescimento microbiano. Na área biomédica, os polímeros são utilizados em curativos, implantes e sistemas de liberação controlada de fármacos, em razão de sua biocompatibilidade e ausência de toxicidade (Getachew *et al.*, 2016; Koller; Mukherjee, 2022; Park *et al.*, 2024).

Assim, os PHA representam uma solução estratégica para economia circular, pois contribuem para redução de dependência de recursos fósseis, diminuem as emissões de gases de efeito estufa ao longo de seu ciclo de vida e fortalecem a sustentabilidade ambiental (Khalil *et al.*, 2023; Habitzreuter *et al.*, 2023).

2.4 Enzimas microbianas

As enzimas são proteínas que atuam como catalisadores, acelerando reações químicas em organismos vivos sem serem consumidas no processo, desempenhando papéis essenciais em processos biológicos e industriais. Além disso, apresentam diferentes origens e cada classe enzimática catalisa reações específicas, sendo reconhecidas pela sua elevada especificidade e eficiência. Essas características tornam as enzimas componentes indispensáveis em diferentes setores, transformando processos industriais (Buchholz; Kasche; Bornscheuer 2012; Meghwanshi *et al.*, 2020; Maghraby *et al.*, 2023; Singh *et al.*, 2024).

As enzimas microbianas se destacam entre as de origem animal e vegetal, representando 85,7% da participação de receita no mercado em 2024, de acordo com o relatório técnico realizado pelo *Grand View Research* (2022). Esse protagonismo se deve, à capacidade de secretar grandes quantidades de proteínas diretamente no caldo de fermentação, o que facilita os processos de filtragem e purificação. Além disso, sua produção pode ser realizada em substratos de baixo custo, como resíduos agroindustriais reduzindo o tempo e custo da produção em larga escala. Ademais, a aplicação de condições controladas e biossensores durante o processo contribui para minimizar reações colaterais indesejáveis, aumentando o rendimento e estabilidade das enzimas (Reyes-De-Corcuera *et al.*, 2018; Vijayaraghavan *et al.*, 2019; Bajar *et al.*, 2020).

As proteases representam uma das classes mais exploradas de enzimas microbianas, podendo ser classificadas de duas formas. As endopeptidases, que clivam as ligações

peptídicas internas das cadeias proteicas, formando peptídeos menores e as exopeptidases, que atuam nas extremidades das cadeias, liberando os aminoácidos livres. Posteriormente, podem ser convertidas em diversos tipos, como serina, cisteína, aspartato, entre outros (Ikhlas, 2023).

As proteases também podem ser classificadas de acordo com a faixa de pH que atuam,. As proteases ácidas, que atuam em meios com alta salinidade, são produzidas principalmente por fungos e algumas bactérias. Além de contribuírem para melhorar a textura, sabor e digestibilidade dos produtos alimentícios, são de extrema importância para a fermentação de alimentos com alto teor de sal, como o molho de soja e bebidas alcoólicas (Mamo; Fassil 2018; Yao *et al.*, 2023). As proteases alcalinas e neutras são as mais utilizadas na indústria por atuarem em faixas de pH mais altas, sendo utilizadas na produção de biofilmes e incorporadas a detergentes, atuando na remoção eficiente de manchas proteicas em roupas (Barzkar, 2020; Solanki *et al.*, 2021; Christensen *et al.*, 2022).

Já a amilase atua catalisando a hidrólise do amido em açúcares menores, como maltose e glicose. São codificadas em α -amilases, β -amilases e glucoamilases. Nesse sentido, cada uma possui uma aplicação específica, sendo empregadas na indústria alimentícia como adoçantes, na panificação e fabricação de cerveja. Na indústria de biocombustíveis são fundamentais para a conversão de biomassa em açúcares fermentáveis, que posteriormente são transformados em etanol (Corrêa *et al.*, 2015; Coelho *et al.*, 2020).

Desse modo, a utilização de novos microrganismos na produção enzimática contribui para processos mais sustentáveis e econômicos. Possibilitando a substituição de métodos químicos tradicionais por bioprocessos com menor impacto e maior eficiência. Além disso, o avanço contínuo no desenvolvimento de novas cepas bacterianas mais eficiente promete expandir ainda mais o uso de enzimas de alto valor agregado (Wiltschi *et al.*, 2020).

2.5 *Priestia megaterium*

A bactéria *Priestia megaterium*, é amplamente reconhecida por sua versatilidade fisiológica e importância em processos biotecnológicos. Originalmente descrita por Bary em 1884, foi por décadas incluída no gênero *Bacillus*, até que estudos filogenéticos mais recentes, baseados em sequenciamento de genomas completos e análise de proteínas conservadas, demonstram a necessidade de reestruturação taxonômica. Em 2020, Gupta e colaboradores propuseram a criação do gênero *Priestia*, reunindo espécies filogeneticamente relacionadas, entre elas *P. megaterium*, consolidando sua posição fora do clado principal de *Bacillus* e reforçando a importância de abordagem moleculares modernas na classificação bacteriana.

Do ponto de vista morfológico e fisiológico, *P. megaterium* é uma bactéria Gram-positiva, aeróbica facultativa, formadora de esporos e de grande tamanho celular, característica relevante para o epíteto *megaterium*. É amplamente encontrada em solos, raízes de plantas, sedimentos aquáticos e até em amostras industriais, o que evidencia sua capacidade de adaptação. Além disso, por ser considerada não patogênica e apresentar baixo risco biológico, é também frequentemente empregada em pesquisas e aplicações de bioprocessos (Harirchi, *et al.*, 2022; Hur, *et al.* 2024; Zhang, *et al.* 2024);

Nos últimos anos, *P. megaterium* tem se destacado em diferentes áreas da biotecnologia ambiental e agrícola, sobretudo como rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (Jo *et al.*, 2023; Marchão *et al.* 2025). Diversos estudos recentes evidenciam sua capacidade de atuar na solubilização de fosfatos, um mineral insolúvel, tornando o fósforo mais disponível às plantas e reduzindo a dependência de fertilizantes químicos (Poveda; González-Andrés 2021; Ríos-Ruí, *et al.*, 2023). Em 2023, Zelaya-Molina e colaboradores demonstram que a cepa de *P. megaterium* isolada de solo proveniente de rejeitos de mineração apresentam notável tolerância a metais pesados e expressiva atividade promotora de crescimento, associada à produção de sideróforos, ácido indolacético (AIA) e a solubilização de fosfato. Tais características não apenas favorecem o estabelecimento vegetal em ambientes degradados, mas também evidencia o potencial da espécie como agentes de biorremediação e recuperação de solos impactados (Nascimento, *et al.*, 2020).

A atuação da *P. megaterium* também se estende ao controle biológico e ao manejo de doenças vegetais, apresentando múltiplos mecanismos de ação, incluindo a produção de metabólitos antimicrobianos e a indução de respostas de defesa em plantas, como o acúmulo de lignina que reforça a parede celular e dificulta a infecção (Li *et al.*, 2022). No estudo de Cui e colaboradores (2023), cepas da bactéria foram capazes de inibir o crescimento de fitopatógenos bacterianos e fúngicos por meio da secreção de lipopeptídeos bioativos, como surfactina e iturina, promovendo forte atividade antibacteriana e antifúngica contra *Erwinia amylovora*, agente causador de queimaduras bacteriana das pereiras. Em outros estudos recentes, verificou-se que a cepa *P. megaterium* YB-3 apresentou alta eficiência no controle de nematoide-das-galhas (*Meloidogyne graminicola*), tanto em condições de campo, quanto de estufa, reduzindo significativamente a formação de galhas e a eclosão de ovos. Esses resultados reforçam o potencial uso da espécie para formulações de biofertilizantes e agentes de biocontrole (Nowak, *et al.*, 2024; Ye, *et al.*, 2024).

Além de sua importância no solo, a *P. megaterium* tem sido amplamente estudado pela capacidade de produzir biopolímeros biodegradáveis, como o PHA. Diversos estudos

destacam a cepa como capaz de acumular altos teores desses polímeros a partir de substratos residuais, como glicerol, conferindo a viabilidade econômica ao processo (Cal, *et al.*, 2025; Bai, *et al.*, 2025). Em outro estudo, pesquisadores descobriram que a cepa possui capacidade de secretar diversas biomoléculas, como vitamina B12 e antibióticos, achados importantes para a saúde pública (Kumar, *et al.*, 2023; Adeniji, *et al.*, 2025).

Outro aspecto relevante é a produção de enzimas extracelulares de interesse comercial. A bactéria *P. megaterium* apresenta potencial para secreção de α -amilases, agarase e protease, enzimas utilizadas em diversas áreas da indústria (Ha, *et al.*, 2024; Sawant; Thumar, 2023). No estudo de Erdem e colaboradores, (2025), verificaram que a α -amilase produzida pela *P. megaterium* apresentou alta estabilidade térmica e eficiência catalítica. Reforçando sua aplicabilidade em processos industriais que demandam resistência à variação de temperatura e pH.

Por fim, destaca-se o papel da *P. megaterium* em processos de biodegradação e detoxificação ambiental. No estudo de Meng e colaboradores, (2025), demonstram que a cepa MF3 possui elevada capacidade de degradar micotoxinas zearalenona (ZEN), substância frequentemente encontrada em grãos contaminados. Essas características reforçam o valor ecológico da espécie, capaz de contribuir para a segurança alimentar e a redução de contaminantes de origem natural (Biedendieck, *et al.*, 2021).

De modo geral, *Priestia megaterium* representa um microrganismo de alta relevância científica e tecnológica. Principalmente devido sua ampla adaptabilidade, segurança de uso e capacidade metabólica diversificada, permitindo aplicações em diferentes setores, sobretudo naqueles que priorizam a sustentabilidade e a redução do impacto ambiental.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial biotecnológico da cepa *Priestia megaterium* E1, com ênfase na capacidade de síntese de biopolímeros e atividade de enzimas hidrolíticas de interesse industrial.

3.2 Objetivos Específicos

- Confirmar a classificação morfotintorial da cepa *P. Megaterium* E1;
- Verificar qualitativamente o acúmulo de PHAs utilizando os corantes Sudan Black e Nile Red;
- Avaliar o potencial de produção de polihidroxialcanoatos utilizando glicerol como fonte de carbono;
- Avaliar o potencial de produção de Amilase;
- Avaliar o potencial de produção de protease.

4 METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) Dourados - MS, no Bloco Multidisciplinar II, no Laboratório de Biotecnologia Ambiental. A bactéria *Priestia megaterium* cepa E1, foi isolada de solo com histórico de aplicação de fipronil na Fazenda Experimental da UFGD (FAECA) em 2015. Este primeiro estudo relata o grande potencial de degradação deste inseticida químico (do Prado *et al.*, 2022). Além disso, outra pesquisa realizada em conjunto com o laboratório de Bioinformática da UFGD, verificou a presença de sequências genômicas associadas ao metabolismo de polihidroxialcanoato presente no genoma da bactéria (Fernandes, 2024).

4.1 Ativação da bactéria *Priestia megaterium* cepa E1

A cepa estocada em glicerol 20% e mantida a -20°C foi reativada em meio sólido MMG (Meio Mínimo Glicerol), onde o glicerol foi a principal fonte de carbono. Este meio permite avaliar a capacidade de bactérias crescerem e produzir biopolímeros a partir de substratos simples. O meio foi preparado com as proporções 7,0 g.L⁻¹ KH₂PO₄ (Fosfato monobásico); 2,0 g.L⁻¹ Na₂HPO₄ (Fosfato de sódio dibásico); 1,5 g.L⁻¹ MgSO₄.7H₂O (Sulfato de magnésio heptahidratado); 0,1 g.L⁻¹ CaCl₂ (Cloreto de cálcio); 0,08 g.L⁻¹ FeCl₃.6H₂O (Cloreto férrico hexahidratado); 0,02 g.L⁻¹ ZnSO₄.7H₂O (Sulfato de zinco heptahidratado); 0,8 g.L⁻¹ de Extrato de levedura; 23,8 mL de glicerol e diluído em 1 L de água destilada.

Em seguida foi ajustado o pH da solução entre 6,0 a 6,5. Para a solidificação do meio foi utilizado 20 g.L⁻¹ de ágar bacteriológico, inicialmente fundido em forno microondas com agitação frequente para garantir melhor dissolução dos sais e em seguida, esterilizado em autoclave a 121°C por 20 minutos. Após o resfriamento o meio foi vertido em placas de Petri estéreis padronizadas com 35 mL em cada. A amostra da *P. megaterium* foi reativada e incubada em estufa tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand) a 30°C entre 24 a 48 horas, para sucessivos repiques e garantia de obtenção de colônias puras.

4.2 Classificação morfotintorial

A caracterização morfotintorial da cepa foi realizada por meio da coloração de Gram, a partir de colônias isoladas cultivadas em MMG. Após o preparo do esfregaço foi adicionado o corante cristal violeta por um período de 60 segundos e no final desse intervalo de tempo, o

excesso de corante foi enxaguado e removido por um fluxo fino de água destilada. Adiante, foi adicionado na lâmina uma solução lugol por um período de 60 segundos, com a repetição do procedimento de enxágue mencionado anteriormente. Em seguida, a lâmina foi exposta a um agente descolorante álcool por aproximadamente 15 segundos, seguido por uma nova etapa de lavagem com água destilada. Após a lavagem, foi adicionado a lâmina safranina 0,1 %, que atuou por um período de 30 segundos, culminando em outra rodada de enxágue da lâmina. Após a completa secagem da lâmina, com uma gota de óleo de imersão aplicada sobre a lamínula, foi realizada a análise microscópica usando um microscópio óptico. As células que exibiram uma coloração avermelhada foram classificadas como Gram-negativas, enquanto aquelas que apresentaram um tom azulado foram classificadas como Gram-positivas.

Para o teste de catalase, após a realização do esfregaço foi aplicada uma gota de peróxido de hidrogênio a 3% para avaliação do surgimento imediato de bolhas efervescentes, demonstrando a conversão do H_2O_2 em água e oxigênio gasoso, considerado resultado positivo. Por outro lado, a ausência de atividade efervescente, foi interpretada como um resultado negativo. Vale destacar que este teste foi conduzido exclusivamente nas bactérias previamente identificadas como Gram-positivas.

Após a confirmação comparando com registros antigos da bactéria, ela foi testada para produção de biopolímeros.

4.3 Screening de produção de PHA pelo método de coloração de colônias com corante *Sudan Black*

A produção de PHA foi inicialmente investigada pelo método de coloração com o corante lipofílico *Sudan Black B* (0,02% dissolvido em etanol 96% por 15 minutos) (Hartman *et al.*, 1940). As colônias cultivadas em meio MMG foram coradas com solução do corante *Sudan Black B*, lavadas com água e descoradas com etanol a 96% por 5 minutos. No final as colônias produtoras de PHA permanecem azuis pois não são descoradas pela solução de etanol. Isso ocorre porque o corante *Sudan Black B* se dissolve e se liga especificamente nos lipídios presentes na célula, resultando na coloração característica.

4.4 Screening de produção de PHA pelo método de coloração de colônias com corante *Nile Red*

Para confirmação de que o lipídio acumulado se trata de um polihidroxialcanoatos, foi realizada a coloração com corante fluorescente *Nile Red*. Após o preparo e resfriamento do meio MMG descrito anteriormente, foi adicionado 1 µl de *Nile Red* a cada mililitro de meio de cultura e posteriormente vertido em placas de Petri. A bactéria foi inoculada pelo método de *Streak Plate* e incubada em BOD à 30 °C por 48 horas. Avaliação da produção de PHA foi feita através da detecção de fluorescência sob luz ultravioleta (UV) em fotodocumentador (*Loccus*) para detectar o acúmulo intracelular do biopolímero (Spiekermann *et al.*, 1999).

4.5 Screening da produção de enzimas

A determinação do potencial enzimático da bactéria para produção de protease e amilase, foi realizada pelo método qualitativo *Cup Plate* (Dingle *et al.*, 1950). Nessa técnica, com o auxílio de uma alça estéril, a colônia isolada foi aplicada no centro da placa de Petri contendo o meio MMG com alteração da fonte de carbono (20 g.L⁻¹ de Skim Milk e 20 g.L⁻¹ amido solúvel), fazendo com que as colônias cresçam em apenas um ponto específico da placa. Assim, o isolado foi repicado no meio mínimo e incubado em BOD à 30 °C por 24, 48, 72 horas.

A determinação do potencial enzimático foi avaliada através do cálculo do Índice Enzimático (IE) que mede a zona de degradação, calculada pelo diâmetro do halo ao redor da colônia em razão do diâmetro da colônia conforme expresso na equação (1):

$$IE = \frac{DIÂMETRODOHALO}{DIÂMETROCOLÔNIA} \quad (1)$$

Neste método, os isolados que obtiverem maior IE nos meios de cultivo são os que possuem maior atividade enzimática. Para as colônias consideradas como boas produtoras de proteases foram consideradas as que apresentaram $IE \geq 2,0$ mm. Já para as cepas produtoras de amilases, em conformidade com Alves e colaboradores (2018), foram consideradas boas produtoras aquelas que apresentaram $IE \geq 1,0$ mm.

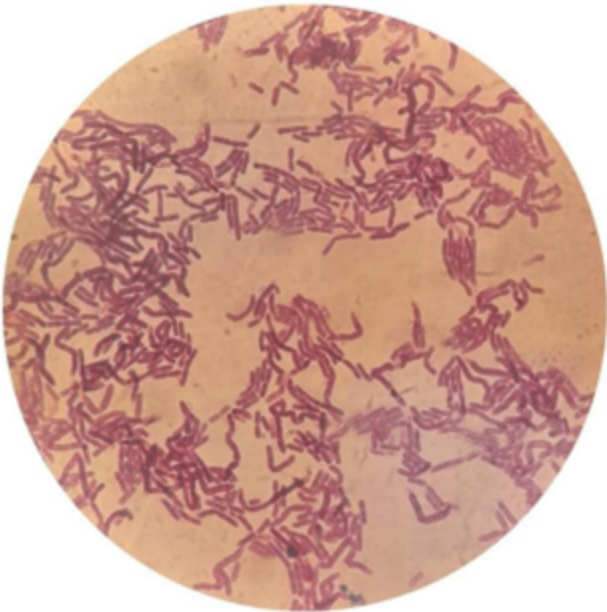
Os resultados obtidos para os índice enzimático de protease e amilase foram expressos como média e desvio padrão das triplicatas. Para verificar a existência de diferença significativa entre os tempos de incubação e entre os substratos, foi realizada análise de

variância (ANOVA), seguido pelo teste de *Tukey* a 5% de significância. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software Info Stat versão 2020.b.

5 RESULTADOS

Após o cultivo da cepa em meio mínimo contendo glicerol como fonte de carbono, foi realizada a caracterização morfotintorial. As células apresentaram morfologia do tipo bastonete, coloração Gram-positiva e presença de esporos, conforme observado na Imagem 1.

Imagem 1. Coloração de Gram de *P. megaterium* cepa E1 em aumento de 1000x.



Fonte: Autora, 2025.

O teste bioquímico da catalase também foi positivo, confirmado pela formação imediata de bolhas após a adição de peróxido de hidrogênio a 3%. Esses resultados juntamente com a presença de esporos reforçam a identificação da cepa como pertencente ao gênero *Priestia*, como observado na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados de triagem morfotintorial e bioquímico da cepa *P. megaterium* E1.

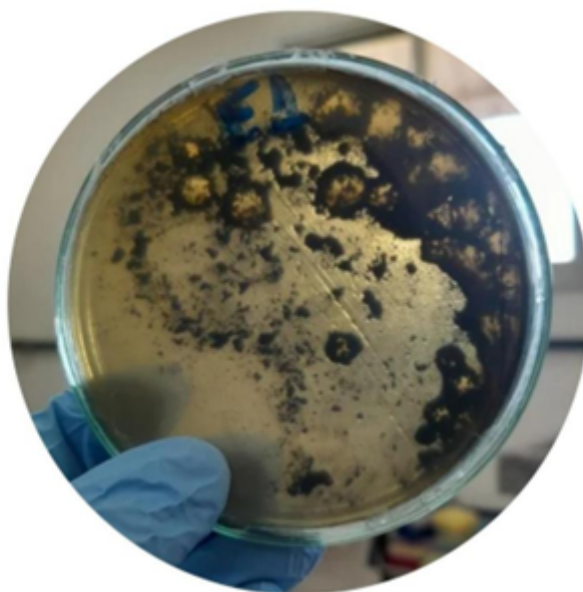
Isolado	Gram	Morfologia	Catalase	Esporos
<i>P. megaterium</i> cepa E1	+	Bastonete	+	+

Legenda: + = positivo.

Fonte: Autora, 2025.

Para a avaliação da produção de polihidroxialcanoatos (PHA), a coloração com o corante *Sudan Black B* revelou células com coloração azul-escuro, mesmo após a lavagem com etanol 96%, indicando a presença de lipídios de reserva compatíveis com PHA.

Imagem 2. Visualização das colônias de *P. megaterium* cepa E1 após a coloração com *Sudan Black B*, com resultado positivo para acúmulo de PHA.



Fonte: Autora, 2025.

A confirmação da produção de PHA também foi obtida por meio da coloração com *Nile Red*. As colônias cultivadas em meio suplementado apresentaram fluorescência sob luz ultravioleta, evidenciando o acúmulo de grânulos intracelulares do biopolímero. Os valores de Índice Enzimático (IE) obtidos para protease e amilase foram expressos como média e desvio-padrão das triplicatas. A análise de variância demonstrou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tempos de incubação nos diferentes substratos (Tabela 2).

Imagem 3. A. Fluorescência da *P. megaterium* cepa E1 em comparação com B. a cepa controle negativo, cultivadas em meio suplementado com *Nile Red* sob luz UV.



(A)

(B)

Fonte: Autora, 2025.

Tabela 2. Índice enzimático da *P. megaterium* cepa E1.

Tempo (h) / Tratamentos	ÍNDICE ENZIMÁTICO		
	24	48	72
Protease	$2,00 \pm 0,25^{Aa}$	$2,48 \pm 0,35^{ABa}$	$2,97 \pm 0,29^{Ba}$
Amilase	$0,00 \pm 0,80^{Ab}$	$1,50 \pm 0,19^{ABb}$	$1,84 \pm 0,16^{Bb}$

Legenda: Os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. Letras maiúsculas na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tempos de incubação para um mesmo tipo de enzima, enquanto letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os tipos enzimáticos em um mesmo tempo, de acordo com o teste de Tukey ($p > 0,05$).

Fonte: Autora, 2025.

Conforme observado na Tabela 2, no meio contendo *Skim milk*, a cepa apresentou IE médio de $2,0 \pm 0,25$ já nas primeiras 24 horas, com aumento nos tempos subsequentes, alcançado $2,97 \pm 0,29$ em 72 horas. No meio suplementado com amido solúvel, não houve formação de halo enzimático após 24 horas, demonstrando ausência de atividade amilolítica inicial, a partir de 48 horas o IE médio foi de $1,50 \pm 0,19$, aumentando para $1,84 \pm 0,16$ em 72 horas.

De modo geral, o período de 72 horas apresentou a maior atividade enzimática nos dois substratos, sendo estatisticamente superior aos demais tempos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Além disso, a atividade proteolítica permaneceu superior à amilolítica em todas as condições avaliadas, reforçando o maior potencial da cepa para produção de protease.

6 DISCUSSÃO

A cepa *Priestia megaterium* E1 apresentou características morfológicas e bioquímicas compatíveis com dados apresentados na literatura. A coloração de Gram revelou células Gram-Positivas, com morfologia bacilar e com presença de esporos, conferindo a resistência da cepa, características compatíveis com o gênero *Priestia*, anteriormente classificado como *Bacillus* (Biedendieck *et al.*, 2021). Além disso, o teste positivo para catalase, indicado pela liberação imediata de bolhas após a exposição ao peróxido de hidrogênio, reforça sua capacidade de proteção contra estresse oxidativo, o que é comum em microrganismos aeróbios e facultativos (Iwase e colaboradores em 2013).

No contexto da produção de polihidroxialcanoatos (PHA), os métodos de coloração utilizando corantes lipofílicos, como *Sudan Black B* e o *Nile Red*, forneceram evidências visuais consistentes da capacidade da cepa em acumular grânulos intracelulares desse biopolímero. A coloração azul-escuro observada com *Sudan Black B*, mesmo após a lavagem com etanol, indica a presença de lipídios de reserva compatíveis com PHA (Aljuraifani *et al.*, 2018; Sachan *et al.*, 2025).

Conforme descrito por Spiekermann *et al.* (1999), a fluorescência observada sob luz ultravioleta após cultivo em meio suplementado com *Nile Red* é a consequência da absorção do corante pela célula, acumulado em grânulos intracelulares que quando exposto à luz UV, emitem fluorescência, evidenciando a presença de biopolímero. O resultado positivo do presente estudo, reforça que essa técnica é altamente eficaz para triagem de bactérias produtoras de PHA e corroboram com estudos prévios que destacam *P. megaterium* como uma das espécies promissoras na síntese de biopolímeros (Shahid *et al.*, 2023; Cal *et al.*, 2025).

O desempenho amilolítico observado para *P. megaterium* E1 foi semelhante ao descrito por Alves (2018), que relatou ausência de halos nas primeiras 24 horas e valores de IE variando entre 0,60 e 3,33 após períodos mais longos de incubação. De forma semelhante, Sapkota *et al.* (2019) identificaram isolados com IE entre 1,2 e 1,6, faixa comparável aos valores obtidos no presente estudo, especialmente após 48 horas de incubação. Esses resultados sugerem que a cepa apresenta potencial crescente para a produção de amilase, embora com intensidade inferior à atividade proteolítica.

Diversos estudos destacam o gênero *Bacillus* como um dos principais produtores de enzimas hidrolíticas, especialmente a protease, devido à sua capacidade de atuar em diferentes temperaturas, concentrações de substrato e pH (Silva *et al.*, 2024). O estudo de Masi e colaboradoras (2021), no qual avaliaram os isolados do mesmo gênero provenientes de

amostras de efluente da indústria do couro, apresentou IE variando em 1,4 a 1,8, esses valores são comparáveis a bactéria avaliada no presente estudo que demonstrou IE médio entre 2,0 a 2,97.

Assim sendo, os dados gerais sugerem que a cepa *P. megaterium* E1 possui mecanismos eficientes de produção de proteases, o que a torna uma candidata viável para aplicações em setores da indústria alimentícia, de couro, detergentes e tratamento de resíduos, além da produção de PHA, contribuindo para o desenvolvimento de processos inovadores e sustentáveis, possibilitando maior eficiência produtiva e a preservação do meio ambiente (Razzaq *et al.*, 2019; Herrmann *et al.*, 2024; Naseem *et al.*, 2024).

Diante desses resultados, recomenda-se a realização de testes complementares, como a quantificação da atividade enzimática, a caracterização estrutural dos polímeros produzidos e a otimização de condições de cultivo visando o aumento do rendimento. A combinação dessas abordagens favorece o embasamento do estudo, possibilitando futuras estratégias de otimização de produção de enzimas e biopolímeros, além da possibilidade da modificação genética com foco no aumento da produtividade, aspecto essencial para aplicação industrial em larga escala.

7 CONCLUSÃO

Com base nas análises realizadas, o isolado *Priestia megaterium* cepa E1, proveniente de solo agrícola do município de Dourados, MS, apresentou características relevantes para microrganismos de interesse biotecnológico, mostrando-se como promissora tanto para produção de biopolímeros quanto de enzimas hidrolíticas. De modo geral, confirmou-se seu perfil morfotintorial característico do gênero, incluindo coloração Gram-positiva, de formato bacilar, com presença de esporos e positiva para o teste de catalase. Além disso, a cepa apresentou resultado positivo para os testes utilizando os corantes *Sudan Black* e *Nile Red*, confirmando a capacidade de produzir PHA.

O índice enzimático obtido para a produção de protease variou entre $2,0 \pm 0,25$ e $2,97 \pm 0,29$, sendo significativamente superior aos valores observados para a amilase em todos os períodos analisados. Para ambos os substratos, o período de incubação de 72 horas diferiu estatisticamente dos demais ($p > 0,05$), indicando crescente potencial enzimático ao longo do tempo. Esses resultados reforçam o potencial da cepa para a conversão eficiente de substratos simples e de baixo custo em materiais de alto valor agregado, favorecendo a sustentabilidade nos processos industriais e contribuindo para redução do impacto ambiental.

REFERÊNCIAS

- ABANG, S., *et al.* Bioplastic classifications and innovations in antibacterial, antifungal, and antioxidant applications. **Journal of Bioresources and Bioproducts**, v. 8, n. 4, 13 jul. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2023.06.005>.
- ACHARJEE, S. A., *et al.* PHA-based bioplastic: a potential alternative to address microplastic pollution. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 234, n. 1, 29 dez. 2022. DOI: 10.1007/s11270-022-06029-2.
- ADENIJI, A. A.; *et al.* Unveiling novel features and phylogenomic assessment of indigenous *Priestia megaterium* AB-S79 using comparative genomics. **Microbiology Spectrum**, 19 fev. 2025. DOI: 10.1128/spectrum.01466-24.
- AHMED, F. J. Microbial biotechnology and bioremediation. **Futuristic Biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 1, 31 dez. 2022. DOI: 10.54393/fbt.v2i02.13.
- ALFARO-NÚÑEZ, A., *et al.* Microplastic pollution in seawater and marine organisms across the tropical Eastern Pacific and Galápagos. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 19 mar. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85939-3>.
- ALAERTS, L.; AUGUSTINUS, M.; VAN ACKER, K. Impact of bio-based plastics on current recycling of plastics. **Sustainability**, v. 10, n. 5, p. 1487, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su10051487>.
- ALJURAIANI, A. A., *et al.* “Bacterial Biopolymer (Polyhydroxyalkanoate) Production from Low-Cost Sustainable Sources.” **MicrobiologyOpen**, vol. 8, no. 6, 22 Oct. 2018, p. e00755, <https://doi.org/10.1002/mbo3.755>.
- ALVES, B. A. “Bioprospecção de Bactérias Produtoras de Enzimas de Interesse Biotecnológico.” Uftm.edu.br, 2018, bdtd.uftm.edu.br/handle/tede/838, <http://bdtd.uftm.edu.br/handle/tede/838>.
- ARTIN, C.; KHUSRO, A.; AGASTIANO, P. Molecular diversity and hydrolytic enzymes production abilities of soil bacteria. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 12, p. 3235–3248, dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.049>.
- ASHOUR, M. A.; ABD-ELHALIM, B. T. Biosynthesis and biocompatibility evaluation of zinc oxide nanoparticles prepared using *Priestia megaterium* bacteria. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, 20 fev. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54460-8>.
- BAI, X.; *et al.* Unlocking efficient polyhydroxyalkanoate production by Gram-positive *Priestia megaterium* using waste-derived feedstocks. **Microbial Cell Factories**, v. 24, n. 1, 30 set. 2025. DOI: 10.1186/s12934-025-02803-z.
- BAJAR, S., *et al.* Exploration of low-cost agro-industrial waste substrate for cellulase and xylanase production using *Aspergillus heteromorphus*. **Applied Water Science**, v. 10, n. 6, jun. 2020. <https://doi.org/10.1007/s13201-020-01236-w>.

BARANWAL, J.; *et al.* Biopolymer: a sustainable material for food and medical applications. **Polymers**, v. 14, n. 5, p. 983, 28 fev. 2022. doi: 10.3390/polym14050983.

BARZKAR, N. Marine microbial alkaline protease: recent developments in biofilm and an ideal choice for industrial application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 161, jun. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.072>.

BASTOS, V. D. Biopolímeros e polímeros de matérias-primas renováveis alternativos aos petroquímicos. **Revista do BNDES**, v. 14, n. 204, 2017. Disponível em: <https://www.bndes.gov.br>.

BARY, A. Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozen und Bacterien. **Leipzig: W. Engelmann**, 1884. DOI: 10.5962/bhl.title.42380.

BIEDENDIECK, R., *et al.* The “beauty in the beast” – the multiple uses of *Priestia megaterium* in biotechnology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, n. 14–15, p. 5719–5737, ago. 2021. DOI: 10.1007/s00253-021-11424-6.

BUCHHOLZ, K.; COLLINS, J. The roots — a short history of industrial microbiology and biotechnology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 9, p. 3747–3762, 17 mar. 2013. DOI: 10.1007/s00253-013-4768-2.

BUCHHOLZ, K.; KASCHE, V.; BORNSCHEUER, U. T. Biocatalisadores e tecnologia enzimática. **John Wiley & Sons**, 2012.

BUSINESSWIRE. Global polyhydroxyalkanoate (PHA) market (2020 to 2025) - increasing scope in end-use segments presents opportunities - ResearchAndMarkets.com. Businesswire, 11 fev. 2021. Acesso em 15 de Jul de 2025.

CAL, A. J., *et al.* Polyhydroxyalkanoate production in *Priestia megaterium* strains from glycerol feedstock. **PLOS ONE**, v. 20, n. 4, 30 abr. 2025, p. 322-838. DOI: 10.1371/journal.pone.0322838.

CALERO, R. Obtención de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de cultivos mixtos microbianos usando efluentes ricos en ácidos grasos volátiles como sustrato. **Revista Científica y Tecnológica UPSE**, v. 2, n. 1, 15 jun. 2014. DOI: 10.26423/rctu.v2i1.36.

CHEN, J., *et al.* Global marine microbial diversity and its potential in bioprospecting. **Nature**, v. 633, 4 set. 2024. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07891-2>.

CHRISTENSEN, L. F., *et al.* Extracellular microbial proteases with specificity for plant proteins in food fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 381, 16 nov. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109889>.

COELHO, A. L. S., *et al.* “Produção de Amilases Por Levedura Selvagem Em Resposta à Diferentes Condições de Cultivo.” **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, vol. 8, no. 3, 15 Aug. 2020, pp. 179–186, sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/article/view/8441, <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v8n3.coelho>.

CORREA, F. F. De B. “Desenvolvimento de Um Bioprocesso Utilizando-Se Resíduos Para Produção de Amilases Por *Rhizopus Oligosporus* E Etanol Por *Saccharomyces Cerevisiae*.” Unesp.br, Universidade Estadual Paulista (Unesp), 25 Mar. 2015, repositorio.unesp.br/entities/publication/56136e8c-fd2f-4144-952d-1d37733e366b.

COSTA-GUTIERREZ, S. B., *et al.* Glycerol as a substrate for actinobacteria of biotechnological interest: advantages and perspectives in circular economy systems. **Chemosphere**, v. 279, 1 set. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130505>.

CUI, Z., *et al.* Isolation and characterization of *Priestia megaterium* KD7 for the biological control of pear fire blight. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 9 mar. 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1099664.

DINGLE, J.; *et al.* The enzymic degradation of pectin and other polysaccharides. II—Application of the “cup-plate” assay to the estimation of enzymes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 1, n. 3, 1950.

DO PRADO, C. C. A., *et al.* Fipronil biodegradation and metabolization by *Bacillus megaterium* strain E1. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 97, n. 2, p. 474-481, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jctb.6758>.

DONG, H. *et al.* Enhanced biomass production and wastewater treatment in attached co-culture of *Chlorella pyrenoidosa* with nitrogen-fixing bacteria *Azotobacter beijerinckii*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 46, n. 5, p. 707–716, fev. 2023. DOI: 10.1007/s00449-023-02855-8.

EL-NAHAL, A. S. M., *et al.* The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: a review. **European Journal of Plant Pathology**, v. 162, n. 4, 24 jan. 2022, p. 759–792. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02393-7>.

EL-RAYES, N, *et al.* Plastic management and sustainability: a data-driven study. **Sustainability**, v. 15, n. 9, 2023. <https://doi.org/10.3390/su15097181>.

ERDEM, A. *et al.* Recombinant expression and bioprocess optimization of *Priestia megaterium* α -amylase and its impact on dough fermentation efficiency. **Chemistry & Biodiversity**, 12 jul. 2025. DOI: 10.1002/cbdv.202500866.

EUROPEAN BIOPLASTICS. Bioplastics. Disponível em: <https://www.european-bioplastics.org/market/>. Acesso em 15 de Jul de 2025.

FAR, B. E., *et al.* Microbial alpha-amylase production: progress, challenges and perspectives. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 10, n. 3, p. 350–358, jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.34172/apb.2020.043>.

FERNANDES, R. Anotação funcional de sequências genômicas de polihidroxialcanoato em *Priestia megaterium* cepa E1 isolada de solo. Repositório UFGD, 2024. Disponível em: <http://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/handle/prefix/6301>.

FIGUEIREDO, T. V. B., *et al.* Production and characterization of polyhydroxyalkanoates obtained by fermentation of crude glycerin from biodiesel. **Química Nova**, v. 37, n. 7, 2014. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140183>.

FLÓREZ, M., *et al.* Selected biopolymers' processing and their applications: a review. **Polymers**, v. 15, n. 3, 26 jan. 2023. <https://doi.org/10.3390/polym15030641>.

GAMBOA, S. A. Polímeros. **Educación Química**, v. 6, n. 2, p. 104, 30 ago. 2018. Disponível em: <http://revistas.unam.mx/index.php/req/article/view/66717>.

GUPTA, R. S., *et al.* Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel Bacillaceae genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it only to the members of the *subtilis* and *cereus* clades of species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 11, p. 5753–5798, nov. 2020. DOI: 10.1099/ijsem.0.004475.

GEYER, R., *et al.* Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances**, v. 3, n. 7, 19 jul. 2017. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>.

GETACHEW, A.; WOLDESENBET, F. Production of biodegradable plastic by polyhydroxybutyrate (PHB) accumulating bacteria using low cost agricultural waste material. **BMC Research Notes**, v. 9, n. 1, dez. 2016. <https://doi.org/10.1186/s13104-016-2321-y>.

GÓMEZ-RAMOS, G. A., *et al.* “Bioreactor Engineering for Circular Economy: Bioactive Compound Production in Solid-State Fermentation—Review.” **Chemical Engineering & Technology**, vol. 48, no. 1, 14 Nov. 2024, <https://doi.org/10.1002/ceat.202400289>.

GRAND VIEW RESEARCH. Enzymes market size and share | Industry Report, 2033. **Grand View Research**, 2022. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/enzymes-industry#>. Acesso em 20 de Jul de 2025.

GUICHERD, M., *et al.* An engineered enzyme embedded into PLA to make self-biodegradable plastic. **Nature**, v. 631, n. 8022, 1 jul. 2024. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07709-1>.

GUPTA, R. S., *et al.* Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel Bacillaceae genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 11, 1 nov. 2020, p. 5753–5798. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004475>.

HA, D. T. T.; *et al.* Production of extracellular agarase from *Priestia megaterium* AT7 and evaluation on marine algae hydrolysis. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 172, p. 110339, jan. 2024. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2023.110339.

HACHISUKA, S., *et al.* Isolation and characterization of polyhydroxyalkanoate-degrading bacteria in seawater at two different depths from Suruga Bay. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 89, n. 11, 19 out. 2023. <https://doi.org/10.1128/aem.01488-23>.

HABITZREUTER, F., *et al.* Biopolímeros, processamento e aplicações. In: **Nanotecnologia aplicada a polímeros**. São Paulo: Blucher Open Access, 2023. p. 91–132. DOI: 10.5151/9786555502527-03.

HARIRCHI, S., *et al.* *Bacillales*: from taxonomy to biotechnological and industrial perspectives. **Microorganisms**, v. 10, n. 12, p. 2355, dez. 2022. DOI: 10.3390/microorganisms10122355.

HARTMAN, T. L. The use of Sudan Black B as a bacterial fat stain. **Stain Technology**, v. 15, n. 1, p. 23–28, jan. 1940. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/10520294009110328>.

HERRMANN, L. W., *et al.* “Bacillus Genus Industrial Applications and Innovation: First Steps towards a Circular Bioeconomy.” **Biotechnology Advances**, vol. 70, 2024, p. 108300, pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38101553/, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108300>.

HUR, A., *et al.* *Bacillus megaterium*: evaluation of chemical nature of metabolites and their antioxidant and agronomic properties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 6, 12 mar. 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms25063235>.

ISOBE, A.; SHINSUKE, I. The fate of missing ocean plastics: are they just a marine environmental problem? **Science of the Total Environment**, v. 825, p. 153, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153935>.

IKHLAS, R. M. “Industrial Applications of Microbial Protease: A Review.” **Academic Science Journal**, vol. 1, no. 3, 1 July 2023, pp. 141–160, <https://doi.org/10.24237/asj.01.03.721cc>. Accessed 11 Dec. 2023.

IWASE, T., *et al.* “A Simple Assay for Measuring Catalase Activity: A Visual Approach.” **Scientific Reports**, vol. 3, no. 1, 30 Oct. 2013, p. 3081, www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3812649/.

JAHANIAN, A., *et al.* Advancing precision fermentation: minimizing power demand of industrial scale bioreactors through mechanistic modelling. **Computers & Chemical Engineering**, v. 188, 1 set. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2024.108755>.

JO, H., *et al.* Growth increase in the herbaceous plant *Centella asiatica* by the plant growth-promoting rhizobacteria *Priestia megaterium* HyangYak-01. **Plants**, v. 12, n. 13, p. 23–98, jun. 2023. DOI: 10.3390/plants12132398.

KHALIL, A., *et al.* Insights into the potential of biopolymeric aerogels as advanced soil-fertilizer delivery systems. **Gels**, v. 9, n. 8, p. 666, ago. 2023. DOI: 10.3390/gels9080666.

KHAN, M. F. Recent advances in microbial enzyme applications for sustainable textile processing and waste management. **Sci**, v. 7, n. 2, p. 46, abr. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/sci7020046>.

KOLLER, M.; MUKHERJEE, A. Polyhydroxyalkanoates (PHAs): production, properties, and biodegradation. **Biodegradable Polymers in the Circular Plastics Economy**, p. 145–204, 2022. DOI: 10.3390/bioengineering9020074.

KOSKEY, G., *et al.* Potential use of beneficial microorganisms for soil amelioration, phytopathogen biocontrol, and sustainable crop production in smallholder agroecosystems. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 29 abr. 2021. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.606308>.

KUMAR, R., *et al.* Vitamin B12: strategies for enhanced production, fortified functional food products and health benefits. **Process Biochemistry**, v. 127, p. 44–55, abr. 2023. DOI: 10.1016/j.procbio.2023.02.002.

KUMAR, R. Impacts of plastic pollution on ecosystem services, sustainable development goals, and need to focus on circular economy and policy interventions. **Sustainability**, v. 13, n. 17, 2021, p. 9963. <https://doi.org/10.3390/su13179963>.

LI, Q., *et al.* A plant growth-promoting bacteria *Priestia megaterium* JR48 induces plant resistance to the crucifer black rot via a salicylic acid-dependent signaling pathway. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 10 nov. 2022. DOI: 10.3389/fpls.2022.1046181.

LIU, B., *et al.* Growth-promoting bacteria double eicosapentaenoic acid yield in microalgae. **Bioresource Technology**, v. 316, p. 123916, nov. 2020. DOI: 10.1016/j.biortech.2020.123916.

LIU, H., *et al.* Unraveling the degradation mechanism of multiple pyrethroid insecticides by *Pseudomonas aeruginosa* and its environmental bioremediation potential. **Environment International**, v. 195, 17 dez. 2024, p. 109–221. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.109221>.

MAGHRABY, Y. R., *et al.* Enzyme immobilization technologies and industrial applications. **ACS Omega**, v. 8, n. 6, 31 jan. 2023, p. 5184–5196. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07560>.

MASI, C., *et al.* “Isolation, Screening, Characterization, and Identification of Alkaline Protease-Producing Bacteria from Leather Industry Effluent.” **Annals of Microbiology**, vol. 71, no. 1, 6 July 2021, <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01631-x>.

MAITI, P. K., *et al.* *Streptomyces* sp. SM01 isolated from Indian soil produces a novel antibiotic picolinamycin effective against multi drug resistant bacterial strains. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 22 jun. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66984-w>.

MAMO, J.; ASSEFA, F. The role of microbial aspartic protease enzyme in food and beverage industries. **Journal of Food Quality**, 3 jul. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7957269>.

MARCHÃO, R. L., *et al.* Improving soybean development and grain yield by complementary inoculation with growth-promoting bacteria *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Priestia*, and *Bacillus*. **Plants**, v. 14, n. 3, p. 402, jan. 2025. DOI: 10.3390/plants14030402.

MARTINS, F.; GUPTA, R. K. Bacteria for bioplastics: progress, applications, and challenges. **ACS Omega**, v. 9, n. 8, 12 fev. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c07372>.

MEGHWANSHI, G. K., *et al.* Enzymes for pharmaceutical and therapeutic applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 67, n. 4, 8 mai. 2020. <https://doi.org/10.1002/bab.1919>.

MENG, D., *et al.* A *Priestia megaterium* MF3 with high-efficiency zearalenone degradation: functional genomic insights and mechanistic exploration. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, p. 1630165, jan. 2025. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1630165.

NAM, N. N., *et al.* Metagenomics: an effective approach for exploring microbial diversity and functions. **Foods**, v. 12, n. 11, 2023, p. 2140. <https://doi.org/10.3390/foods12112140>.

NANDA, S., *et al.* Innovations in applications and prospects of bioplastics and biopolymers: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 20, n. 1, 29 nov. 2021, p. 379–395. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01334-4>.

NASCIMENTO, F. X., *et al.* Plant growth-promoting activities and genomic analysis of the stress-resistant *Bacillus megaterium* STB1, a bacterium of agricultural and biotechnological interest. **Biotechnology Reports**, v. 25, p. 04-06, mar. 2020. DOI: 10.1016/j.btre.2019.e00406.

NASSEEM, A., *et al.* “Bacterial Production of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) Using Various Waste Carbon Sources.” **PeerJ**, vol. 12, 24 Oct. 2024, pp. e17936–e17936, <https://doi.org/10.7717/peerj.17936>.

NIYONZIMA, F. N.; VENNA, S. M.; SUNIL, S. Industrial production and optimization of microbial enzymes. In: **Microorganisms for Sustainability**, v. 11, p. 115–135, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-15-1710-5_5.

NOWAK, A., *et al.* Plant growth-promoting and biocontrol potential of endophytic *Priestia megaterium* strain YB-3 against phytopathogens. **Journal of Pest Science**, v. 97, n. 4, 2024, p. 2237–2256. <https://doi.org/10.1007/s10340-024-01753-6>.

OBEROI, G.; GARG, A. Single-use plastics: A roadmap for sustainability?. **Supremo Amicus**, v. 24, p. 585, 2021. <https://www.unep.org/resources/report/single-use-plastics-roadmap-sustainability>.

OBRUČA, S., *et al.* Polyhydroxyalkanoates synthesis by halophiles and thermophiles: towards sustainable production of microbial bioplastics. **Biotechnology Advances**, v. 58, p. 107906, jan. 2022. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2022.107906.

ONU. “Microplásticos, Microesferas E Plásticos Descartáveis Contaminam Vida Marinha E Afetam Humanos.” **ONU News**, 11 Nov. 2019, news.un.org/pt/story/2019/11/1693991. Acesso em 20 de Ago de 2025

ONU. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável | As Nações Unidas no Brasil. **ONU Brasil**, 2023. <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em 10 de Jul de 2025.

OSORIO-REYES, J. G., *et al.* Microalgae-based biotechnology as alternative biofertilizers for soil enhancement and carbon footprint reduction: advantages and implications. **Marine Drugs**, v. 21, n. 2, p. 93, fev. 2023. DOI: 10.3390/md21020093.

OYEWOLE, O. A., *et al.* Production of polyhydroxyalkanoate (PHA) by *Pseudomonas aeruginosa* using agrowastes as carbon source. **Cleaner Materials**, v. 11, 1 mar. 2024, p. 100217. <https://doi.org/10.1016/j.clema.2024.100217>.

PAN, I., *et al.* Exploration of compost soil for the production of thermo-stable *Bacillus* protease to synthesize bioactive compounds through soy protein hydrolysis. **Agronomy**, v. 13, n. 4, 1 abr. 2023, p. 1019. <https://doi.org/10.3390/agronomy13041019>.

PARK, H., *et al.* “PHA Is Not Just a Bioplastic!” **Biotechnology Advances**, vol. 71, 1 Mar. 2024, pp. 108320–108320, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108320>.

POLMAN, E. M. N., *et al.* “Comparison of the Aerobic Biodegradation of Biopolymers and the Corresponding Bioplastics: A Review.” **Science of the Total Environment**, vol. 753, Jan. 2021, p. 141953, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141953>.

POVEDA, J.; GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. *Bacillus* as a source of phytohormones for use in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, n. 23, p. 8629–8645, dez. 2021. DOI: 10.1007/s00253-021-11492-8.

RAJENDRAN S.; LOGANATHAN K.; POPAT K. C. (2025) Editorial: Prospecção microbiana e biomateriais. **Frente Microbiol.** 15:1540191. doi: 10.3389/fmicb.2024.1540191.

RAMAMURTHY, P. C., *et al.* “Microbial Biotechnological Approaches: Renewable Bioprocessing for the Future Energy Systems.” **Microbial Cell Factories**, vol. 20, no. 1, 2 Mar. 2021, <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01547-w>.

RAZZAQ, A., *et al.* “Microbial Proteases Applications.” **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, vol. 7, no. 110, 12 June 2019, <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00110>.

RAY, Ayusmita; *et al.* A review on co-culturing of microalgae: a greener strategy towards sustainable biofuels production. **Science of the Total Environment**, v. 802, p. 149765, jan. 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149765.

REYES-DE-CORCUERA, J. I., *et al.* “Stability and Stabilization of Enzyme Biosensors: The Key to Successful Application and Commercialization.” **Annual Review of Food Science and Technology**, vol. 9, 25 Mar. 2018, pp. 293–322, pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29580138/, <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-025713>.

RIOS-RUIZ, W. F., *et al.* “Co-Inoculation of Endophytes *Bacillus Siamensis* TUR07-02b and *Priestia Megaterium* SMBH14-02 Promotes Growth in Rice with Low Doses of Nitrogen Fertilizer.” **Plants**, vol. 12, no. 3, 23 Jan. 2023, pp. 524–524, doi.org/10.3390%2Fplants12030524, <https://doi.org/10.3390/plants12030524>.

ROSSUM, T. V., *et al.* “Diversity within Species: Interpreting Strains in Microbiomes.” **Nature Reviews Microbiology**, vol. 18, 4 June 2020, pp. 1–16, www.nature.com/articles/s41579-020-0368-1, <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0368-1>.

SAMUEL, D. Investigation of ancient Egyptian baking and brewing methods by correlative microscopy. **Science**, v. 273, n. 5274, p. 488–490, 26 jul. 1996. DOI: 10.1126/science.273.5274.488.

SAPKOTA, S., *et al.* “Screening and Optimization of Thermo-Tolerant *Bacillus* Sp. For Amylase Production and Antifungal Activity.” **Journal of Institute of Science and Technology**, vol. 24, no. 1, 26 June 2019, pp. 47–56, <https://doi.org/10.3126/jist.v24i1.24628>.

SAWANT, P. S.; THUMAR, J. T. Sensing oxy anodic microbial fuel cell potential of halotolerant protease producer *Priestia megaterium* BorS17B13 belonging to mangrove biota. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 11, n. 6, 2023. DOI: 10.7324/jabb.2023.152337.

SHALEM, A., *et al.* “Enzymatic Degradation of Polylactic Acid (PLA).” **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 108, no. 1, 10 July 2024, <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13212-4>.

SACHAN, R. S. K., *et al.* “Screening and Characterization of PHA Producing Bacteria from Sewage Water Identifying *Bacillus Paranthracis* RSKS-3 for Bioplastic Production.” **BMC Microbiology**, vol. 25, no. 1, 14 Mar. 2025, <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03841-8>.

SHAHID, S., *et al.* “Bioconversion of Glycerol into Polyhydroxyalkanoates through an Atypical Metabolism Shift Using *Priestia Megaterium* during Fermentation Processes: A Statistical Analysis of Carbon and Nitrogen Source Concentrations.” **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 256, 17 Nov. 2023, pp. 128116–128116, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128116>.

SILVA, M. T., *et al.* “*Bacillus Subtilis* Como Recurso Biotecnológico Para Produção de Enzimas E Suas Aplicações: Uma Revisão.” **OBSERVATÓRIO de LA ECONOMÍA LATINO AMERICANA**, vol. 22, no. 7, 3 July 2024, pp. e5628–e5628, <https://doi.org/10.55905/oelv22n7-049>.

SINGH, S., *et al.* “Biocatalyst for the Synthesis of Natural Flavouring Compounds as Food Additives: Bridging the Gap for a More Sustainable Industrial Future.” **Food Chemistry**, vol. 435, 1 Mar. 2024, p. 137217, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137217>.

SOLANK, P., *et al.* “Microbial Proteases: Ubiquitous Enzymes with Innumerable Uses.” **3 Biotech**, vol. 11, no. 10, 8 Sept. 2021, <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02928-z>.

SPIEKERMANN, P.; *et al.* A sensitive, viable-colony staining method using Nile Red for direct screening of bacteria that accumulate polyhydroxyalkanoic acids and other lipid storage compounds. *Archives of Microbiology*, v. 171, n. 2, p. 73–80, jan. 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s002030050681>.

SU, Y., *et al.* *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. **Microbial Cell Factories**, v. 19, n. 173, 3 set. 2020. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01436-8>.

TENNAKOON, P., *et al.* Marine-derived biopolymers as potential bioplastics: an eco-friendly alternative. **iScience**, v. 26, n. 4, p. 106404, abr. 2023. DOI: 10.1016/j.isci.2023.106404.

TOBIÁS-SORIA, D.; *et al.* Microbes as a bio-factory for polyhydroxyalkanoate biopolymer production. **Biorreatores Microbianos para Moléculas Industriais**, v. 7, p. 131–160, jun. 2023. <https://doi.org/10.1002/9781119874096.ch7>.

TRAPÉ, D. V., *et al.* “Exploitation of Biomass to the Integrated Production of Bioethanol and Poly(Hydroxyalkanoate)S.” **BioEnergy Research/BioEnergy Research**, vol. 17, no. 1, 31 Aug. 2023, pp. 27–41, <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10661-z>.

UNAL, B. T. Biotechnology and agriculture: future prospects. **NUST Journal of Natural Sciences**, v. 9, n. 4, 18 dez. 2024. DOI: 10.53992/njns.v9i4.216.

VIJAYARAGHAVAN, P., *et al.* “Enhanced Production of Fibrinolytic Enzyme by a New *Xanthomonas Oryzae* IND3 Using Low-Cost Culture Medium by Response Surface Methodology.” **Saudi Journal of Biological Sciences**, vol. 26, no. 2, Feb. 2019, pp. 217–224, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.029>.

VITORINO, L. C.; BESSA, L. A. Technological microbiology: development and applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 10 maio 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00827.

VOJNOVIC, S., *et al.* “*Bacillus* and *Streptomyces* Spp. As Hosts for Production of Industrially Relevant Enzymes.” **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 108, no. 1, 30 Jan. 2024, <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12900-x>.

WALTERS, K. E.; MARTINY, J. B. H. “Alpha-, Beta-, and Gamma-Diversity of Bacteria Varies across Habitats.” **PLOS ONE**, vol. 15, no. 9, 23 Sept. 2020, p. e0233872, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233872>.

WANG, T., *et al.* “Bioremediation of Alkane-Containing Saline Soils Using the Long-Chain Alkane-Degrading Bacterium *Pseudomonas Aeruginosa* DL: Effects, Communities, and Networks.” **Journal of Hazardous Materials**, vol. 488, 26 Jan. 2025, pp. 137401–137401, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.137401>.

WILTSCHI, B., *et al.* “Enzymes Revolutionize the Bioproduction of Value-Added Compounds: From Enzyme Discovery to Special Applications.” **Biotechnology Advances**, vol. 40, May 2020, p. 107520, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107520>.

YAO, H., *et al.* “Microbial-Derived Salt-Tolerant Proteases and Their Applications in High-Salt Traditional Soybean Fermented Foods: A Review.” **Bioresources and Bioprocessing**, vol. 10, no. 1, 18 Nov. 2023, <https://doi.org/10.1186/s40643-023-00704-w>.

YE, S., *et al.* “Biocontrol Potential of *Priestia Megaterium* YB-3 against *Meloidogyne Graminicola* and Its Impact on the Rhizosphere Microbial Community.” **Journal of Pest Science**, vol. 97, no. 4, 19 Feb. 2024, pp. 2237–2256, <https://doi.org/10.1007/s10340-024-01753-6>.

ZHANG, X., *et al.* “Unraveling Whole-Genome Sequence and Functional Characterization of *P. Megaterium* PH3.” **Foods**, vol. 13, no. 22, 7 Nov. 2024, pp. 3555–3555, <https://doi.org/10.3390/foods13223555>.

ZELAYA-MOLINA, L. X., *et al.* Plant growth-promoting and heavy metal-resistant *Priestia* and *Bacillus* strains associated with pioneer plants from mine tailings. **Archives of Microbiology**, v. 205, n. 9, 24 ago. 2023. DOI: 10.1007/s00203-023-03650-5.

ZHENG, Y., *et al.* “Untargeted Metabolomics Elucidated Biosynthesis of Polyhydroxyalkanoate by Mixed Microbial Cultures from Waste Activated Sludge under Different PH Values.” **Journal of Environmental Management**, vol. 331, 1 Apr. 2023, pp. 117300–117300, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117300>.