REMUNOM
ISSN 2178-6925

Received: 13/10/2026 - **Accepted:** 17/11/2026
Vol: 13.24
DOI: 10.66104/77xckq71
Pages: 1-20

CINÉTICA DE CRESCIMENTO DO ISOLADO EB-37 DE *Bacillus* sp. E SUA ASSOCIAÇÃO COM INDICADORES ÓPTICOS E FÍSICO-QUÍMICOS

GROWTH KINETICS OF *Bacillus* sp. ISOLATE EB-37 AND ITS ASSOCIATION WITH OPTICAL AND PHYSICOCHEMICAL INDICATORS

Déborah Cristina Dias Campos
Doutora em Produção Vegetal, UNIMONTES – Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil
E-mail: dehdiias.campos@gmail.com

Bruna Rafaella Alves da Silva
Mestranda em Produção Vegetal no Semiárido, UNIMONTES – Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil
E-mail: brunarafaellaagro@gmail.com

Bruno Rafael Alves Rodrigues
Doutor em Produção Vegetal no Semiárido, UNIMONTES – Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil
E-mail: rafabrunoalves@hotmail.com

Giovanna Barbosa de Sá
Mestranda em Produção Vegetal no Semiárido, UNIMONTES – Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil
E-mail: giobarbosa9242@gmail.com

Ana Júlia Lins Campos Nunes
Graduanda em Agronomia, UNIMONTES – Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil
E-mail: alins941@yahoo.com

Ana Flávia Pereira Silva
Graduanda em Agronomia, UNIMONTES – Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil
E-mail: annafpereiras@gmail.com

Herika Dayane da Silva
Doutora em Produção Vegetal no Semiárido, UNIMONTES – Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil
E-mail: herykadaiane@hotmail.com

Marlon Cristian Toledo Pereira
Professor de Educação Superior, UNIMONTES – Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil
E-mail: Marlon.pereira@unimontes.br

REMUNOM
ISSN 2178-6925

Received: 13/10/2026 - **Accepted:** 17/11/2026
Vol: 13.24
DOI: 10.66104/77xckq71
Pages: 1-20

RESUMO

Objetivou-se caracterizar a cinética de crescimento do isolado EB-37 de *Bacillus* sp. em meio Tryptic Soy Broth (TSB) e avaliar sua associação com indicadores ópticos e físico-químicos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco períodos de incubação (8, 16, 24, 32 e 48 h) e três repetições biológicas, além de três leituras técnicas de uma mesma suspensão no tempo inicial (0 h). Os cultivos foram mantidos a 28 ± 2 °C e 150 rpm. Determinaram-se unidades formadoras de colônias (UFC), densidade óptica a 600 nm (DO_{600}), pH, condutividade elétrica (CE) e sólidos solúveis totais (SST). Os resultados foram avaliados por análise de variância, teste de Tukey, regressões e correlações. A concentração cultivável passou de 4,58 Log_{10} UFC mL^{-1}, em 8 h, para 8,87 Log_{10} UFC mL^{-1}, em 24 h, sem diferenças significativas detectadas entre 24, 32 e 48 h, o que não comprova equivalência entre esses períodos. O modelo logístico apresentou R^2 = 0,951. A associação entre DO_{600} e concentração cultivável foi mais bem descrita pelo modelo quadrático (R^2 = 0,877), e a correlação parcial permaneceu significativa após controle linear do tempo (r_p = 0,738; p = 0,003). O pH e a CE variaram com a incubação, enquanto os SST não apresentaram efeito significativo. Conclui-se que 24 h foi o primeiro período amostrado sem incremento significativo detectado nos tempos seguintes, nas condições avaliadas e que a DO_{600} pode auxiliar o monitoramento, mediante calibração específica.

Palavras-chave: Cultivo bacteriano; Inóculo microbiano; Densidade óptica; Unidades formadoras de colônias.

ABSTRACT

This study characterized the growth kinetics of *Bacillus* sp. isolate EB-37 in Tryptic Soy Broth (TSB) and evaluated associations with optical and physicochemical indicators. A completely randomized design included five incubation periods (8, 16, 24, 32, and 48 h) with three biological replicates, plus three technical readings from a single inoculum suspension at baseline (0 h). Cultures were incubated at 28 ± 2 °C and 150 rpm. Colony-forming units (CFU), optical density at 600 nm (OD_{600}), pH, electrical conductivity (EC), and total soluble solids (TSS) were measured. Data were analyzed using ANOVA, Tukey's test, regression, and correlation analyses. Culturable concentration increased from 4.58 log_{10} CFU mL^{-1} at 8 h to 8.87 log_{10} CFU mL^{-1} at 24 h, with no statistically detectable differences among 24, 32, and 48 h; this does not demonstrate equivalence. The logistic model yielded R^2 = 0.951. The association between OD_{600} and culturable concentration was better represented by a quadratic model (R^2 = 0.877), and the partial correlation remained significant after linear adjustment for time (r_p = 0.738; p = 0.003). pH and EC changed during incubation, whereas TSS showed no significant time effect. Under the tested conditions, 24 h was the earliest sampled period without a statistically detectable further increase in CFU, and OD_{600} may support culture monitoring after isolate-specific calibration.

Keywords: *Bacillus* sp.; Bacterial culture; Microbial inoculum; Optical density; Colony-forming units.

RESUMEN

Se caracterizó la cinética de crecimiento del aislado EB-37 de *Bacillus* sp. en medio Tryptic Soy Broth (TSB) y su asociación con indicadores ópticos y fisicoquímicos. Se utilizó un diseño completamente al azar con cinco períodos de incubación (8, 16, 24, 32 y 48 h), tres repeticiones biológicas y tres lecturas técnicas iniciales (0 h) de una misma suspensión de inóculo. Los cultivos se mantuvieron a 28 ± 2 °C y 150 rpm. Se determinaron unidades formadoras de colonias (UFC), densidad óptica a 600 nm (DO_{600}), pH, conductividad eléctrica (CE) y sólidos solubles totales (SST). Los datos se analizaron mediante ANOVA, prueba de Tukey, regresiones y correlaciones. La concentración cultivable aumentó de 4,58 log_{10} UFC mL^{-1} a las 8 h a 8,87 log_{10} UFC mL^{-1} a las 24 h, sin diferencias significativas detectadas entre 24, 32 y 48 h, lo que no demuestra equivalencia. El modelo logístico presentó R^2 = 0,951. La relación entre DO_{600} y concentración cultivable se describió mejor con un modelo cuadrático (R^2 = 0,877); la correlación parcial fue significativa tras controlar linealmente el tiempo (r_p = 0,738; p = 0,003). El pH y la CE variaron con la incubación, mientras que los SST no mostraron un efecto significativo. Las 24 h fueron el primer período muestreado sin incremento significativo detectado en las evaluaciones posteriores, bajo las condiciones estudiadas, y la DO_{600} puede contribuir al monitoreo tras una calibración específica.

REMUNOM
ISSN 2178-6925

Received: 13/10/2026 - **Accepted:** 17/11/2026
Vol: 13.24
DOI: 10.66104/77xckq71
Pages: 1-20

Palabras clave: *Bacillus* sp.; Cultivo bacteriano; Inóculo microbiano; Densidad óptica; Unidades formadoras de colonias.

1. INTRODUÇÃO

Espécies do gênero *Bacillus* apresentam interesse no desenvolvimento de bioinsumos agrícolas por sua capacidade de formar endósporos e produzir compostos associados à promoção do crescimento vegetal e ao controle biológico (Khan et al., 2022). Em diferentes linhagens, a disponibilização de nutrientes e a síntese de metabólitos bioativos ampliam as possibilidades de aplicação no manejo agrícola (Luo et al., 2022). Entretanto, o desenvolvimento de inoculantes exige procedimentos reprodutíveis de multiplicação e controle da qualidade microbiológica, além de considerar os desafios de formulação e conservação das culturas (Bini et al., 2024; Fadiji et al., 2024).

A obtenção de inóculos com concentração adequada de unidades formadoras de colônias (UFC) depende do isolado e das condições de cultivo. Composição do meio, temperatura, pH, agitação, aeração e duração da incubação podem alterar o crescimento de *Bacillus* (Vlajkov et al., 2022). Estudos com *B. velezensis* demonstram a importância da adequação dessas condições para a multiplicação bacteriana (Shi et al., 2024; Cao et al., 2024). Como o desempenho varia entre linhagens, a definição de um período de incubação deve ser fundamentada em dados produzidos nas condições específicas de cada sistema.

O acompanhamento temporal do cultivo permite identificar períodos de maior incremento da população cultivável e a aproximação de um patamar de concentração. Modelos sigmoides podem auxiliar na descrição dessas trajetórias, desde que seus parâmetros sejam interpretados conforme a amostragem experimental (Zwietering et al., 1990). Revisões recentes sobre modelagem microbiana também ressaltam a importância de escolher adequadamente a função matemática e evitar extrapolações além dos dados observados (Wang; Guo, 2024).

A contagem de UFC por plaqueamento estima unidades capazes de formar colônias nas condições do ensaio; a técnica de microgotas constitui uma alternativa para essa quantificação (Herigstad; Hamilton; Heersink, 2001). A densidade óptica a 600 nm (DO_{600}) permite monitorar rapidamente a turbidez, mas não distingue células cultiváveis de partículas ou células não cultiváveis. A relação entre DO_{600} e concentração microbiana depende das características celulares e das condições instrumentais, exigindo calibração específica (Beal et al., 2020; Mira; Yeh; Hall, 2022).

Indicadores físico-químicos, como pH, condutividade elétrica (CE) e sólidos solúveis totais (SST), podem registrar alterações no meio durante a incubação. Entretanto, a variação desses parâmetros não representa necessariamente alteração proporcional no número de UFC. A CE expressa propriedades relacionadas à concentração e à mobilidade de espécies iônicas, enquanto °Brix é uma leitura refratométrica global, sem identificação dos componentes presentes. Por isso, sua utilidade para o monitoramento da multiplicação bacteriana precisa ser confrontada com a contagem microbiológica.

Ainda são necessários parâmetros operacionais específicos para a multiplicação do isolado EB-37 de *Bacillus* sp. em meio Tryptic Soy Broth (TSB), particularmente quanto ao primeiro período de incubação sem incremento estatisticamente detectado em relação aos tempos posteriores e à utilidade de indicadores indiretos. Objetivou-se caracterizar a dinâmica de crescimento do EB-37 em diferentes tempos de incubação, por contagem de UFC e DO_{600}, e avaliar as alterações de pH, CE e SST e suas associações com a população cultivável.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento e material biológico

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioinsumos da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), utilizando o isolado EB-37 de *Bacillus* sp.,

proveniente da bacterioteca do Laboratório de Fitopatologia da mesma instituição. O estudo teve como finalidade caracterizar a dinâmica de crescimento bacteriano em meio líquido Tryptic Soy Broth (TSB), sob diferentes períodos de incubação, por meio da quantificação de unidades formadoras de colônias (UFC) e da avaliação das características físico-químicas do cultivo.

2.2 Preparo do inóculo

Para obtenção do inóculo, foram retirados 100 µL de material bacteriano da cultura do isolado EB-37, pertencente à bacterioteca do Laboratório de Fitopatologia da Unimontes. Esse volume foi distribuído e espalhado sobre uma placa de Petri contendo meio de cultura sólido, que permaneceu em câmara de incubação do tipo BOD, a 28 °C, durante 24 h. Após esse período, a superfície da placa com crescimento bacteriano foi lavada com 20 mL de solução salina, obtendo-se a suspensão utilizada no preparo do inóculo. A densidade óptica dessa suspensão foi determinada em espectrofotômetro a 600 nm (DO_{600}) e padronizada para DO_{600} de 1,332. A suspensão padronizada foi utilizada para inocular o meio TSB na proporção de 1% (v/v).

2.3 Delineamento experimental e condições de cultivo

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), constituído por cinco períodos de incubação (8, 16, 24, 32 e 48 h), com três repetições biológicas por tratamento, totalizando 15 unidades experimentais independentes. Para caracterização do tempo inicial (0 h), foram obtidas três alíquotas retiradas do mesmo frasco, contendo o mesmo inóculo bacteriano. Essas três leituras correspondem a repetições técnicas da avaliação inicial, não a três repetições biológicas independentes. O conjunto de registros compreendeu, portanto, 15 observações de unidades experimentais independentes e três leituras técnicas iniciais (18 registros ao todo).

Cada unidade experimental foi constituída por um frasco Erlenmeyer de 500 mL, contendo 50 mL de meio TSB inoculado com a suspensão bacteriana previamente padronizada. Os frascos foram mantidos em agitador orbital (shaker), sob temperatura de 28 ± 2 °C e agitação constante de 150 rpm, durante os respectivos períodos de incubação.

O experimento foi conduzido em sistema destrutivo, utilizando unidades experimentais independentes para cada período de avaliação. Ao término do tempo estabelecido, os frascos correspondentes foram retirados definitivamente do sistema de incubação e submetidos às determinações microbiológicas e físico-químicas.

2.4 Determinação da concentração de células cultiváveis

A concentração bacteriana cultivável foi determinada pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), empregando-se o método de plaqueamento por microgotas (Drop Plate Method), de acordo com Herigstad, Hamilton e Heersink (2001), com adaptações às condições do experimento.

Para cada suspensão bacteriana amostrada, foram preparadas 11 diluições seriadas decimais em microtubos tipo Eppendorf, cada um contendo 0,90 mL de solução salina estéril. Ao primeiro microtubo foram adicionados 100 µL da suspensão. Após homogeneização em vortex, transferiram-se 100 µL para o microtubo seguinte, repetindo-se o procedimento até a última diluição e homogeneizando-se cada microtubo antes da transferência seguinte.

O plaqueamento foi realizado em placas de Petri contendo Tryptic Soy Agar (TSA), com a superfície organizada em três setores. Para cada diluição, foram retiradas três alíquotas de 10 µL, correspondentes às três réplicas técnicas. Cada alíquota foi depositada na superfície do ágar, formando uma microgota. As placas foram incubadas a 28 °C por 12 h, conforme o procedimento registrado para o estudo.

Após a incubação, foram contadas as colônias individualizadas nas microgotas das diluições adequadas à contagem. A concentração em UFC mL^{-1} foi calculada considerando o número de colônias, o volume de 10 µL depositado e o fator de diluição correspondente. As três microgotas de cada diluição constituíram réplicas técnicas, sem representar unidades biológicas independentes. O método permite distribuir pequenos volumes de diferentes diluições em uma mesma placa, reduzindo o consumo de meio de cultura e facilitando a enumeração bacteriana (Herigstad; Hamilton; Heersink, 2001).

Os resultados foram expressos em UFC mL^{-1} e, posteriormente, transformados em Log_{10} UFC mL^{-1} para as análises estatísticas.

2.5 Determinação da densidade óptica

A densidade óptica das suspensões bacterianas foi determinada em espectrofotômetro, mediante leitura a 600 nm (DO_{600}). Antes da leitura das culturas, utilizou-se uma amostra do próprio meio TSB sem inoculação como branco instrumental, de modo a descontar a contribuição óptica do meio de cultivo. As leituras foram realizadas nas amostras correspondentes a cada período de incubação.

A DO_{600} foi utilizada como indicador indireto da turbidez e da densidade celular, sendo posteriormente relacionada à concentração de UFC. Como essa relação

depende das características celulares e das condições de leitura, os ajustes obtidos são específicos do sistema avaliado e não representam calibração preditiva validada para outros cultivos (Mira; Yeh; Hall, 2022).

2.6 Determinação do pH, condutividade elétrica e sólidos solúveis

O pH, a condutividade elétrica (CE) e os sólidos solúveis totais (SST) foram determinados simultaneamente às avaliações microbiológicas e ópticas, para acompanhar as alterações físico-químicas do meio durante a incubação do isolado EB-37 de Bacillus sp.

O pH foi determinado diretamente nas amostras em pHmetro de bancada. A CE foi mensurada com condutivímetro portátil e expressa em milisiemens por centímetro (mS/cm). Os SST foram determinados por refratometria e expressos em graus Brix (°Brix).

As determinações de DO_{600}, pH, condutividade elétrica e sólidos solúveis totais foram realizadas nos períodos de 0, 8, 16, 24, 32 e 48 h. No tempo de 0 h, as três amostras foram alíquotas da mesma suspensão, constituindo medições técnicas da condição inicial do cultivo.

2.7 Análises estatísticas

Os dados de concentração celular foram transformados em Log_{10} UFC mL^{-1} antes das análises estatísticas. O efeito do tempo de incubação foi avaliado por análise de variância (ANOVA), considerando o tempo como fator experimental. Para Log_{10} UFC mL^{-1}, foram analisados os períodos de 8 a 48 h, com três unidades biológicas independentes por tempo (n = 15). As análises originalmente realizadas para DO_{600}, pH, CE e °Brix utilizaram 18 registros distribuídos nos seis tempos (0, 8, 16, 24, 32 e 48 h). Contudo, as três leituras de 0 h foram obtidas de um único frasco com o mesmo inóculo e constituem réplicas técnicas; portanto, comparações inferenciais envolvendo esse período devem ser interpretadas com cautela, devido à ausência de independência biológica no tempo inicial.

Quando constatado efeito significativo do tempo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a caracterização da cinética de crescimento bacteriano, foi ajustado um modelo de regressão logística não linear aos dados de concentração de UFC transformados em Log_{10} UFC mL^{-1}, em função do tempo de incubação, considerando os períodos de 8 a 48 horas. O modelo utilizado foi descrito pela expressão:

$$Y = \alpha/[1 + \exp(\beta - \gamma t)]$$

Em que Y corresponde à concentração bacteriana expressa em Log_{10} UFC mL^{-1}; α representa a assíntota superior do modelo; β e γ são parâmetros estimados pela regressão; e t corresponde ao tempo de incubação, em horas.

A partir dos parâmetros estimados, foram determinados o ponto de inflexão da curva e os tempos correspondentes à aproximação de 90, 95 e 99% da assíntota do modelo ajustado.

A relação entre a densidade óptica e a concentração de UFC foi avaliada mediante ajustes de modelos de regressão linear e quadrática, considerando-se a DO_{600} como variável independente e o Log_{10} UFC mL^{-1} como variável dependente. A seleção do modelo foi realizada com base no coeficiente de determinação (R^2), no coeficiente de determinação ajustado (R^2 ajustado) e no critério de informação de Akaike (AIC).

Adicionalmente, foram realizadas análises de correlação de Pearson para avaliar a associação entre a concentração de UFC e as variáveis DO_{600}, pH, condutividade elétrica e sólidos solúveis totais. Também foram determinadas correlações parciais de Pearson, utilizando o tempo de incubação como variável de controle linear, para verificar a permanência das associações após esse ajuste temporal.

Os pressupostos dos modelos foram examinados por diagnósticos dos resíduos, incluindo Shapiro–Wilk, Levene e Breusch–Pagan, conforme aplicável. As análises foram realizadas no ambiente R, com rotinas dos pacotes emmeans, multcomp, car, lmtest, ppcor e dplyr, adotando-se 5% como nível de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Cinética de crescimento

A concentração de UFC aumentou acentuadamente durante as primeiras 24 h de incubação, passando de 4,58 Log_{10} UFC mL^{-1}, em 8 h, para 8,87 Log_{10} UFC mL^{-1}, em 24 h (Tabela 1). Após esse período, o incremento tornou-se menos acentuado entre os períodos amostrados, com médias de 8,90 e 9,12 Log_{10} UFC mL^{-1} em 32 e 48 h, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração celular e características físico-químicas do cultivo de *Bacillus* sp. EB-37 durante a incubação.

Tempo (h)	Log_{10} UFC mL^{-1}	DO_{600}	pH	CE (mS/cm)	°Brix (ns)
0	1,27†	0,013 d	7,26 a	12,13 d	3,87
8	4,58 c	0,015 d	7,15 ab	14,44 c	3,80
16	6,25 b	1,665 c	6,29 d	15,23 bc	3,82
24	8,87 a	2,008 b	6,79 c	16,38 ab	3,89
32	8,90 a	2,048 ab	6,85 bc	16,62 ab	4,00
48	9,12 a	2,281 a	6,90 bc	17,75 a	3,59

Fonte: Autores.

Nota: valores expressos como médias de três repetições biológicas por período de 8 a 48 h; no tempo 0 h, a média corresponde a três leituras técnicas de uma mesma suspensão. † A avaliação de 0 h foi utilizada apenas como referência descritiva e não integrou a ANOVA de Log_{10} UFC mL^{-1}; as letras dessa variável comparam somente 8 a 48 h. Para DO_{600}, pH e CE, as letras reproduzem as comparações originalmente calculadas entre os seis períodos, com a ressalva metodológica da falta de independência biológica das três leituras de 0 h. Médias seguidas pela mesma letra, em cada variável, não diferem pelo teste de Tukey (5%). ns: efeito do tempo não significativo para °Brix ($p = 0,266$).

Na análise de variância dos períodos de 8 a 48 h, o tempo de incubação influenciou significativamente a concentração cultivável ($F_{4,10} = 258,40$; $p < 0,001$). Pelo teste de Tukey (Tabela 1), os períodos de 8 e 16 h diferiram entre si e dos períodos de 24, 32 e 48 h, para os quais não foi detectada diferença significativa. A ausência de diferença não demonstra equivalência entre as concentrações nem identifica um tempo mínimo de incubação, pois não houve avaliações entre 16 e 24 h.

Nos diagnósticos dos resíduos da ANOVA de Log_{10} UFC mL^{-1}, o teste de Shapiro–Wilk indicou desvio da normalidade ($W = 0,85536$; $p = 0,0207$). Não foi detectada heterogeneidade de variâncias pelo teste de Levene ($F = 1,0323$; $p = 0,4371$), e o teste de Breusch–Pagan não indicou heterocedasticidade a 5%, embora com resultado próximo ao limiar ($BP = 8,9949$; $gl = 4$; $p = 0,06123$). Os resultados originalmente obtidos da ANOVA e do teste de Tukey foram mantidos; entretanto, a evidência de não normalidade residual constitui uma limitação que requer cautela na interpretação inferencial.

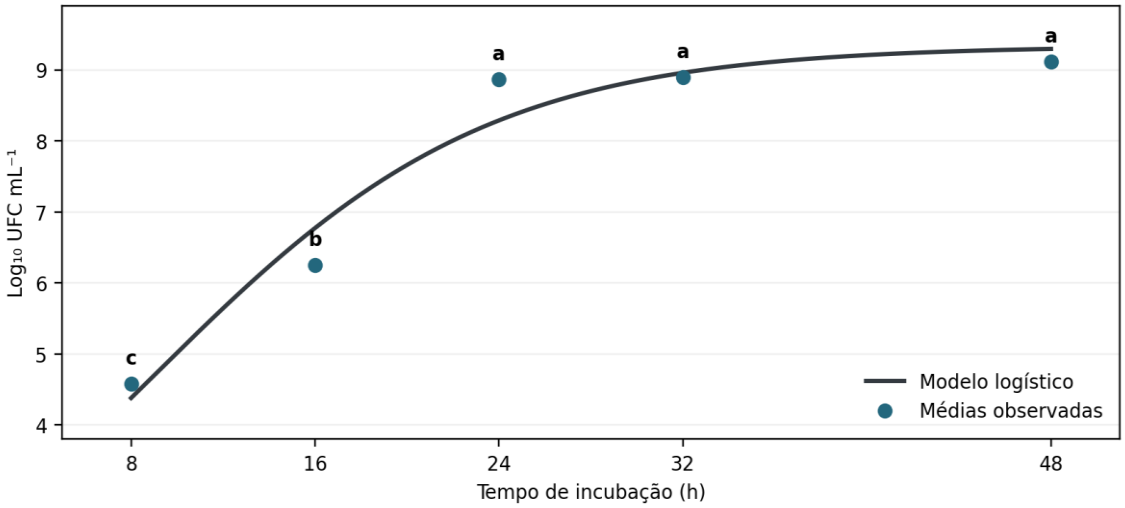
A dinâmica temporal da população celular foi adequadamente descrita pelo modelo logístico (Figura 1; Tabela 2). O modelo estimou concentração assintótica de 9,34 Log_{10} UFC mL^{-1}, equivalente a $2,19 \times 10^9$ UFC mL^{-1} com ponto de inflexão em

8,91 h. De acordo com a curva ajustada, aproximadamente 90, 95 e 99% da assíntota na escala logarítmica seriam alcançados em 24,95, 30,41 e 42,47 h, respectivamente.

O modelo logístico apresentou R^2 = 0,951 e AIC = 23,82, evidenciando correspondência descritiva entre a curva ajustada e as observações. O teste de Shapiro–Wilk aplicado aos resíduos desse modelo não indicou desvio significativo de normalidade (W = 0,94004; p = 0,3828). Entretanto, o ponto de inflexão de 8,91 h é uma estimativa matemática obtida com dados de 8 a 48 h; não representa uma medida direta da velocidade de crescimento antes do primeiro período experimental.

A trajetória da população foi caracterizada por maior incremento entre 8 e 24 h, seguido de menor variação nas médias observadas. Esse comportamento é compatível com a aproximação a um patamar populacional no cultivo descontínuo, embora o delineamento temporal não permita determinar com precisão o início de uma fase estacionária fisiológica.

Figura 1. Crescimento de *Bacillus* sp. EB-37 em TSB entre 8 e 48 h: médias de Log_{10} UFC mL^{-1} (n = 3) e curva logística ajustada às observações experimentais. A linha é descritiva; o tempo inicial (0 h) não foi incluído no ajuste.



Fonte: Autores.

A forma sigmoidal da curva ajustada é compatível com a modelagem de crescimento microbiano descrita por Zwietering et al. (1990). Wang e Guo (2024) ressaltam a importância de interpretar os parâmetros de modelos sigmoides conforme a função matemática e a estrutura dos dados. No EB-37, a concentração foi modelada na escala Log_{10} UFC mL^{-1}; portanto, os tempos estimados para 90, 95 e 99% da

assíntota correspondem a frações do valor logarítmico ajustado, e não aos mesmos percentuais de UFC mL^{-1} na escala absoluta.

A modelagem deve ser interpretada em conjunto com as limitações do plano de amostragem. Baranyi e Roberts (1994) demonstraram que as estimativas de adaptação e crescimento dependem do estado fisiológico inicial e do ambiente após a inoculação. Wang e Guo (2024), ao revisarem aplicações do modelo de Gompertz em bioprocessos, também ressaltaram o papel das funções matemáticas na descrição das trajetórias microbianas. Embora diferentes equações sigmoides possam ser utilizadas, não se realizou comparação formal entre modelos logístico, Gompertz e Baranyi para o EB-37. Portanto, o ajuste obtido caracteriza a tendência observada, sem identificar diretamente todas as fases fisiológicas do cultivo.

O contraste entre o rápido crescimento observado até 24 h e a ausência de diferenças significativas nos tempos seguintes constitui o principal resultado temporal do estudo. Como a primeira mensuração após a avaliação inicial ocorreu em 8 h, não é possível separar experimentalmente as fases de adaptação e de crescimento exponencial anteriores a esse período.

Em estudo com *B. velezensis* BHZ-29, Shi et al. (2024) verificaram que tempo de fermentação, temperatura e pH inicial influenciaram a obtenção de células viáveis. Nas condições otimizadas, os autores estimaram aproximadamente 96 h de fermentação e concentração de $3{,}39 \times 10^{10}$ UFC mL^{-1}. Em contraste, a população cultivável de EB-37 já não apresentou diferenças significativas entre 24 e 48 h, alcançando 8,87 Log_{10} UFC mL^{-1} em 24 h. A comparação evidencia respostas temporais distintas, mas não permite atribuí-las exclusivamente à identidade do isolado, pois as condições de cultivo e a composição dos meios também diferiram. Santos et al. (2025) observaram variações do crescimento de bactérias promotoras do crescimento vegetal conforme as condições de incubação, reforçando a necessidade de caracterização específica.

Cao et al. (2024) demonstraram que o desempenho fermentativo de *B. velezensis* TCS001 dependeu da combinação entre composição nutricional e condições operacionais; o protocolo otimizado incluiu 28 °C, 173 rpm, inóculo de 1% e pH inicial 7,0. No cultivo do EB-37, embora temperatura, agitação e proporção de inóculo tenham sido fixadas, esses fatores não foram comparados experimentalmente. Portanto, o patamar de UFC observado após 24 h deve ser

entendido como resultado específico do sistema TSB empregado, e não como ótimo de fermentação transferível a outras linhagens ou escalas.

Os indicadores de desempenho também precisam ser distinguidos. Duré, Mascarin e Bettiol (2025) quantificaram endósporos viáveis de *B. velezensis* AP-3 em sistemas de fermentação, enquanto o presente experimento mensurou UFC cultiváveis totais de EB-37, sem diferenciar células vegetativas de endósporos. Assim, comparações numéricas entre os rendimentos não equivalem a comparações de esporulação. Da mesma forma, eventuais vantagens de estender o cultivo para além de 24 h dependeriam de objetivos tecnológicos não mensurados, como estabilidade e proporção de endósporos.

A tendência de estabilização não significa ausência de metabolismo ou comprovação de esporulação, uma vez que somente unidades formadoras de colônias foram quantificadas. Vlajkov et al. (2022) apontam a influência das condições operacionais sobre o desempenho de processos fermentativos com *Bacillus*. Shi et al. (2024) também identificaram efeitos das condições de cultivo e da composição do meio sobre a multiplicação de *B. velezensis*. No presente ensaio, fatores como disponibilidade de nutrientes, aeração e acúmulo de produtos metabólicos não foram manipulados isoladamente.

Dessa forma, 24 h foi o primeiro período amostrado sem diferença significativa na concentração de UFC em relação a 32 e 48 h, conforme o teste de Tukey originalmente aplicado. Esse resultado constitui referência operacional para o cultivo do EB-37 em TSB nas condições avaliadas, mas não demonstra equivalência entre períodos nem identifica um tempo mínimo de cultivo. A interpretação inferencial também deve considerar o desvio de normalidade residual identificado na ANOVA de Log_{10} UFC mL^{-1}.

3.2 Relação entre DO_{600} e concentração de UFC

A absorbância medida a 600 nm, expressa como densidade óptica (DO_{600}), apresentou comportamento temporal associado ao aumento da concentração celular (Tabela 1). Após permanecer próxima dos valores iniciais até 8 h, a DO_{600} aumentou para 1,665 em 16 h e atingiu 2,008, 2,048 e 2,281 em 24, 32 e 48 h, respectivamente.

Na ANOVA originalmente apresentada, registrou-se efeito do tempo sobre a DO_{600} ($p < 0,001$), com diferenças entre períodos de menor e maior turbidez (Tabela 1). A inclusão de três leituras técnicas de um único inóculo em 0 h limita a inferência desses contrastes com o período inicial. O aumento acentuado entre 8 e 16 h,

acompanhado do crescimento da contagem viável, justificou a avaliação da relação entre os dois indicadores por regressão.

O modelo quadrático explicou 87,7% da variação observada em Log_{10} UFC mL^{-1} (R^2 ajustado = 0,857; AIC = 37,21), enquanto o modelo linear apresentou R^2 = 0,828, R^2 ajustado = 0,815 e AIC = 40,27 (Tabela 2). Entre essas duas formulações aplicadas à mesma resposta, o ajuste quadrático apresentou melhor desempenho pelos critérios utilizados.

O termo quadrático foi significativo (p = 0,0487), apoiando a descrição não linear da associação dentro da faixa avaliada. Os diagnósticos desse modelo não indicaram desvio significativo de normalidade dos resíduos (Shapiro–Wilk: W = 0,90812; p = 0,1267) nem heterocedasticidade pelo teste de Breusch–Pagan (BP = 4,0593; gl = 2; p = 0,1314). Esses resultados sustentam o uso descritivo da equação ajustada, sem dispensar a validação de sua capacidade preditiva em novos cultivos.

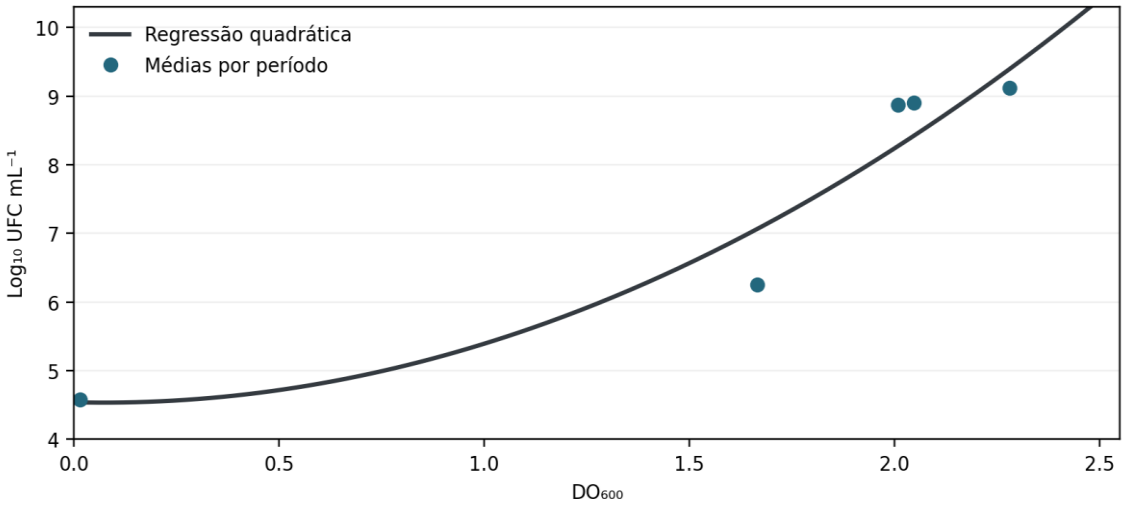
Tabela 2. Modelos matemáticos ajustados para descrever a cinética de crescimento e a relação entre DO_{600} e concentração celular de *Bacillus* sp. EB-37.

Relação	Modelo	Equação	R^2	R^2 ajustado	AIC
Log_{10} UFC mL^{-1} × Tempo	Logístico	$Y = 9{,}3395/[1 + \exp(1{,}2199 - 0{,}1369t)]$	0,951	—	23,82
Log_{10} UFC mL^{-1} × DO_{600}	Quadrático	$Y = 4{,}5397 - 0{,}1425DO_{600} + 0{,}9959DO_{600}^2$	0,877	0,857	37,21
Log_{10} UFC mL^{-1} × DO_{600}	Linear	$Y = 4{,}2993 + 2{,}0240DO_{600}$	0,828	0,815	40,27

Fonte: Autores.

Nota: DO_{600} corresponde à medida óptica a 600 nm. No ajuste logístico, a assíntota estimada foi de 9,3395 Log_{10} UFC mL^{-1}, com ponto de inflexão de 8,91 h. O modelo quadrático apresentou maior R^2 e menor AIC que o linear para a relação DO_{600} × Log_{10} UFC mL^{-1}; termo quadrático: p = 0,0487.

Figura 2. Associação entre DO_{600} e Log_{10} UFC mL^{-1} no cultivo de *Bacillus* sp. EB-37, com médias por período (n = 3) e curva do modelo quadrático ajustado às observações individuais de 8 a 48 h. A equação é descritiva na faixa avaliada.



Fonte: Autores.

A DO_{600} acompanhou o aumento da concentração de UFC, mas representa a intensidade de espalhamento e atenuação da luz pela suspensão, e não a contagem de UFC propriamente dita. Por isso, diferenças na fisiologia celular, agregação bacteriana ou proporção de células não cultiváveis podem alterar a correspondência entre absorbância e população viável (Mira; Yeh; Hall, 2022).

Mira, Yeh e Hall (2022) verificaram que a conversão de densidade óptica em concentração microbiana depende tanto das características celulares quanto da configuração de leitura e pode perder proporcionalidade em faixas elevadas de turbidez. Esse resultado fornece suporte para o melhor ajuste quadrático observado no EB-37, sem que isso implique equivalência entre as equações de diferentes microrganismos. Beal et al. (2020), em estudo de calibração interlaboratorial, também demonstraram a necessidade de padronizar medidas ópticas para comparações quantitativas confiáveis.

Stevenson et al. (2016) descreveram procedimentos de calibração e limitações da relação proporcional entre densidade óptica e concentração celular, reforçando que a curva de calibração deve considerar a faixa de leitura do instrumento. Neste ensaio, o aumento da DO_{600} de 0,015 em 8 h para 2,008 em 24 h acompanhou a elevação de 4,58 para 8,87 Log_{10} UFC mL^{-1}; essa evolução conjunta, porém, não comprova a precisão preditiva da equação quadrática em cultivos independentes.

Embora o modelo quadrático tenha apresentado melhor ajuste, as leituras de DO_{600} superiores a 2 exigem cautela, pois a faixa linear de resposta do espectrofotômetro não foi validada separadamente. Assim, a equação tem finalidade descritiva na faixa estudada e não deve ser extrapolada sem validação adicional.

O fato de a associação entre DO_{600} e Log_{10} UFC mL^{-1} permanecer significativa após o controle linear do tempo (Tabela 3) reforça a utilidade da medida óptica. Entretanto, a correlação parcial controla apenas o componente temporal contemplado no procedimento e não demonstra causalidade nem garante precisão de previsão em amostras independentes.

3.3 Alterações nas características físico-químicas do cultivo

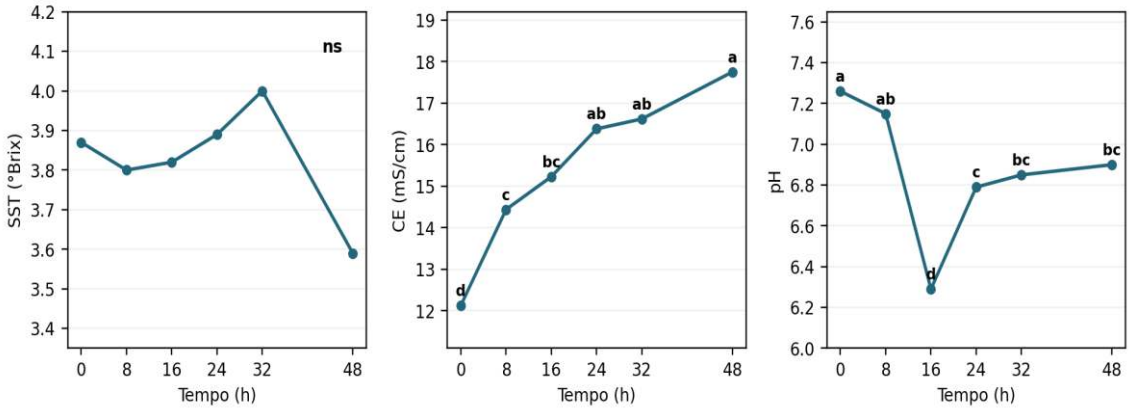
O pH variou ao longo da incubação (Tabela 1; Figura 3, painel à direita). Na análise originalmente apresentada, houve diferenças entre períodos, mas as comparações com 0 h devem considerar que as três leituras iniciais vieram do mesmo inóculo. O valor médio inicial foi de 7,26, permanecendo próximo desse nível após 8 h (7,15). Em 16 h, entretanto, ocorreu redução para 6,29. A partir desse período, observou-se recuperação parcial, com valores de 6,79, 6,85 e 6,90 em 24, 32 e 48 h, respectivamente. O menor valor médio de pH ocorreu em 16 h, enquanto os valores observados nos períodos finais foram próximos entre si.

A condutividade elétrica também apresentou variação ao longo da incubação (Tabela 1; Figura 3, painel central). O valor médio aumentou de 12,13 no início do experimento para 14,44 em 8 h, seguindo tendência de aumento até atingir 17,75 em 48 h. Os maiores valores foram observados nos períodos finais da incubação.

Em contraste, não foi identificado efeito significativo do tempo sobre os sólidos solúveis na análise originalmente apresentada (Tabela 1; Figura 3, painel à esquerda). As médias oscilaram entre 3,59 e 4,00 °Brix, sem evidência de alteração sistemática ao longo da incubação.

Figura 3. Evolução dos indicadores físico-químicos em cultivos de *Bacillus* sp. EB-37: SST (°Brix), CE (mS/cm) e pH, com médias (n = 3; em 0 h, três leituras técnicas do mesmo inóculo). As letras reproduzem os agrupamentos originalmente obtidos pelo teste de Tukey (5%) para CE

e pH, cuja comparação com 0 h apresenta a limitação de independência das leituras iniciais; ns: efeito do tempo não significativo para SST na análise apresentada.



Fonte: Autores.

O pH diminuiu de 7,26 no início do cultivo para 6,29 em 16 h, recuperando-se parcialmente até 6,90 em 48 h. Um comportamento qualitativamente semelhante foi descrito por Blom et al. (2011) durante cultivo descontínuo de *Bacillus subtilis* em meio rico: os autores observaram redução inicial do pH e elevação posterior, juntamente com mudanças nas fases de crescimento e na disponibilidade de oxigênio. As condições e amplitudes diferem das observadas para EB-37; ainda assim, a comparação indica que trajetórias de acidificação seguida de recuperação podem ocorrer em cultivos de *Bacillus* sem representar, necessariamente, uma única via metabólica.

Por outro lado, Ji et al. (2025) verificaram elevação do pH durante o crescimento de *B. velezensis* 411, cujo cultivo apresentou aproximadamente 10^9 UFC mL^{-1} após aumento rápido da população entre 2 e 10 h. Esse contraste mostra que o sentido e a intensidade das alterações de pH não são universais dentro do gênero. Shi et al. (2024) identificaram efeito do pH inicial sobre a multiplicação de *B. velezensis* BHZ-29, mas naquele estudo o pH foi manipulado como condição de fermentação; no EB-37, foi apenas monitorado. Consequentemente, não se pode inferir que a queda observada em 16 h tenha favorecido ou restringido causalmente o crescimento.

A ausência de correlação linear significativa entre pH e Log_{10} UFC mL^{-1} (Tabela 3) é compatível com a trajetória não monotônica do pH: enquanto a concentração cultivável aumentou, o pH inicialmente diminuiu e posteriormente se recuperou. Assim, mesmo sendo sensível às mudanças do ambiente de cultivo, o pH não se mostrou um estimador linear independente da concentração bacteriana neste experimento.

A CE aumentou de 12,13 para 17,75 mS/cm entre 0 e 48 h, indicando modificações nas propriedades iônicas do cultivo. Embora tenha apresentado correlação simples positiva com Log_{10} UFC mL^{-1}, essa associação deixou de ser significativa após o controle linear do tempo (Tabela 3). Portanto, o aumento simultâneo de CE e UFC não autoriza utilizar a condutividade como estimador autônomo da população. O ensaio não identificou os íons envolvidos nas mudanças observadas.

Razmi et al. (2023) acompanharam o crescimento de diferentes bactérias por espectroscopia de impedância elétrica, juntamente com métodos ópticos e microbiológicos, observando dependência da resposta elétrica em relação às condições de cultivo. O estudo é pertinente por evidenciar a natureza indireta dos indicadores elétricos, mas não constitui validação direta da CE de EB-37, pois impedância espectroscópica e condutividade medida diretamente são grandezas e procedimentos distintos. Não foi identificada, entre as referências empregadas, uma comparação direta em TSB que permita atribuir o incremento de CE a alterações iônicas específicas.

Os sólidos solúveis totais permaneceram entre 3,59 e 4,00 °Brix, sem efeito significativo do tempo ($p = 0,266$) e sem correlação significativa com a concentração celular. Diferentemente da CE e do pH, o índice refratométrico global não evidenciou mudanças sistemáticas apesar do aumento de UFC. Esse resultado delimita a sensibilidade do °Brix para acompanhar o cultivo nas condições utilizadas, não demonstrando ausência de consumo de substratos.

A comparação com estudos de otimização nutricional exige cautela. Shi et al. (2024) avaliaram componentes do meio e condições operacionais com efeitos sobre o rendimento de *B. velezensis* BHZ-29. Cao et al. (2024) também investigaram a composição do meio de fermentação de *B. velezensis* TCS001. Diferentemente desses trabalhos, o presente estudo não quantificou individualmente carboidratos, aminoácidos ou metabólitos do TSB. Assim, a estabilidade de °Brix deve ser interpretada como ausência de alteração refratométrica detectável, e não como evidência de estabilidade da composição química do meio.

3.4 Associação entre crescimento e características do cultivo

A concentração de UFC apresentou forte correlação positiva de Pearson com DO_{600} ($r = 0,910$; $p < 0,001$) e com CE ($r = 0,822$; $p < 0,001$). Por outro lado, as

associações com pH (r = −0,060; p = 0,831) e °Brix (r = −0,010; p = 0,971) não foram significativas (Tabela 3).

Considerando a influência do tempo de incubação sobre o cultivo, aplicou-se a correlação parcial de Pearson com controle temporal. A associação entre Log_{10} UFC mL^{-1} e DO_{600} manteve-se significativa (r_p = 0,738; p = 0,003), enquanto a relação com CE deixou de ser significativa (r_p = 0,322; p = 0,262). Também não foram significativas as relações parciais com pH (r_p = −0,216; p = 0,458) e °Brix (r_p = 0,401; p = 0,155).

Dessa forma, a DO_{600} foi o único indicador avaliado que manteve associação significativa com a concentração de UFC após o controle linear do tempo, o que reforça seu interesse para acompanhamento indireto do crescimento sob as condições específicas do ensaio. Essa associação, contudo, não substitui uma validação prospectiva da equação de calibração.

Tabela 3. Correlações de Pearson entre a concentração celular e as características físico-químicas do cultivo.

Variável	Pearson (r)	p	Pearson parcial (r_p)	p
DO_{600}	0,910	<0,001*	0,738	0,003*
CE	0,822	<0,001*	0,322	0,262 ns
pH	−0,060	0,831 ns	−0,216	0,458 ns
°Brix	−0,010	0,971 ns	0,401	0,155 ns

Fonte: Dados da pesquisa. Nota: r = correlação de Pearson; r_p = correlação parcial de Pearson, com controle linear do tempo. *: p < 0,05; ns: p ≥ 0,05. Correlações calculadas com os períodos de 8 a 48 h (n = 15 observações).

As correlações simples registraram o comportamento conjunto de variáveis que mudaram ao longo da incubação. O contraste com as correlações parciais demonstra que parte da associação entre CE e UFC pode decorrer dessa tendência temporal compartilhada. Como o controle empregado é linear e o crescimento apresenta trajetória não linear, a correlação parcial não elimina toda a possibilidade de confundimento temporal; sua interpretação deve permanecer associativa.

A literatura sobre monitoramento indireto reforça essa cautela: Beal et al. (2020) discutiram a dependência instrumental das medidas ópticas, enquanto Razmi et al. (2023) observaram respostas elétricas condicionadas ao sistema experimental. No EB-37, apenas a associação parcial de DO_{600} com a concentração cultivável permaneceu significativa (r_p = 0,738; p = 0,003). Isso favorece o uso da DO_{600} como

indicador exploratório em comparação à CE, mas não demonstra superioridade preditiva fora das culturas analisadas.

A avaliação conjunta sugere uma hierarquia prática entre os indicadores estudados: a DO_{600} acompanhou mais consistentemente as UFC, o pH e a CE registraram alterações do ambiente de cultivo, e o °Brix não apresentou mudança significativa nas análises reportadas. Essa interpretação distingue monitoramento de alterações do meio de estimativa quantitativa de células cultiváveis.

3.5 Implicações para a produção do inóculo

O estudo identificou 24 h como o primeiro período avaliado sem diferença significativa de Log_{10} UFC mL^{-1} em relação a 32 e 48 h. A comparação pelo teste de Tukey não comprova equivalência entre esses tempos e não permite afirmar que 24 h seja o menor período necessário para alcançar essa concentração, pois não foram investigados intervalos entre 16 e 24 h. Ainda assim, 24 h representa uma referência prática para o planejamento laboratorial da multiplicação do EB-37 nas condições utilizadas.

Para o monitoramento do cultivo, a DO_{600} constitui uma medida auxiliar rápida de turbidez, que apresentou associação com Log_{10} UFC mL^{-1} mesmo após ajuste linear para o tempo. Contudo, essa associação é exploratória, não garante desempenho preditivo em novas culturas e não substitui a contagem por plaqueamento quando se exige quantificação microbiológica.

Não se detectou aumento significativo de Log_{10} UFC mL^{-1} entre 24 e 48 h. Como não foram avaliados custos, estabilidade ou desempenho agronômico, o período de 24 h deve ser interpretado como referência laboratorial entre os tempos amostrados, e não como mínimo comprovado ou ótimo econômico ou tecnológico.

A concentração de UFC não informa a proporção de endósporos nem a estabilidade do produto. Duré, Mascarin e Bettiol (2025) enfatizaram a produção de endósporos viáveis em *B. velezensis*, enquanto o presente estudo não separou células vegetativas de esporos. Portanto, a escolha do tempo de colheita para formulação agrícola requer ensaios específicos de esporulação e conservação.

A aplicação desses resultados à produção de bioinsumos depende de critérios adicionais. Bini et al. (2024) abordaram parâmetros para o desenvolvimento de inoculantes de *Bacillus*. Fadiji et al. (2024) discutiram desafios de formulação e manutenção do desempenho de biofertilizantes microbianos. Portanto, a indicação de

24 h para a obtenção de UFC cultiváveis não dispensa avaliações de estabilidade, concentração final, esporulação e funcionalidade biológica.

4. CONCLUSÃO

Nas condições de cultivo em TSB avaliadas, o isolado EB-37 de Bacillus sp. apresentou aumento expressivo da concentração de UFC até 24 h. Esse foi o primeiro tempo amostrado sem diferença significativa em relação a 32 e 48 h na análise originalmente realizada; o resultado não comprova equivalência nem define o tempo mínimo de multiplicação, e sua interpretação deve considerar a não normalidade residual observada na ANOVA. A DO_{600} apresentou associação com Log_{10} UFC mL^{-1} após controle linear do tempo e pode auxiliar o monitoramento exploratório, sem substituir a contagem por plaqueamento ou uma validação em cultivos independentes. O pH e a CE variaram durante a incubação, enquanto o °Brix não apresentou efeito significativo nas análises reportadas. As comparações inferenciais com 0 h devem considerar que as três leituras desse período vieram de um único inóculo e representam repetições técnicas.

REFERÊNCIAS

BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, v. 23, n. 3–4, p. 277–294, 1994. DOI: 10.1016/0168-1605(94)90157-0.

BEAL, J. et al. Robust estimation of bacterial cell count from optical density. *Communications Biology*, v. 3, 512, 2020. DOI: 10.1038/s42003-020-01127-5.

BINI, D. et al. Parameter evaluation for developing phosphate-solubilizing Bacillus inoculants. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 55, p. 737–748, 2024. DOI: 10.1007/s42770-023-01182-0.

BLOM, E.-J. et al. Time-resolved transcriptomics and bioinformatic analyses reveal intrinsic stress responses during batch culture of Bacillus subtilis. *PLOS ONE*, v. 6, n. 11, e27160, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0027160.

CAO, H. et al. Optimization of fermentation conditions for Bacillus velezensis TCS001 and evaluation of its growth promotion and disease prevention effects on strawberries. *Biological Control*, v. 198, 105632, 2024. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2024.105632.

DURÉ, L. M. M.; MASCARIN, G. M.; BETTIOL, W. Optimization of endospore production by solid and liquid fermentation for the development of effective formulations of Bacillus velezensis-based products. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 56, p. 1253–1261, 2025. DOI: 10.1007/s42770-025-01626-9.

FADIJI, A. E.; XIONG, C.; EGIDI, E.; SINGH, B. K. Formulation challenges associated with microbial biofertilizers in sustainable agriculture and paths forward. *Journal of Sustainable Agriculture and Environment*, v. 3, n. 3, e70006, 2024. DOI: 10.1002/sae2.70006.

HERIGSTAD, B.; HAMILTON, M.; HEERSINK, J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, v. 44, n. 2, p. 121–129, 2001. DOI: 10.1016/S0167-7012(00)00241-4.

JI, L. et al. Dietary Bacillus velezensis improves piglet intestinal health and antioxidant capacity via regulating the gut microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 12, 5875, 2025. DOI: 10.3390/ijms26125875.

KHAN, A. R. et al. Bacillus spp. as bioagents: uses and application for sustainable agriculture. *Biology*, v. 11, n. 12, 1763, 2022. DOI: 10.3390/biology11121763.

LUO, L.; ZHAO, C.; WANG, E.; RAZA, A.; YIN, C. Bacillus amyloliquefaciens as an excellent agent for biofertilizer and biocontrol in agriculture: an overview for its mechanisms. *Microbiological Research*, v. 259, 127016, 2022. DOI: 10.1016/j.micres.2022.127016.

MIRA, P.; YEH, P.; HALL, B. G. Estimating microbial population data from optical density. *PLOS ONE*, v. 17, n. 10, e0276040, 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0276040.

RAZMI, N. et al. Monitoring the effect of pH on the growth of pathogenic bacteria using electrical impedance spectroscopy. *Results in Engineering*, v. 20, 101425, 2023. DOI: 10.1016/j.rineng.2023.101425.

SANTOS, R. E. et al. Bivariable model for determining the optimal growth conditions of plant growth-promoting bacteria. *Brazilian Journal of Biology*, v. 85, e298695, 2025. DOI: 10.1590/1519-6984.298695.

SHI, Y. et al. Optimization of the fermentation media and growth conditions of Bacillus velezensis BHZ-29 using a Plackett–Burman design experiment combined with response surface methodology. *Frontiers in Microbiology*, v. 15, 1355369, 2024. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1355369.

STEVENSON, K.; McVEY, A. F.; CLARK, I. B. N.; SWAIN, P. S.; PILIZOTA, T. General calibration of microbial growth in microplate readers. *Scientific Reports*, v. 6, 38828, 2016. DOI: 10.1038/srep38828.

VLAJKOV, V. et al. The effect of cultivation conditions on antifungal and maize seed germination activity of Bacillus-based biocontrol agent. *Bioengineering*, v. 9, n. 12, 797, 2022. DOI: 10.3390/bioengineering9120797.

WANG, J.; GUO, X. The Gompertz model and its applications in microbial growth and bioproduction kinetics: past, present and future. *Biotechnology Advances*, v. 72, 108335, 2024. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2024.108335.

ZWIETERING, M. H.; JONGENBURGER, I.; ROMBOUTS, F. M.; VAN 'T RIET, K. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, n. 6, p. 1875–1881, 1990. DOI: 10.1128/AEM.56.6.1875-1881.1990.