



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA - PPGBIOTEC
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



ESTER NETA PINHEIRO

Efeito da utilização de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal sobre o desenvolvimento do curauá (*Ananas erectifolius* L. Smith)

MANAUS – AM
2024
ESTER NETA PINHEIRO

Efeito da utilização de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal sobre o desenvolvimento do curauá (*Ananas erectifolius* L. Smith)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - PPGBIOTEC, da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio de Oliveira

Coorientadora: Prof.^a Dra. Simone da Silva

Coorientadora: Dra. Cassiane Minelli de Oliveira

Ficha Catalográfica

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

P654e	<p>Pinheiro, Ester Neta</p> <p>Efeito da utilização de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal sobre o desenvolvimento do curauá (<i>Ananas erectifolius</i> L. Smith) / Ester Neta Pinheiro . 2024</p> <p>87 f.: il. color; 31 cm.</p> <p>Orientador: Luiz Antonio de Oliveira Coorientador: Simone da Silva Coorientador: Cassiane Minelli de Oliveira Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.</p> <p>1. <i>Ananas erectifolius</i> . 2. Micropropagação. 3. Rizobactérias . 4. Reguladores de crescimento. 5. ex vitro. I. Oliveira, Luiz Antonio de. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título</p>
-------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Pós-Graduação Multi-Institucional em Biotecnologia, da Universidade Federal do Amazonas pela oportunidade de qualificação profissional, podendo contribuir para a sociedade e

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) por conceder auxílio financeiro durante o período de pesquisa deste trabalho;

À Deus, que é minha força e meu Guia, e me ajudou a suportar e vencer as dificuldades do percurso e chegar até aqui;

À minha família, que nos meus piores dias, me amou, acolheu, protegeu e compreendeu. Obrigada mãe (Raimunda Luz Pinheiro in memoriam);

Ao meu orientador Dr. Luiz Antonio de Oliveira por acreditar em meu potencial, por seu incentivo, dedicação, paciência e pelas experiências e conhecimentos transmitidos durante esse período;

À minha coorientadora Dra. Simone da Silva, que por vezes me ajudou, me incentivando a seguir em frente, sempre acreditando e apoiando cada passo, sempre transmitindo conhecimentos, orientando ao longo dessa jornada;

À minha coorientadora Dra. Cassiane Minelli de Oliveira, que por vezes me ajudou, me incentivando a seguir em frente, sempre acreditando e apoiando cada passo;

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia Vegetal e aos demais colegas do Centro de Bionegócios da Amazônia - CBA, pelo incentivo, conversas e trocas enriquecedoras de conhecimentos e experiências.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Microrganismos da Amazônia, pelo incentivo, conversas e trocas enriquecedoras de conhecimentos e experiências. Em especial a Nadionara Costa Menezes, pelo apoio incondicional, pelo aprendizado, pela dedicação, paciência e amizade;

Muito obrigada!

RESUMO

No Brasil, a produção agrícola tem aumentado a cada ano, e com isso o uso de fertilizantes químicos vem se intensificando e causando impactos ao meio ambiente. Neste sentido, a produção de insumos biológicos através do uso de microrganismos benéficos ao solo vem ganhando espaço e os inoculantes à base de bactérias promotoras de crescimento pode ser a solução para a substituição dos produtos químicos na agricultura. O curauá (*Ananas erectifolius*) é uma planta nativa da Amazônia que desperta grande interesse comercial como produtora de fibras vegetais; com isso, encontrar métodos que favoreçam o desenvolvimento dessa cultivar torna-se imperativo. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da utilização de reguladores de crescimento vegetal (AIA, BAP e ANA) e de bactérias promotoras de crescimento vegetal no desenvolvimento de mudas micropropagadas dessa espécie. Para tanto, as plântulas de curauá foram avaliadas (*in vitro*) quanto ao desenvolvimento de raízes, brotos, largura da folha, altura e número de folhas, sob a influência dos reguladores BAP, ANA e AIA e, de 29 rizobactérias, por 60 dias. A partir destes testes foram selecionadas 11 rizobactérias com os melhores efeitos sobre as plântulas de curauá e estas foram testadas em casa-de-vegetação juntamente com o regulador padrão ($2,0 \text{ mg/L}^{-1}$ BAP + $0,25 \text{ mg/L}^{-1}$ ANA), para verificar a capacidade de promoverem o crescimento das plântulas *ex vitro*. Por fim, após 60 dias de avaliação em casa-de-vegetação, as plantas foram analisadas quanto ao peso da parte aérea fresca e seca e das raízes. Dentre os reguladores de crescimento testados, BAP e ANA influenciaram expressivamente o crescimento *in vitro* do curauá. A produção de brotos pelas plântulas foi favorecida pela ação dos três reguladores. No teste com as rizobactérias, com exceção da brotação, os tratamentos apresentaram um aumento nas variáveis altura, número de folhas, raízes e largura da folha, sendo possível selecionar 11 isolados. Para os testes em casa-de-vegetação, a bactéria INPA R1065, se destacou ao proporcionar melhor desenvolvimento das variáveis estudadas nas mudas de curauá, demonstrando-se promissora para o desenvolvimento de mudas de curauá *ex vitro*, com valores de 11,67 unidades de folhas, 5,97 un de raízes, 13,70 cm de altura e 1,53 cm de largura de folhas, aos 60 dias. Quanto ao peso da parte aérea e raízes, os tratamentos T4 (INPA R1065) e T6 (INPA R579) se destacaram com as maiores médias alcançadas nas diferentes variáveis de desenvolvimento da planta. Esses resultados indicam a eficácia da aplicação de rizobactérias em promover o crescimento radicular, o desenvolvimento foliar e o vigor geral das plantas, evidenciando seu potencial para melhorar a produção de curauá. Essas descobertas destacam a importância de continuar explorando o uso de rizobactérias como uma estratégia sustentável para impulsionar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, contribuindo assim para a agricultura eficiente e ambientalmente responsável.

Palavras-chaves: *Ananas erectifolius* – Micropropagação – Rizobactérias – Reguladores de crescimento – *ex vitro*.

ABSTRACT

In Brazil, agricultural production has increased every year, and as a result, the use of chemical fertilizers has intensified and caused impacts on the environment. In this sense, the production of biological inputs through the use of microorganisms beneficial to the soil has been gaining ground and inoculants based on growth-promoting bacteria could be the solution for replacing chemical products in agriculture. Curauá (*Ananas erectifolius*) is a plant native to the Amazon, an important producer of vegetable fiber, finding methods that favor the development of this cultivar is imperative. This work aims to evaluate the effect of using plant growth regulators (AIA, BAP and ANA) and plant growth-promoting bacteria on the development of micropropagated seedlings of the species *Ananas erectifolius* (Curauá). To this end, curauá explants were cultivated, concomitantly screening 29 rhizobacteria isolated from different soils in the Amazon. Curauá seedlings were evaluated (*in vitro*) for the development of roots, shoots, leaf width, height and leaves, under the influence of the regulators BAP, ANA and AIA and rhizobacteria, for 60 days. From these tests, 11 rhizobacteria with the best effects on curauá seedlings were selected and these were tested in a greenhouse together with the standard regulator (2.0 mg/L-1 BAP + 0.25 mg/L-1 ANA), to verify their ability to promote *ex vitro* seedling growth. Finally, after 60 days of evaluation in a greenhouse, the plants were analyzed for the fresh and dry weight of the aerial part and roots. Among the growth regulators tested, BAP and ANA significantly influenced the *in vitro* growth of curauá. The production of shoots by seedlings was favored by the action of three regulators. In the test with rhizobacteria, with the exception of sprouting, the treatments showed an increase in the variables height, number of leaves, roots and leaf width, making it possible to select 11 isolates. For tests in a greenhouse, T4 with the bacteria INPA R1065 stood out in providing better development of the variables studied in curauá seedlings, demonstrating promise for the development of *ex vitro* curauá seedlings, with values of 11.67 units of leaves, 5.97 units of roots, 13.70 cm in height and 1.53 cm in width of leaves, at 60 days. Regarding the fresh and dry weight of the aerial part and roots, treatments T4 (INPA R1065) and T6 (INPA R579) stand out with the highest averages achieved in the different plant development variables. These results indicate the effectiveness of the application of rhizobacteria in promoting root growth, leaf development and general plant vigor, highlighting its potential as a valuable tool to optimize curauá production. The increase in plant biomass suggests that rhizobacteria can play a significant role in increasing productivity and improving the quality of the curauá crop. These findings highlight the importance of continuing to explore the use of rhizobacteria as a sustainable strategy to boost plant growth and development, thereby contributing to efficient and environmentally responsible agriculture.

Keywords: *Ananas erectifolius* – Micropropagation – Rhizobacteria – Growth regulators – *ex vitro*.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABA	Ácido abscísico
ACC	1-aminociclopropano-1-carboxilato
AIA	Ácido indol acético
AIB	Ácido indol butírico
ANA	Ácido naftaleno 1-acético
BAP	6-benzil amino purina
BPCV	Bactérias promotoras de crescimento vegetal
BPCP	Bactérias promotoras de crescimento de plantas
CBA	Centro de Biotecnologia da Amazônia
FBN	Fixação biológica do nitrogênio
IPA	Ácido Indol-3-Pirúvico
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
K_2HPO_4	Fosfato de Potássio
LEBMAM	Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Microrganismos da Amazônia
$MgSO_4$	Sulfato de magnésio
MS0	Meio de Cultura de Murashige & Skoog sem reguladores de crescimento
N	Nitrogênio
N ₂	Nitrogênio atmosférico
NO ₃	Nitrato
NH ₄	Amônia
NaCl	Cloreto de sódio
PS	Produção de sideróforos
SF	Solubilização do fosfato
R	Rizobactéria
Trp	Triptofano
YMA	Yeast Manitol Ágar

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema demonstrando processo de nitrogenase no meio ambiente.	18
Figura 2 <i>Ananas erectifolius</i> (Curauá).	30
Figura 3. Mucilagem do <i>Ananas erectifolius</i> (Curauá).	32
Figura 4. <i>Ananas erectifolius</i> (Curauá) <i>in vitro</i> em diferentes fases.....	35
Figura 5. Esquema demonstrando divisão das etapas do estudo.	35
Figura 6. Etapas do cultivo de explantes para obtenção de plântulas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá).....	37
Figura 7. Subcultivo <i>in vitro</i> do <i>Ananas erectifolius</i> (Curauá).....	42
Figura 8. Avaliação das plântulas do <i>Ananas erectifolius</i> (Curauá).....	44
Figura 9. Crescimento <i>in vitro</i> de curauá. A: T3 (MS + 1,5 mg/L-1 BAP + 0,19 mg/L-1 AIA) e B: T6 (MS+2,0 mg/L BAP + 0,50 mg/L ANA).	49
Figura 10. Brotações de curauá <i>in vitro</i> , tratamento T6 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ ANA).	50
Figura 11. Desenvolvimento das plântulas de curauá, aos 30 e 60 dias. (A) Controle sem inculação, (B) T2 MS + INPA R 677, (C) T24 MS + INPA R 937 e (D) Plântulas de diferentes tratamentos.....	64
Figura 12. Teste em casa de vegetação (aclimatização).	65
Figura 13. Muda do <i>Ananas erectifolius</i> (Curauá) em casa de vegetação.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição do meio de cultura MS0 (Murashige; Skoog, 1962).....	36
Tabela 2. Composição do meio de cultivo Yeast Manitol Ágar.....	37
Tabela 3. Rizobactérias selecionadas para os testes de promoção de crescimento vegetal.	38
Tabela 4. Tratamentos realizados com diferentes reguladores de crescimento.....	40
Tabela 5. Tratamentos analisados quanto ao efeito das rizobactérias no desenvolvimento de <i>Anana erectifolius</i>	43
Tabela 6. Tratamentos selecionados para os testes em casa de vegetação.	44
Tabela 7. Análises químicas do solo utilizado em experimento em casa de vegetação, sem esterilização.....	45
Tabela 8. Efeito de diferentes reguladores de crescimento sob o número de folhas de curauá <i>in vitro</i>	48
Tabela 9. Efeito de diferentes reguladores de crescimento sob o número brotos de curauá <i>in vitro</i>	49
Tabela 10. Efeito de diferentes reguladores de crescimento sob o número raízes de curauá <i>in vitro</i>	50
Tabela 11. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na altura de plantas de curauá <i>in vitro</i>	51
Tabela 12. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na largura das folhas de curauá <i>in vitro</i>	52
Tabela 13. Produção de ácido indolacético ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) por isolados de rizobactérias em meio YM.....	54
Tabela 14. Número de folhas produzidas sob efeito das rizobactérias no desenvolvimento das plântulas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá), em 0, 30 e 60 dias.	56
Tabela 15. Número de brotos produzidos sob efeito das rizobactérias no desenvolvimento das plântulas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá), em 0, 30 e 60 dias.	57
Tabela 16. Número de raízes produzidas sob efeito das rizobactérias no desenvolvimento das plântulas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá), em 0, 30 e 60 dias.	59
Tabela 17. Efeito das rizobactérias na altura das plântulas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá) em 0, 30 das e 60 dias.....	60
Tabela 18. Efeito das rizobactérias na largura das folhas nas plântulas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá) em 0, 30 das e 60 dias.	61
Tabela 19. Número de folhas em plantas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá) crescidas em casa de vegetação, com 30 das e 60 dias.	65
Tabela 20. Número de raízes em plantas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá) crescidas em casa de vegetação, com 60 dias.	66
Tabela 21. Altura das plantas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá) crescidas em casa de vegetação, com 30 das e 60 dias.....	67
Tabela 22. Largura das folhas de <i>Ananas erectifolius</i> (curauá) crescidas em casa de vegetação, com 30 das e 60 dias.....	68
Tabela 23. Determinação do peso fresco e seco da parte aérea das plantas de curauá, após 60 dias de aclimatização (casa de vegetação).....	71
Tabela 24. Determinação do peso fresco e seco da raiz das plantas de curauá, após 60 dias de aclimatização (casa de vegetação).....	72

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3 REVISAO DA LITERATURA.....	16
3.1 Mecanismos de Promoção de Crescimento Vegetal	16
3.2 Rizobactérias como promotoras do crescimento de plantas (RPCP)	19
3.3 Fixação Biológica de Nitrogênio.....	20
3.4 Fitohormônios	21
3.4.1 Auxinas	22
3.4.2 Ácido naftalenoacético (ANA).....	23
3.4.3 Ácido Indolacético	23
3.4.4 Citocininas.....	25
3.4.5 6-Benzilaminopurina (BAP)	25
3.4.6 Ácido abscísico	26
3.4.7 Giberelinas	26
3.4.8 Etileno	27
3.5 Interação Planta-bactéria	27
3.6 <i>Ananas erectifolius</i> como Modelo de Estudo.....	29
3.7 Cultura de Tecidos Vegetais	33
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Cultivo de explantes de <i>Ananas erectifolius</i>	36
4.2 Seleção dos isolados de rizobactérias para a introdução <i>in vitro</i>	37
4.3 Avaliação do desenvolvimento de plântulas de <i>Ananas erectifolius in vitro</i> em diferentes meios	40
4.3.1 Efeito dos reguladores de crescimento no desenvolvimento curauá (cultivo <i>in vitro</i>).....	40
4.3.2 Produção de AIA.....	41
4.3.3 Efeito das rizobactérias no desenvolvimento do <i>curauá</i> (cultivo <i>in vitro</i>).....	42
	10

4.3.4 Avaliações biométricas	43
4.4 Avaliação do efeito das rizobactérias e reguladores no desenvolvimento do <i>Ananas erectifolius</i> em casa de vegetação	44
4.4.1 Aclimatização	45
4.5 Produção de biomassa	46
4.5.1 Determinação de biomassa fresca	46
4.5.3 Determinação de biomassa seca	46
4.6 Análise Estatística	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 Avaliação do desenvolvimento de plântulas de <i>Ananas erectifolius in vitro</i> em diferentes meios	47
5.1.1 Efeito de diferentes reguladores de crescimento sobre o desenvolvimento de plântulas de curauá (cultivo <i>in vitro</i>).....	47
5.1.2 Efeito das rizobactérias no desenvolvimento do <i>Ananas erectifolius</i> (cultivo <i>in vitro</i>).....	54
5.2 Avaliação do efeito das rizobactérias e reguladores no desenvolvimento do <i>Ananas erectifolius</i> em casa de vegetação	64
5.3 Produção de biomassa fresca e seca	70
6. CONCLUSÕES.....	74
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

1 INTRODUÇÃO

A proteção das plantas cultivadas contra patógenos e a melhoria produtiva das plantas são críticas no contexto da crescente demanda por alimentos para sustentar a população mundial. No Brasil, a produção agrícola tem aumentado a cada ano e com isso o uso de fertilizantes químicos também, contudo, o problema é que o uso destes causam muitos impactos ambientais. Segundo Florencio *et al.* (2022), a contaminação de rios e lagos estão ligados ao uso de fertilizantes fosfatados e nitrogenados que causam lixiviação.

Além do fato de muitos defensivos serem altamente recalcitrantes, ou seja, suas moléculas são capazes de permanecerem inalteradas por anos no ambiente, a maioria deles é lipossolúvel, e pode ser encontrada no leite, no sangue e se acumular no tecido adiposo dos animais ao longo das cadeias alimentares (Zikankuba *et al.*, 2019).

Sarbawal *et al.* (2018) descrevem diversos estudos relacionados, diretamente, à ocorrência de várias desordens de saúde humana, em crianças, adultos e idosos, à exposição a defensivos agrícolas, incluindo males como doença de Hodgkin, linfoma, mal de Parkinson, disfunções endócrinas, problemas respiratórios e reprodutivos além de câncer.

Atualmente, o Brasil é o terceiro maior exportador agrícola, porém, em relação à importação de fertilizantes químicos, ocupa o quarto lugar (Paula, 2018). Por isso a necessidade de buscar novas tecnologias que baixem o preço e os impactos. Neste sentido, a produção de insumos biológicos, através do uso de microrganismos benéficos ao solo, vem ganhando espaço. O Brasil é um dos maiores produtores de produtos biológicos e, em 2019, o mercado brasileiro alcançou 500 milhões de reais, chegando a 800 milhões até o ano de 2020 (Silva *et al.*, 2022).

Assim, o uso de inoculantes à base de bactérias promotoras de crescimento pode ser uma solução para substituição dos produtos químicos na agricultura. O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas tem aumentado nos últimos anos devido aos seus múltiplos usos, dentre eles a mitigação dos efeitos estressantes do déficit hídrico e salinidade, fitoextração de metais pesados, balanço hormonal e biocontrole de fitopatógenos (Dias; Santos, 2022). A capacidade de estimular o crescimento vegetal apresentada pelas rizobactérias tem sido atribuída a vários mecanismos, dentre eles, a

produção de hormônios e, como consequência, o aumento no crescimento das raízes e parte aérea, do número de folhas, da área foliar e do rendimento de culturas (Oliveira, 2022).

Os extratos botânicos, biofertilizantes, bioestimulantes, entre outros ou o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal, estão sendo utilizados como uma alternativa segura a ser implementada no sistema de produção agrícola, promovendo a sustentabilidade dos agroecossistemas. Assim, os microrganismos possuem um elevado potencial de degradação de hidrocarbonetos de petróleo, produção de hormônios de crescimento vegetal, fosfatases, nitrogenases, hidrogenases, amilases, proteases e lipases (Oliveira *et al.*, 2019). A empregabilidade do uso de bioestimulantes em técnicas agronômicas têm crescido muito nos últimos anos e esse crescimento deve-se ao intuito de aperfeiçoar a produtividade de um leque de diversas culturas (Bazzan, 2013).

Pela lei 7.802/89 os defensivos agrícolas, ou agrotóxicos, são definidos como produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, pastagens, proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas, bem como de ambientes urbanos, hídricos e industriais (BRASIL, 1989). Já os fertilizantes, ou adubos, são definidos, segundo a lei 6.894/80 (BRASIL, 1980), como qualquer substância mineral ou orgânica, natural ou sintética, que seja fornecedora de um ou mais nutrientes vegetais.

A demanda total por fertilizantes químicos do Brasil em 2015, foi de 30 milhões de toneladas, dos quais 14 milhões eram de macronutrientes primários (Cruz *et al.*, 2017). O Brasil importa 73% do seu fertilizante nitrogenado, 34% do fosfatado e 92% do potássico, contudo, nos próximos anos é esperado um aumento no uso destes fertilizantes para atender à intensificação da agricultura, o que resultará em um aumento dos custos de produção (Paula, 2018).

O Brasil apresenta uma dependência que é bem preocupante, e o cenário se agravou após a eclosão da guerra na Ucrânia ocasionada pela invasão das forças armadas russas, que elevou o preço dos fertilizantes uma vez que, afeta diretamente o custo de produção da lavoura e, tanto em relação ao uso indiscriminado quanto ao método de produção desses fertilizantes causam sérios problemas de ordem ambiental, tais como a produção de chuva ácida, contaminação do lençol freático e eutrofização de cursos d'água (Martinelli, 2007; Rosolem *et al.*, 2003). Assim, a utilização das bactérias promotoras de

crescimento vegetal, podem auxiliar o Brasil a sair desta situação de dependência destes insumos.

Um exemplo de microrganismos são as rizobactérias, estas bactérias são encontradas na rizosfera das plantas, região do solo que circunda a raiz e está sob a influência do sistema radicular. São de vida livre ou associadas aos tecidos das plantas. Crescem na zona de influência das raízes, que vai desde sua superfície até uma distância de 1 a 3 mm (Medeiros, 2020).

As rizobactérias são conhecidas por terem a capacidade de promover o crescimento vegetal através de diversos mecanismos. Estas bactérias benéficas podem estabelecer uma relação simbiótica com as plantas, beneficiando tanto os microrganismos quanto as plantas hospedeiras. As rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCP) são bactérias do solo que promovem benefícios na propriedade do solo, no crescimento vegetal e como também no meio ambiente, podendo colonizar a rizosfera, a superfície das raízes das plantas ou os espaços intercelulares destas (Amaral *et al.*, 2006).

Os microrganismos penetram pelos radiculares ou pela epiderme e formam estruturas denominadas nódulos. Ambas as bactérias possuem a enzima nitrogenases (encontrada também em bactérias não endofíticas), a qual converte o Nitrogênio atmosférico em formas amoniacais, que são transferidas para as plantas em troca de açúcares provenientes do processo fotossintético (Barbosa *et al.*, 2015).

O grande desafio a ser superado é manter e fazer crescer a produtividade renunciando ao excesso na aplicação produtos químicos, utilizando processos naturais e organismos vivos que estimulem a produção vegetal. A associação com microrganismos favorece a manutenção das plantas no ambiente em diversos aspectos.

Os microrganismos no papel de portadores de um grande patrimônio genético, com vias metabólicas de interesse que podem auxiliar de diversas formas na promoção de crescimento de plantas, podem ser utilizados como produtos que auxiliarão no desenvolvimento vegetal contribuindo tanto para uma redução no uso de insumos, tornando o processo agrícola mais sustentável, e, simultaneamente reduzindo o custo de produção (Cozentino, 2019).

A Região Amazônica possui inúmeras espécies com potencial para produção de fibras e, o curauá é uma delas. Nativa da Amazônia, o curauá (*Ananas erectifolius*) que pertence à família das Bromeliácea, possui duas variedades, uma de folha roxo avermelhada (curauá roxo) e outra de folha verde-claro (curauá branco).

A produção de fibras vem sendo utilizada para diversos fins, mais recentemente como substituta da fibra de vidro na indústria automotiva e fornece excelentes propriedades de reforço em compósitos poliméricos (Júnior *et al.*, 2020). O curauá apresenta fibras longas com boa resistência, maciez e peso reduzido, e por possuir características impulsionaram o seu uso na fabricação de papel, confecção de cordas, barbantes, produtos artesanais, na indústria geotêxtil e automobilística para produção de componentes para bancos revestimento de automóveis (Campelo *et al.*, 2022).

Tendo em vista que as empresas precisam buscar novas possibilidades para substituição dos materiais sintéticos, que por não serem biodegradáveis, tem gerado grandes problemas ambientais, a utilização de fibras vegetais é uma excelente alternativa para esta questão, uma vez que, os produtos em que a fibra é introduzida no processo de fabricação, se torna biodegradável e com agregação de valor.

Estes microrganismos já foram testados em espécies relacionados à agricultura, tanto *in vitro* como em campo. Deste feita, porque não testar estas rizobactérias com o *Ananas erectifolius in vitro* e em casa de vegetação? Note-se que mesmo o curauá sendo uma espécie que não tem tanta exigência quanto ao solo, ainda assim, quando adubado, é notável a diferença que este processo faz, alcançando melhores resultados, mesmo na fase anterior ao campo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da utilização de reguladores de crescimento vegetal (Ácido indolacético – AIA, 6–benzilaminopurina – BAP e Ácido naftalenoacético – ANA) e de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal no desenvolvimento de mudas micropropagadas da espécie *Ananas erectifolius* (Curauá).

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o efeito dos reguladores de crescimento no desenvolvimento das plântulas de *A. erectifolius*, quanto ao número de brotos, altura, número de folhas

e desenvolvimento de raízes, em diferentes concentrações de reguladores de crescimento vegetal (Ácido indolacético – AIA, 6–benzilaminopurina – BAP e Ácido naftalenoacético – ANA;

- ✓ Avaliar o efeito as rizobactérias promotoras de crescimento vegetal no desenvolvimento das plântulas após a introdução *in vitro*;
- ✓ Analisar o efeito das rizobactérias promotoras de crescimento vegetal e dos reguladores de crescimento no desenvolvimento das plântulas de *A. erectifolius* em casa de vegetação;
- ✓ Avaliar o peso fresco e peso seco das mudas de *A. erectifolius* dos tratamentos com as rizobactérias e reguladores.

3 REVISAO DA LITERATURA

3.1 Mecanismos de Promoção de Crescimento Vegetal

As bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) apresentam diferentes mecanismos de ação e podem atuar de diferentes formas, sendo classificadas como bioestimuladores, biofertilizantes ou como agentes de biocontrole (Lopes *et al.*, 2021). Podem, também, exercer efeito indireto na promoção do crescimento de plantas, via indução da defesa das plantas contra o ataque de patógenos (Beneduzi *et al.*, 2013).

Diversos são os mecanismos de promoção de crescimento de plantas por microrganismos do solo, podendo ser diretos, como a produção de hormônios ou outras substâncias análogas a estes, os quais influenciam diretamente no crescimento ou desenvolvimento da planta, ou ainda, suprindo as suas necessidades nutricionais, por mecanismos como a fixação biológica do nitrogênio e solubilização de fosfatos. Os benefícios indiretos da inoculação de microrganismos em sementes ou plântulas podem ser por meio da supressão de patógenos (Machado *et al.*, 2011).

Os microrganismos promotores do crescimento vegetal possuem vários mecanismos responsáveis pela promoção do crescimento de plantas, dentre eles: o controle biológico, produção de fito hormônios (auxina, giberelina, ácido 13 abscísico,

etileno e citocinina), produção de sideróforos, fixação de nitrogênio e solubilização de fosfato (Rodrigues, 2014).

Os Bioestimulantes são conhecidos por modular a síntese de hormônios e ativar as reações fisiológicas da planta, adequando-as para diversas condições ambientais, dentre elas o crescimento vegetal (Silva *et al.*, 2022). Os microrganismos atuam no crescimento das plantas, por regular fitohormônios, aumentando a concentração de auxina, giberelina, citocinina, além de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase, enzima que reduz o etileno.

Os etilenos também são capazes de biodisponibilizar elementos essenciais ao desenvolvimento vegetal (Lopes *et al.*, 2021). Além disso, produzem substâncias que induzem uma resistência sistêmica ao hospedeiro, como ácido cianídrico, bacteriocinas e antibióticos, prevenindo ou limitando o dano causado por fitopatógenos (Bhat *et al.*, 2019; Chouan *et al.*, 2021).

O principal efeito das auxinas é a capacidade de atuar na expansão e no alongamento celular, ajudando também na divisão celular em cultura de tecidos, principalmente no enraizamento (Aguiar, 2012). A citocina é também um mecanismo de ação das BPCV. As citocininas são assim chamadas porque estimulam a divisão celular (citocinese) e o desenvolvimento de gemas laterais. Esses fitohormônios são produzidos nas raízes e transportados através do xilema para todas as partes da planta (Aguiar, 2012). Esse hormônio é capaz de promover a divisão e diferenciação celular, induzir o crescimento do caule e retardar a senescência das folhas (Silva *et al.*, 2022).

Os Biofertilizantes utilizam as BPCV para o aumento da disponibilidade de substâncias presentes no próprio ambiente para o desenvolvimento da planta, tais como a fixação biológica do nitrogênio (FBN), solubilização do fosfato (SF) e produção de sideróforos (PS) (Lopes *et al.*, 2021). O nitrogênio é um dos elementos mais abundantes na atmosfera, constituindo 78% do ar atmosférico. A planta não é capaz de utilizar esses nitrogênios atmosféricos (N₂), mas a bactéria possui a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, transformando-o em NO₃⁻ (nitrato) e NH₄⁺ (amônia), tornando esse elemento disponível para a planta (Silva *et al.*, 2022).

A simbiose é iniciada pela formação de nódulos nas raízes ou no caule, em resposta à presença das bactérias. A secreção de moléculas sinais e os lipooligosacarídeos têm papel crucial neste processo. As bactérias penetram no córtex, multiplicam-se e se diferenciam em bacteroides, os quais produzem o complexo enzimático da nitrogenase

(figura 1) (Mariano *et al*, 2004). Dentro dos nódulos, a planta cria um ambiente com baixa concentração de nitrogênio, que permite a nitrogenase bacteriana converter o N atmosférico em amônia. Como contrapartida, as plantas fornecem às bactérias as fontes de carbono (Bloemberg; Lugtenberg, 2001).

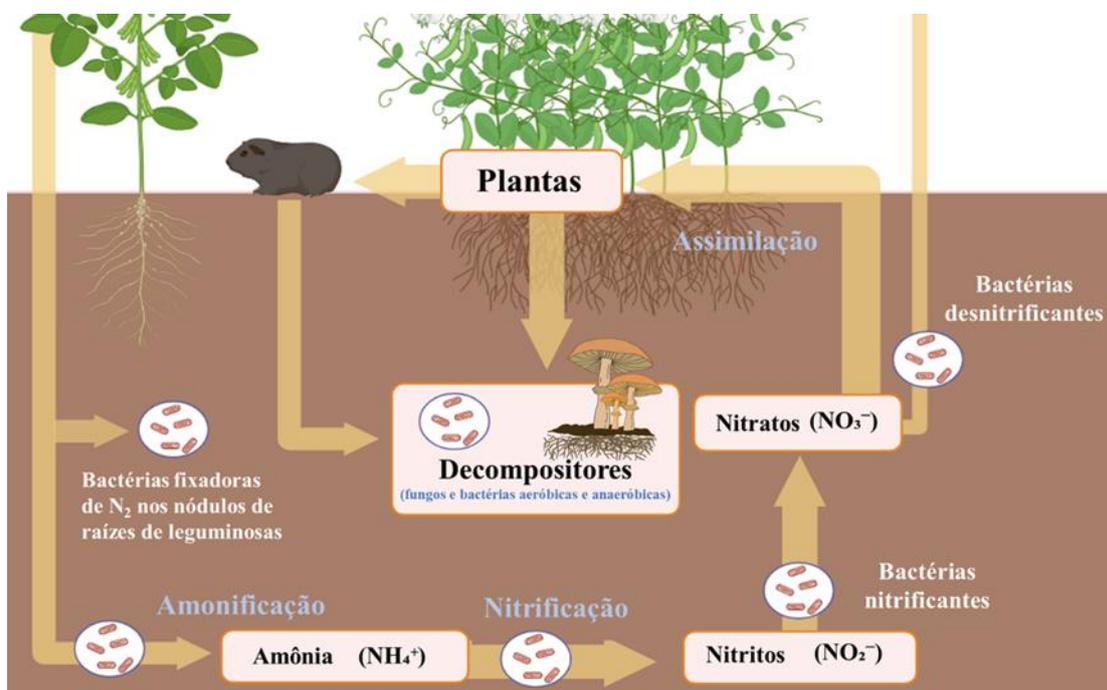


Figura 1. Esquema demonstrando processo de nitrogenase no meio ambiente.

Fonte: Modificado de EDUCA+BRASIL (2020), feito no programa BIORRENDER.

Outro exemplo, são os biocontroles ou controles biológicos, que são substâncias produzidas com a habilidade antagonista contra fitopatógenos (Chernin; Chet, 2002). Dentre estas substâncias destacam-se moléculas com atividade bioativa (antibióticos), biosurfactantes e produção de enzimas extracelulares que degradam a parede celular de determinados micro-organismos patogênicos.

A utilização das BPCV como agentes de biocontrole indireto pode oferecer duas respostas diferentes da planta: resistência sistêmica induzida e resistência sistêmica adquirida. Ambas têm como objetivo ativar o sistema de defesa da planta, tornando-a tolerante a diferentes estresses, inclusive outras doenças ou parasitas (Silva; Dourado, 2022).

Além de inúmeras funções das bactérias endofíticas na promoção direta do crescimento vegetal, essas bactérias também atuam como agentes de biocontrole,

promovendo o crescimento vegetal de forma indireta (pelo controle de pragas e patógenos) e possibilitando um sistema de produção mais sustentável, diminuindo ou, em alguns casos, substituindo defensivos, herbicidas e ativos químicos por produtos biológicos, como micro-organismos como princípio ativo (Rodrigues, 2014).

Outro mecanismo utilizado é a formação de biofilme, onde bactérias colonizam a superfície da planta, formando uma “película” microbiana, que atua como barreira física, reduzindo a competitividade microbiana e fornecendo uma maior proteção à planta. Em muitos casos, esses micro-organismos estão associados a outros mecanismos de ação, como antagonistas de patógenos, promovendo o biocontrole (Santos *et al.*, 2021).

O termo biofilme descreve a forma de vida microbiana sésil, caracterizada pela adesão de microrganismos a alguma superfície e com a produção de substâncias poliméricas extracelulares. O biofilme ocorre por uma série de eventos sequenciais, em que a adesão inicial de bactérias planctônicas à superfície (processo reversível) é seguida por subsequente proliferação e acúmulo de camadas de células e, finalmente, pela formação da comunidade microbiana (processo irreversível) (Costa *et al.*, 2017).

3.2 Rizobactérias como promotoras do crescimento de plantas (RPCP)

As rizobactérias ou bactérias rizosféricas existem em abundância na superfície, como também nas raízes das plantas. A utilização de RPCP, diminui a utilização de insumos químicos, com benefícios tanto de ordem econômica quanto de ordem ecológica, uma vez que tais produtos geram, frequentemente, problemas de contaminação ambiental (Romeiro, 2007; Freitas, 2007).

Elas promovem benefícios na propriedade do solo, no crescimento vegetal e no meio-ambiente, podendo colonizar a rizosfera, a superfície das raízes das plantas ou os espaços intercelulares destas. Muitos gêneros de bactérias são classificados como RPCP, dentre estas as bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, dentre outras (Amaral *et al.*, 2017)

Os solos amazônicos possuem elevada diversidade de microrganismos com atividades metabólicas variadas e que são responsáveis por diversas transformações químicas envolvidas no processo de ciclagem de nutrientes para as plantas (Oliveira, 1993). A produção de fitohormônios por algumas rizobactérias está diretamente ligada a

promoção de crescimento da planta, em 16 que os mais comuns são o AIA (ácido indol-acético), ácido giberélico, citocininas e etileno (Silveira, 2007).

Entre as funções das RPCP estão a produção de diferentes enzimas que afetam o crescimento vegetal, a solubilização de nutrientes e conseqüentemente a sua disponibilidade a produção de diferentes fitohormônios e outros metabólitos, como os sideróforos que possuem atividade antagônica à patógenos e atuam estresses e elevam a produtividade das culturas (MIRANSARI, 2014)

Segundo Harthmann (2009), as rizobactérias só são consideradas promotoras de crescimento vegetal quando apresentam as seguintes características, serem proficientes para colonizar a superfície da raiz, e o interior das plantas ou das células das plantas e sobreviver, multiplicar e competir com outros microrganismos, pelo menos durante o tempo necessário para exprimir as suas atividades de promoção/proteção do crescimento das plantas.

3.3 Fixação Biológica de Nitrogênio

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no sistema biológico, compreendendo a principal unidade construtora de ácidos nucléicos, enzimas e proteínas, entre suas múltiplas funções (Rodrigues, 2014). Nos sistemas agrícolas, o nitrogênio é ainda mais importante, uma vez que sua adição, para sustentar e aumentar o rendimento das culturas é uma característica universal e fundamental no manejo da cultura moderna (Robertson; Vitousek, 2009).

Embora o Nitrogênio esteja disponível abundantemente na atmosfera, as plantas não conseguem absorvê-lo da forma necessária, visto que ele é um dos nutrientes mais requeridos pelas plantas. Sendo vital para a síntese de biomoléculas, como as proteínas, as plantas apenas conseguem assimilá-lo como nitrato ou amônio (Florencio *et al.*, 2022).

De acordo com Vieira (2017), o problema que envolve a fixação do nitrogênio atmosférico está relacionado à presença da ligação covalente tripla entre as moléculas, o que torna este gás altamente estável em temperatura ambiente. O rompimento desta tripla ligação pelos microrganismos requer a presença da enzima nitrogenase.

O nitrogênio exerce um papel fundamental no crescimento da planta, e para que a enzima nitrogenase aconteça é necessário que a fixação do N₂ atmosférico ocorra, obrigatoriamente, em um ambiente anaeróbico. Sendo assim, a planta diferencia as

células radiculares em estruturas denominadas nódulos, esses nódulos são formados por uma heme proteína chamada de leghemoglobina que se liga ao oxigênio presente em altas concentrações na planta (Silvia *et al.*, 2022). Para Beatty e Good (2011), o complexo enzimático das nitrogenases possui duas proteínas denominadas dinitrogenase e dinitrogenase redutase, de maneira que a redução do nitrogênio gasoso ocorre no centro destas proteínas.

O processo de fixação biológica, na qual as bactérias passam o nitrogênio (N₂ do ar) a uma planta hospedeira, é bem conhecido na associação de leguminosas e de bactérias do gênero *Rhizobium* (Rodrigues, 2014). Taxas de fixação de nitrogênio mediada por bactérias são maiores em ambientes ricos em carbono e muitas bactérias diazotróficas são, frequentemente, encontradas nas raízes das plantas (Dalton; Kramer, 2006).

Segundo Franche *et al.*, (2009), a FBN é realizada, exclusivamente, por micro-organismos pertencentes ao grupo dos procariotos, podendo estes serem de vida livre ou simbióticos. Os micro-organismos que possuem a capacidade de realizar a FBN são chamados de diazotróficas e utilizam-se da atividade de um grande complexo enzimático, chamado Complexo da Nitrogenase, para catalisar a conversão de nitrogênio à amônia, que pode ser, então, utilizada pelas plantas em seu metabolismo (Paula, 2018).

3.4 Fitohormônios

Existem várias substâncias químicas, naturais ou sintéticas, que influenciam profundamente o crescimento e a diferenciação de células e órgãos vegetais. Estas substâncias são denominadas hormônios vegetais e reguladores de crescimento (Silva 2007). Já os reguladores de crescimento são substâncias sintéticas que compartilham com os hormônios a maioria de suas características.

O crescimento e o desenvolvimento de organismos multicelulares, em especial dos vegetais, requerem a integração de uma variedade de sinais ambientais e endógenos que, agregado ao material genético intrínseco, determinam a forma de crescimento de uma planta. O eixo central para este processo de crescimento são os hormônios vegetais ou fitohormônios. Os hormônios vegetais sinalizam compostos intermediários em muitos níveis e regulam o crescimento em alongamento na parte aérea das plantas, sendo necessário, além da giberelina, a auxina (Stamm; Kumar, 2010).

Os hormônios vegetais podem ser agrupados em diversas classes principais. Essas classes são determinadas pelas características químicas dos hormônios ou pelos efeitos que exercem sobre as plantas (Roberto; Botelho, 2021). Os grupos de fitohormônios são divididos em cinco: Auxinas; Citocininas; Giberelinas; ácido abscísico e Etileno.

A descoberta dos hormônios e reguladores de crescimento vegetal promoveu grandes avanços na área de fisiologia, principalmente no entendimento do controle da diferenciação celular, o que permitiu o surgimento da cultura de células e tecidos Isolados *in vitro*, uma das principais ferramentas para o desenvolvimento da agricultura (Torres *et al.*, 1998).

Carvalho *et al.* (2013) relata que com a aplicação de hormônios vegetais, a planta desenvolve-se melhor, em alongamento, em altura e aumentando o diâmetro de caule, conseqüentemente seu engalhamento, por isso, aumenta o número de vagens por planta, sua arquitetura suporta mais vagens e produzirá mais.

3.4.1 Auxinas

A auxina pode ser de origem natural (hormônio) ou sintética e podem estar em diferentes regiões nas plantas (folhas, caule, raiz, frutos, sementes), que atuam como mediadores de processos fisiológicos (Moreti; Pereira; Althman, 2018).

Este hormônio vegetal, possui um peso molecular bem baixo, e é o mais importante fisiologicamente (Porfírio *et al.*, 2016), uma vez que, desempenha um papel vital no crescimento e desenvolvimento das plantas (Wang *et al.*, 2015).

De acordo com Albertini (2017), presença da auxina é indispensável em dois estágios da planta, na iniciação e no desenvolvimento radiciais, onde o primeiro estágio é estabelecido pela ocorrência da iniciação meristemática e o segundo pelo desenvolvimento de órgãos. As quantidades de AIA que se medem oscilam entre 1 e 100µg por kg. de importância seco, embora com as modernas técnicas de extração e correção das perdas ao longo do processo os valores máximos em alguns tecidos podem ser inclusive três vezes maiores (Taiz; Zeiger, 2013).

Suas principais funções envolve o crescimento do caule, raiz e no processo de alongamento das células vegetais. Quando a planta apresenta baixa quantidade de auxinas, suas raízes podem crescer, porém o caule não se desenvolve (Moreti; Pereira; Althman,

2018). Assim, na dominância apical as auxinas fabricadas pelo meristema apical do caule diminuem a atividade das gemas axilares que ficam perto do ápice. Quando a gema apical é extraída da planta, ocorre o surgimento de ramos, folhas e flores laterais (Taiz; Zeiger, 2013).

3.4.2 Ácido naftalenoacético (ANA)

O ácido naftalenoacético (ANA) tem sido mais comumente utilizado, em concentrações que variam conforme a espécie e/ou cultivar, sendo utilizado com sucesso em combinação com outras citocininas, para estimular a indução e alongamento de brotos e o enraizamento em várias espécies vegetais (Grattapaglia; Machado, 1998).

Muitos autores relataram a eficiência do uso do ANA em espécies diferentes. Segundo Jardim *et al.*, (2010) com concentração de 3,0 mgL⁻¹ de ANA em meio MS1 apresentou o maior número de raízes/ explante (2,53) seguido do tratamento T4 com 1,66 raízes/ explante de *Aniba rosaeodora*. De acordo com Araújo *et al.*, (2008) mostrou que na ausência de BAP, praticamente, não há formação de brotos, e sim o enraizamento e maior crescimento dos explantes. Nestas condições, quanto maior a concentração de ANA no meio, maior é o número de raízes emitidas.

Correia *et al.*, (2007) analisou Efeito da concentração do ANA (Ácido Naftalenoacético) no enraizamento *in vitro* de brotos de abacaxizeiro (*Ananas comosus*) e constatou que o número de brotos enraizados foi maior que o número de brotos na ausência do ANA. Souto *et al.*, (2010) destacou o uso do ANA no subcultivo da *Cattleya bicolor*, observando que em 180 dias após o repique houve o aumento do número de folhas e raízes e prolongou o verde das folhas.

3.4.3 Ácido Indolacético

Os hormônios vegetais ou fitohormônios são reguladores naturais de crescimento das plantas. Dentro dessas classes encontram-se as auxinas, citocininas e giberelinas, além dos compostos orgânicos: etileno e ácido abscísico. E a principal auxina produzida pelas bactérias é o ácido indolacético (AIA) (Aguiar, 2014).

Nos mecanismos de produção de fitohormônios, a produção de auxina, em especial o ácido indolacético (AIA), produzido por plantas e bactérias, exerce um papel essencial no desenvolvimento da planta, pois é responsável por controlar processos

fisiológicos, incluindo crescimento e divisão celular, diferenciação de tecidos e resposta à luz (Silva *et al.*, 2022). O AIA também serve como um agente de regulação de diferenciação de células microbianas; por exemplo, ele estimula a germinação de esporos e alongamento de micélio em isolados de actinomicetos (Matsukawa *et al.*, 2007).

A síntese de auxinas, particularmente o AIA, promove o crescimento das raízes e a proliferação de pelos radiculares, melhorando a absorção de água e nutrientes do solo e, conseqüentemente, melhorando o desenvolvimento da planta (Machado *et al.*, 2011). Ela ocorre principalmente em órgãos que estão crescendo ativamente, tais como meristemas apicais da parte aérea, folhas jovens e frutos em desenvolvimento, que são os sítios primários da síntese de AIA.

Estruturalmente este fitohormônio está relacionado ao aminoácido triptofano e estudos iniciais sobre a biossíntese de AIA foram focalizados tendo o triptofano como o provável precursor. As enzimas para a síntese de IAA são geralmente codificadas por grandes famílias de genes, o que tem desafiado a identificação e caracterização de vias individuais (Cassel *et al.*, 2021).

A partir desses estudos, quatro vias de síntese de AIA dependentes de triptofano foram identificadas em plantas e bactérias. A via de ação do AIA, o membro mais potente da família das auxinas, é controlada em muitos níveis, que incluem a biossíntese deste fito hormônio, o seu metabolismo e transporte pelos vegetais. Além disso, foi proposto que esta auxina age como um integrador de atividades de vários hormônios vegetais (Finet; Jaillais, 2012).

Níveis elevados de AIA são detectados em tecidos de brotos e raízes meristemáticas, em cotilédones, bem como em folhas jovens que têm a maior capacidade biossintética destes fitohormônios (Rodrigues, 2014). A identificação dos componentes moleculares da biossíntese de AIA revelou a existência de, pelo menos, duas grandes vias separadas. Uma é dependente do precursor triptofano (Trp) e a outra é independente de Trp (Finet; Jaillais, 2012).

O AIA é dividido entre o citosol e os cloroplastos, então a sua distribuição e de seus metabólitos tem sido bem estudada em células de tabaco. Cerca de um terço do AIA é encontrado no cloroplasto, enquanto o restante está concentrado no citosol. (Taiz *et al.*, 2009). Nesse aspecto, além desses benefícios, o AIA atua como uma molécula de sinalização em muitas interações entre plantas e micro-organismos, e pode interferir no balanço desse fitohormônio nas plantas. Como exemplo, sabe-se que a síntese de AIA

pelos micro-organismos da rizosfera pode modificar a arquitetura das raízes, aumentando não só a massa como também a área radicular, que será colonizada pelos microrganismos e simultaneamente servirá para incrementar a aquisição de nutrientes do solo pela planta (Nieto-Jacobo *et al.*, 2017).

3.4.4 Citocininas

As citocininas são assim chamadas porque estimulam a divisão celular (citocinese). As citocininas são produzidas nas raízes e transportadas através do xilema para todas as partes da planta. Embriões e frutos também produzem citocininas (Demson, 2005). Desta classe de reguladores de crescimento, as mais utilizadas são a cinetina, que é um regulador sintético e a 6-Benzilaminopurina (BAP) (Silva, 2007). Grupo das citocininas é composto pela zeatina (endógeno), 6-benzilamina ou 6-BA (sintético), 6-benzilaminopurina ou BAP (sintético) (Dias, 2014).

Esta classe de reguladores vegetais está associada à manutenção da integridade dos tecidos, retardo da senescência foliar, mobilização de nutrientes, divisão celular, cicatrização de tecidos, dominância apical, formação e atividade dos meristemas apicais, desenvolvimento floral, fixação biológica de nitrogênio e assimilação de nitrogênio (Taiz; Zeiger, 2013). Para a cultura do feijão, os estudos sobre citocininas sintéticas concentram-se na aplicação de 6-benzilaminopurina (BAP), cinetina e 6benziladenina (6-BA) (Silva, 2019).

A citocinina está relacionada ao processo de transporte de solutos na planta, especificamente de carboidratos. Esse hormônio vegetal é o responsável pelo estabelecimento de drenos na planta, através da ativação de enzimas do metabolismo de carboidratos, dessa forma, desempenhando papel fundamental no enchimento de frutos (Freschi, 2019).

3.4.5 6-Benzilaminopurina (BAP)

Entre as citocininas, a 6-benzilaminopurina (BAP) tem sido a mais indicada para promover a proliferação de partes aéreas e indução de gemas adventícias *in vitro*. A citocinina (6 benzilaminopurina) é um dos hormônios mais utilizados na micropropagação, devido ser responsável pela divisão celular, auxiliando na indução de

brotos adventícios a partir de calos, podendo ser utilizados para indução de multibrotação de gemas axilares ou apicais (Kerbaudy, 2012).

Entre os reguladores de crescimento, a citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) é a mais utilizada, pois, dentro dessa classe, é o fitorregulador que tem se mostrado mais eficaz na multiplicação de diversas espécies lenhosas. Além disso, proporciona o menor custo de aquisição (Aragão *et al.*, 2011). O BAP é a citocinina disponível comercialmente que apresenta os melhores resultados na micropropagação (Moura *et al.*, 2012).

3.4.6 Ácido abscísico

O ácido abscísico (ABA) é um hormônio vegetal da classe dos sesquiterpenos, produzido nos plastídios. Sua função primária é responder ao estresse causado pela deficiência hídrica no solo, desencadeando o fechamento dos poros estomáticos (Assmann, 2010). Atua como um regulador de crescimento em plantas e pode estar associado ao controle de diversos processos fisiológicos. Isso inclui regulação da abertura dos estômatos, síntese de proteínas de reserva em sementes, inibição da germinação de embriões imaturos e resposta ao estresse hídrico e à tolerância à escassez de água (Silva, 2007).

Hubbard *et al.* (2010) relatam que o hormônio ácido abscísico (*abscisic acid*, ABA) regula e/ou controla muitos processos-chave no vegetal, incluindo a germinação de sementes, desenvolvimento e, especialmente, tolerância a estresses abióticos, por exemplo, controlando a abertura e fechamento estomático durante deficiência hídrica.

3.4.7 Giberelinas

As giberelinas são um segundo grupo de hormônios, que são associadas à promoção do crescimento do caule, e a sua aplicação às plantas intactas pode induzir em aumentos significativos na sua estrutura (Taiz; Zeiger, 2011; Bazzan, 2013). Os diferentes tipos de reguladores vegetais existentes agem inibindo a rota comum de síntese de todos os ácidos giberélicos, por exemplo, e sabe-se que o ácido giberélico atua como regulador da divisão e alongamento das células das plantas, estimulando o crescimento do vegetal pelo aumento da extensibilidade da parede celular e, deste modo, participa no crescimento do caule da mesma (Silva, 2018).

Dias (2014), relata diversos usos das giberelinas, como no atraso da maturação dos frutos da bananeira, florescimento e frutificação de videira, promoção de emergência da batata, frutos sem semente de pepino e, também, na conservação de flores de corte.

3.4.8 Etileno

De acordo com Santos (2009), o etileno é um hormônio vegetal gasoso, produzido em todas as partes dos vegetais superiores. A taxa de produção de etileno depende do tipo de tecido e do estágio de desenvolvimento deste. Dentre os hormônios vegetais, o etileno hormônio volátil e incolor é produzido por quase todas as partes dos vegetais vascularizados, porém, sua biossíntese possui uma atividade maior nos tecidos meristemáticos (Farias, 2020).

O etileno (*ethylene*, ET) foi um hormônio vegetal encontrado por Zimmerman e Wilcoxon (1935), relacionado à iniciação do crescimento em raízes, bem como outras respostas, em geral, inibidoras do crescimento vegetal. Grupo do etileno: C₂H₄ (endógeno) e ethephon (sintético) (Dias, 2014). A principal via para biossíntese de etileno tem como precursor central o aminoácido metionina, o qual é convertido a S-adenosil metionina (SAM); este por sua vez é convertido a ácido aminociclopropano carboxílico (ACC), que será convertido a etileno (Santos, 2009).

O etileno, promove o alongamento de caule e de pecíolos de espécies submersas, aumenta a sensibilidade do meristema intercalar à ação das giberelinas endógenas, quebra a dormência de gemas (tubérculos) e de sementes em algumas espécies, como nos cereais. O etileno pode ser produzido em todas as partes da planta, embora os níveis de produção dependam do tipo de tecido e do estágio de desenvolvimento. Alguns tipos de ferimentos podem induzir a biossíntese do etileno, assim como estresse fisiológico, como excesso de água, congelamento, doenças e temperaturas inadequadas ou ainda, aridez (Taiz; Zeiger, 2011; Bazzan, 2013).

3.5 Interação Planta-bactéria

As complexas interações entre planta e bactéria podem ser benéficas, estimulando o crescimento de plantas e melhorando a produção agrícola; ou prejudiciais causando doenças ao hospedeiro (Ramos *et al.*, 2011). Estas interações resultam de uma

troca mútua de benefícios, na qual estas interações são responsáveis pelos processos biológicos essenciais para o desenvolvimento e proteção da planta.

Existem diferentes tipos de bactérias promotoras de crescimento, aquelas que colonizam a rizosfera e possuem efeitos benéficos às plantas, que são chamadas de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). Bactérias ou rizobactérias promotoras de crescimento podem estimular o crescimento da planta, aumentar o rendimento das culturas, reduzir infecções por patógenos bem como reduzir estresses bióticos e abióticos sem prejudicar a planta (Amaral, 2014).

De acordo com Labanca (2019) a associação BPCP-hospedeiro (bactérias promotoras de crescimento de plantas) é baseada em uma troca de benefícios. A planta fornece nutrientes orgânicos para a bactéria que, por sua vez, fornece proteção e outros nutrientes para a planta. Esta relação envolve vários mecanismos positivos para o hospedeiro, que podem ser diretos ou indiretos. Em sua associação com a planta, microrganismos podem colonizar os tecidos internos (endofíticos) ou apenas a superfície dos órgãos vegetais (epifíticos) (Saikonen *et al.*, 2004).

Bactérias ou rizobactérias promotoras de crescimento podem estimular o crescimento da planta, aumentar o rendimento das culturas, reduzir infecções por patógenos bem como reduzir estresses bióticos e abióticos sem prejudicar a planta (Amaral, 2014). Após o reconhecimento de ambos, planta e bactéria, o estabelecimento da simbiose é caracterizado pela formação de um órgão diferenciado, o nódulo, o qual promove um nicho para a bactéria fixar nitrogênio (Hungria; Stacey, 1997; Meilhoc *et al.*, 2011).

No que se refere à interação BPCP-Planta, é no microssistema da rizosfera que grande parte das interações das plantas com as BPCP acontece. À medida que a planta se desenvolve, ocorre o fenômeno da rizodeposição e liberação de exsudatos radiculares. O tipo e a composição de rizodepósitos podem atrair microrganismos benéficos e repelir outros que podem ser desfavoráveis (Dias *et al.*, 2022). Os microrganismos desempenham um importante papel na agricultura, por favorecerem o crescimento e a manutenção da saúde das plantas, bem como o equilíbrio do ecossistema do solo no qual a planta está inserida (Weinert, et al., 2009).

3.6 *Ananas erectifolius* como Modelo de Estudo

Ananas erectifolius L.B.Sm. (Curauá) é uma Bromeliácea nativa da Amazônia. Trata-se de uma planta terrestre, herbácea, rizomatosa, de sistema radicular fasciculado, superficial, pouco exigente e que se adapta a diferentes tipos de solo e à mudança climática (Gato *et al.*, 2019), encontrado na região amazônica e apresentando duas variedades: roxa e branca, cuja folhagem é aproveitada para a confecção de fibras no estado do Pará (Lameira *et al.*, 2021).

Entre as fibras vegetais, o curauá se destaca devido ao potencial das fibras extraídas de suas folhas, onde cada planta produz cerca de 24 folhas medindo, em média, entre 1 e 1,5 m x 4 cm de largura, e com rendimento próximo dos 6% de fibras (Freires *et al.*, 2022). Já seus frutos se assemelham ao abacaxi, porém, por serem mais fibrosos e ácidos, não são consumidos (Maciel, 2017).

A frutificação normalmente ocorre quando a planta alcança a idade de um ano e meio. Ao frutificar, a planta-mãe para de produzir folhas, entra em senescência e morre, sendo substituída pelos rebentos que se originam da quebra da dormência das gemas laterais existentes nas bainhas das folhas, podendo se originar também nas regiões mais inferiores do caule, com suas bases sob o solo. Outra forma de propagação natural são os filhotes, os quais surgem na região apical do fruto, sob a coroa (Sena, 2023).

O curauá (Figura 2) apresenta fibras longas, com boa resistência, maciez e peso reduzido e, por tais características impulsionaram o seu uso na fabricação de papel, confecção de cordas, barbantes, produtos artesanais, na indústria geotêxtil e automobilística para produção de componentes para bancos e revestimento de automóveis (Lameira *et al.*, 2021).



Figura 2 *Ananas erectifolius* (Curauá).
Fonte: Autora.

Atualmente, está fibra é utilizada para diversos fins, mais recentemente como substituta da fibra de vidro na indústria automotiva e, alternativamente, também com uso diversificado como composto de vigas resistentes a terremotos na construção civil. Suas folhas secas também têm amplo uso para roupas e medicamentos (Junior *et al.*, 2020).

O plantio do curauá pode ser solteiro, mas para melhor aproveitamento de área, recomenda-se seu plantio consorciado com frutíferas e/ou essências florestais não madeireiras. A primeira colheita de folhas é feita após um ano do plantio, quando são retiradas folhas apenas da planta mãe. As demais colheitas podem ser realizadas a cada 3 a 4 meses, quando são aproveitadas também as folhas dos rebentos que ficaram ao lado da mãe (Sena, 2023).

Segundo Junior, 2019, uma das fibras vegetais mais promissoras para aplicação na indústria é o curauá (*Ananas erectifolius*). Uma grande vantagem para o uso destas fibras é que possuem uma baixa densidade, pois são compostas principalmente de lignina, celulose e hemicelulose. Desta forma, é possível utilizar estas fibras para produção de compósitos de polímeros, diminuindo, assim, os impactos ambientais, uma vez que elas substituem os materiais derivados de petróleo (Freires *et al.*, 2022).

A fibra do curauá apresenta grande potencial e alta qualidade devido à sua resistência, maciez e peso específico reduzido, podendo ser utilizada em indústrias

automotivas e de construção civil (Bilcat *et al.*, 2018). Seu cultivo é pouco exigente em relação à fertilidade do solo, apresenta baixa perda durante a estação seca no verão, sendo, portanto, seu cultivo economicamente viável (Picanço *et al.*, 2008). Em média, 16 folhas de curauá pesam 1 kg e cada planta produz uma média de 48 folhas por ano. O rendimento médio de fibra seca do curauá fica em torno de 6% do peso da folha, propiciando uma produtividade de 3.600 kg de fibra seca por hectare/ano e 60 toneladas de mucilagem.

Ao contrário das fibras de vidro, as fibras vegetais são: menos densas, obtidas de fontes renováveis e biodegradáveis. A menor abrasividade aos equipamentos de processamento também é uma característica importante para a indústria, resultando em economia de custos com manutenção. As fibras de curauá têm sido extensivamente estudadas para compósitos com termofixos e termoplásticos devido ao fato de suas propriedades mecânicas notáveis em relação a outras fibras vegetais produzidas em larga escala, como sisal ou juta (Silva, 2007).

O curauá mostrou ser uma fibra imbatível no quesito resistência, quando comparado com a bucha, a banana, o bagaço de cana-de-açúcar, o cânhamo, o sisal ou a juta. Montadoras como Mitsubishi, General Motors e Honda também já fazem uso desta planta (Junior *et al.*, 2020).

O curauá também é considerado uma espécie medicinal, podendo ser agregado aos setores das indústrias farmacológicas, uma vez que possui propriedades antibacteriana (Fujihashi e Barbosa 2002). Crestani *et al.* (2010) afirmam que algumas partes da planta se destacam como potenciais fármacos.

A indústria aeronáutica, por exemplo, vem se modernizando com o uso cada vez maior de compósitos, pois atualmente já se tem aeronaves com 50% de compósitos em sua composição. O mesmo acontece na indústria náutica, já que a utilização de compósitos permite uma grande flexibilidade na execução das mais diversas formas e os modelos Fox e Polo da Volkswagen, já estão usando a fibra do curauá para fabricação do teto, na parte interna das portas e na tampa do compartimento de bagagens (Junior *et al.*, 2020).

O mercado consumidor do curauá tem se apresentado de várias formas, tanto para o consumo da folha *in natura*, quanto para a fibra e mucilagem. Fibras picadas de curauá são misturadas com sobras de cobertores e tapetes, descartadas pela indústria têxtil, para reforçar a matriz de polipropileno em compósitos utilizados no teto e na parte interna

do compartimento de bagagem de automóveis como o Fox e o Polo da Volkswagen do Brasil (Ereno, 2004).

O curauá é uma planta que pode ser aproveitada por inteira, sua infrutescência poder ser comercializada para o setor de ornamentais, já o soro proveniente do desfibramento pode ser usado como adubação orgânica, possibilitando melhorar o crescimento da planta, principalmente no que se refere ao número de folhas e brotos, conforme verificado por Braga *et al.*, (2010). A mucilagem (Figura 3) que é o resíduo das folhas, segundo algumas pesquisas, está sendo usada na produção de ração para galinhas e até mesmo como adubo na produção dele.

Segundo Braga *et al.* (2010), o uso da mucilagem no plantio do curauá, mostrou que em relação ao número de folhas, os maiores valores foram observados nas plantas que foram submetidas à aplicação do extrato vegetal a 50 % sem diferir estatisticamente daquelas que foram submetidas à concentração de 25% e 75%. Os menores valores foram observados nos tratamentos na ausência do extrato vegetal e na concentração de 100%, sem diferirem entre si.



Figura 3. Mucilagem do *Ananas erectifolius* (Curauá).

Fonte: Autora.

Outro composto do curauá é o soro que pode ser extraído da mucilagem, que possui alguns benefícios. De acordo com Cordeiro *et al.*, (2004) o soro extraído do curauá durante o processo de desfibramento apresentou um potencial para o aproveitamento na adubação orgânica, inibidor de plantas oportunistas e como ração animal, pois possui teores de carboidratos, gorduras e proteínas, tanto na amostra pura como nas amostras diluídas em água.

Segundo Mafra, Duarte e Lasmar (2010), a indústria automobilística identificou a necessidade do uso das fibras vegetais, pois havia uma demanda de 10.000 toneladas por ano de sisal para substituir a utilização da fibra de vidro, e que algumas empresas que utilizam as fibras vegetais na fabricação de assentos entre outras peças.

Com isso, a utilização da fibra do curauá para produção de biocompósitos para a fabricação de automóveis, resolveria não somente a questão do descarte, pois ao inserir uma fibra vegetal ao produto faz com que aquele produto seja biodegradável. Esta combinação de boas propriedades mecânicas, biodegradabilidade, baixa densidade e menor custo de obtenção das matérias-primas, quando comparado ao custo de fibras sintéticas e polímeros derivados do petróleo (Milanese *et al.*, 2011).

3.7 Cultura de Tecidos Vegetais

A cultura de tecidos vegetais pode ser considerada o principal meio para obtenção de plantas através da indução de explantes. Pelos processos de embriogênese, organogênese e morfogênese, temos a diferenciação celular que resulta na formação dos tecidos vegetais (FLOH *et al.*, 2015). Utilizar esta técnica é de grande vantagem, uma vez que, é possível produzir mudas fiéis a planta mãe e livres de patógenos (Almeida *et al.*, 2015).

A cultura *in vitro* de plantas permite avaliar o desempenho das culturas sob determinadas condições, de tal forma que é possível avaliar o papel de diversos agentes sobre vários aspectos da fisiologia do desenvolvimento vegetal (Silva, 2007). Essa técnica é baseada na capacidade das células vegetais, sejam estas de qualquer tecido, se tornarem indiferenciadas e se multiplicarem dando origem a novas células iguais, ou diferentes e se tornarem outros tecidos através de novas vias metabólicas. Este processo dependerá da disponibilidade das condições ideais para o desenvolvimento dos explantes, que por sua vez dependerão do meio de cultivo e aditivos (Souza *et al.*, 2018).

Os métodos de cultivo *in vitro* vêm sendo aplicados com sucesso em plantas medicinais, com o uso da micropropagação, da cultura de calos e da cultura de células em suspensão, como alternativa para a obtenção de substâncias de interesse farmacêutico, cosmético e alimentar (Vanisree *et al.*, 2004).

De acordo com Klepacki (2022) diversos estudos são conduzidos na tentativa de desenvolver melhores e mais eficientes protocolos de micropropagação para diversas

espécies, no entanto, este processo pode ser considerado mais custoso levando em conta o valor de mudas, mas visto que garante plantas de alta qualidade e livres de patógenos, é a técnica mais utilizada e eficiente na obtenção de mudas de qualidade, em larga escala e em tempo reduzido.

Uma alternativa para a preservação de espécies em extinção como também de manutenção de um determinado banco de germoplasmas, seria através da micropropagação *in vitro* (Silva, 2007).



Figura 4 *Ananas erectifolius* (Curauá) *in vitro* em diferentes fases.
Fonte: Autora.

4 MATERIAL E METÓDOS

Para realização deste trabalho, a metodologia foi dividida em duas partes (Figura 4). A primeira parte, relacionada ao estabelecimento da cultura *in vitro* de *Ananas erectifolius* (curauá), realizada no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, do Centro de Bionegócios da Amazônia – CBA, e as plântulas utilizadas como fonte de explantes para a obtenção de plântulas foram oriundas do Banco de Germoplasmas Vegetais do CBA.

A segunda parte do trabalho, foi realizada no Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Microrganismos da Amazônia (LEBMAM), localizado no Campus III do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA, com intuito de selecionar rizobactérias para avaliar sua capacidade na promoção do crescimento vegetal.

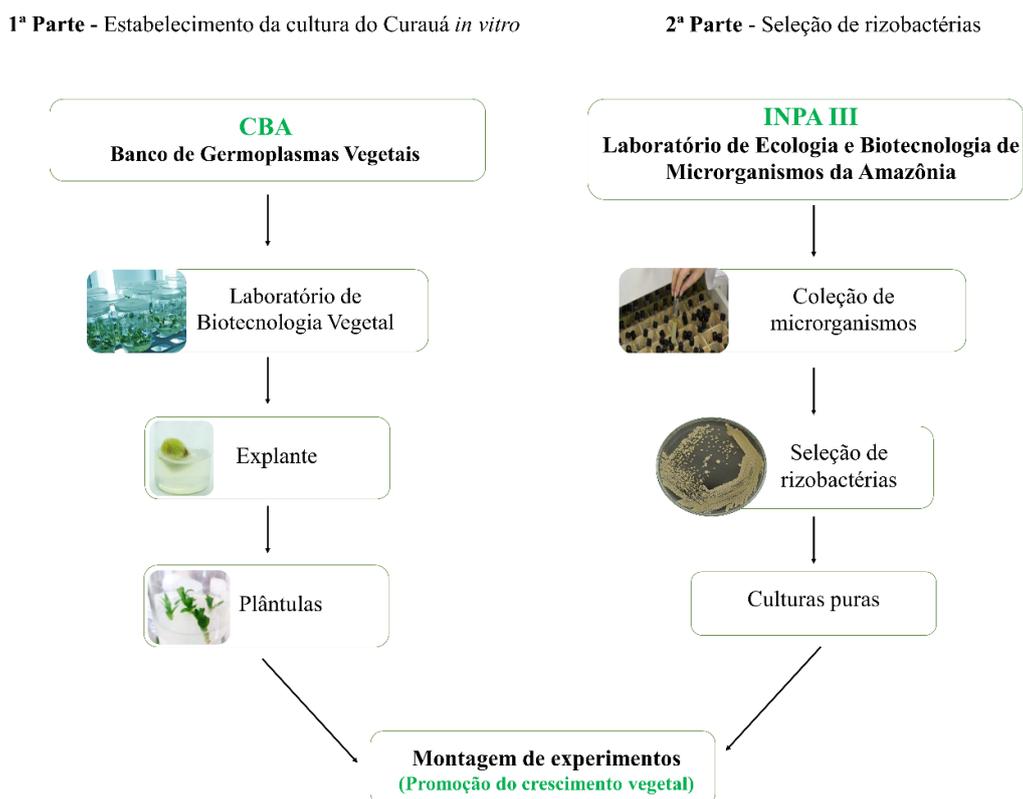


Figura 5. Esquema demonstrando divisão das etapas do estudo.

Fonte: Autora.

4.1 Cultivo de explantes de *Ananas erectifolius*

Os explantes de curauá selecionados do Banco de Germoplasmas Vegetais do CBA foram levados ao Laboratório de Biotecnologia vegetal do CBA e micropropagadas em frascos de vidro (250 mL) contendo 40 mL de meio semissólido de composição básica segundo Murashige e Skoog (1962) MS0 (Tabela 1).

Tabela 1. Composição do meio de cultura MS0 (Murashige; Skoog,1962).

SOLUÇÃO ESTOQUE	NUTRIENTES	CONCENTRAÇÃO SOLUÇÃO ESTOQUE	CONCENTRAÇÃO NO MEIO DE CULTURA
A	NH ₄	82,5 g. L ⁻¹	20,0 ml.L ⁻¹
	NO ₃		
B	KNO ₃	95,0 g. L ⁻¹	20,0 ml.L ⁻¹
C	MgSO ₄	74,0 g. L ⁻¹	5,0 ml.L ⁻¹
	MnSO ₄ .H ₂ O	3,38 g.L ⁻¹	
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,72 g.L ⁻¹	
	CuSO ₄ .5H ₂ O	5,00 g.L ⁻¹	
D	CaCl ₂ .2H ₂ O	88,0 g. L ⁻¹	5,0 ml.L ⁻¹
E	H ₃ BO ₃	1,24 g.L ⁻¹	5,0 ml.L ⁻¹
	KH ₂ PO ₄	34,0 g. L ⁻¹	
	KI	0,16 g.L ⁻¹	
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,05 g.L ⁻¹	
	CaCl ₂ .6H ₂ O	0,005 g. L ⁻¹	
F	Na ₂ EDTA	7,450 g. L ⁻¹	5,0 ml.L ⁻¹
	FeSo ₄ .7H ₂ O	5,570 g. L ⁻¹	
Vitaminas	Tiamina	0,050 g. L ⁻¹	1,0 ml.L ⁻¹
	Piridoxina	0,050 g. L ⁻¹	1,0 ml.L ⁻¹
	Ácido nicotínico	0,050 g. L ⁻¹	1,0 ml.L ⁻¹
	Mio Inositol	5,0 g. L	2,0 ml.L ⁻¹
	Sacarose	30,0 g.L	30,0 g.L
	Phytigel	1,8 g. L	1,8 g. L

As matrizes de curauá vieram da empresa PEMATEC, localizada no estado do Pará. No ano de 2016, uma dessas matrizes passaram pelo processo de desinfestação e introdução *in vitro*, no qual foi retirado as gemas presente na base da planta e posteriormente passaram por um processo de assepsia para a inoculação no meio de cultura para a germinação. Após o processo de germinação, as plântulas passaram para a fase de estabelecimento, onde ocorre a produção de brotos laterais, alongamento e enraizamento (Figura 5).

Com a plântula já estabelecida foi realizado a multiplicação *in vitro* destas, as introduzindo em meio de cultura com adição de diferentes dosagens de reguladores de crescimento, para estimular a produção de brotos. De tal modo, as plântulas utilizadas

neste estudo tiveram seu primeiro cultivo realizado a partir de explantes no ano 2016 e passaram por cultivos subsequentes em meio controle (MS0) até sua utilização nos experimentos de crescimento *in vitro*, no 12^o subcultivo.

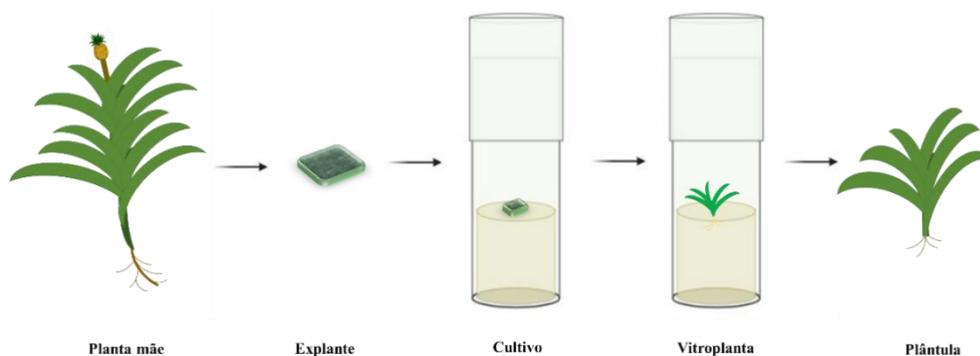


Figura 6. Etapas do cultivo de explantes para obtenção de plântulas de *Ananas erectifolius* (curauá).
Fonte: Autora.

4.2 Seleção dos isolados de rizobactérias para a introdução *in vitro*

Foram selecionadas 29 rizobactérias isoladas de solos ou nódulos de leguminosas pertencentes à Coleção Bacteriana do Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Microrganismos da Amazônia (LEBMAM), localizado no Campus III do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA.

Após selecionadas, as rizobactérias foram replicadas em placas de Petri contendo meio YMA - Yeast Manitol Ágar (Vincent, 1970; Somasegaran; Hoben, 1985), em pH 6,5 e mantidas em BOD (incubadora de demanda bioquímica de oxigênio) a 28° C até o crescimento das colônias, conforme seu crescimento bacteriano, foram repicadas para novas placas contendo o mesmo meio e do mesmo modo incubadas até seu crescimento puro (Tabela 2). O código, identificação gênica, local de coleta e outras informações sobre as rizobactérias selecionadas para realização dos testes de promoção de crescimento vegetal, estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 2. Composição do meio de cultivo Yeast Manitol Ágar.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Manitol	10,0 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2 g
NaCl	0,1 g
Ext. Levedura	0,5 g
Ágar	15,0 g
H ₂ O Destilada	1000 mL

Tabela 3. Rizobactérias selecionadas para os testes de promoção de crescimento vegetal.

CÓDIGO	NOME CIENTÍFICO	COBERTURA (%)	ID (%)	N. DE ACESSO	LOCAL DE COLETA	PONTO DE REFERÊNCIA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
INPA R001							
INPA R010					Novo Ayrão		De Oliveira <i>et al.</i> (2021)
INPA R028							
INPA R055	<i>Bacillus</i> sp. X30	100%	99,76%	OR243868.1			
INPA R070	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	100%	100,00%	MW931806.1			
INPA R152	<i>Paenibacillus</i> sp.	100%	99,87%	OR083849.1			
INPA R276						<i>Inga edulis</i> sp. (Ingá)	
INPA R285	<i>Bacillus</i> sp.	100%	100,00%	LC681824.1	Rio Preto da Eva	<i>Indigofera</i> sp. (Anil bravo)	De Oliveira <i>et al.</i> (2021)
INPA R287							
INPA R296	<i>Bacillus subtilis</i>	100%	99,60%	OP010075.1		<i>Inga</i> sp. (Ingá)	
INPA R579	<i>Bacillus</i> sp.	100%	100,00%	OR272416.1	Ramal do Caldeirão Km3 S 30 13' 41,9" W 600 13' 27,8"	<i>Pueraria phaseoloides</i> (Feijão Bravo)	
INPA R622							
INPA R629 ⁱ	<i>Bacillus</i> sp.	100%	100,00%	OR272416.1	Jandira, propriedade São João S 030 15' 20,0" W 0600 15' 33,1"	<i>Vigna unguiculata</i> (Feijão Caupi)	Brito (2013)
INPA R633	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	100%	100,00%	MT522397.1			
INPA R634						<i>Vigna unguiculata</i> (Feijão Caupi)	
INPA R666					INPA, campus V8 S 030 05' 28,6" W 0590 59' 36,7"	<i>Swartzia polyphylla</i> (Arabá)	
INPA R672							
INPA R676	<i>Bacillus</i> sp.	100%	100,00%	OR502629.1	Viveiro de Urucu S 040 53' 15.1"	<i>Cedrelinga catenaeformis</i>	
INPA R677	<i>Burkholderia</i> sp.	100%	99,84%	MK033342.1	W 0650 13' 31.5"	(Cedrorana)	

Continua....

Tabela 3. Rizobactérias selecionadas para os testes de promoção de crescimento vegetal.

CÓDIGO	NOME CIENTÍFICO	COBERTURA (%)	ID (%)	N. DE ACESSO	LOCAL DE COLETA	PONTO DE REFERÊNCIA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
INPA R822	<i>Burkholderia contaminans</i>	99%	99,87%	CP046609.1	Novo Ayrão		
INPA R825	<i>Burkholderia</i> sp.	99%	99,87%	MG674319.1			
INPA R843	<i>Bacillus</i> sp.	100%	99,75%	MW255043.1			
INPA R922	<i>Rhizobium</i> sp.	100%	100,00%	MK843271.1	Carreiro da Várzea	<i>Echinochla</i> spp. (Canarana)	Chagas Junior (2007)
INPA R937	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	100%	100,00%	MT229311.1	Marchantaria, Careiro da Várzea	<i>V. unguiculata</i> L. (Feijão-caupi)	
INPA R983	<i>Burkholderia</i> sp.	100%	99,75%	MT626032.1	Costa do Açutúba, Município de Iranduba, AM;	<i>Solanum melongena</i> L. (Berinjela)	
INPA R999	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	100%	100,00%	MT229311.1	Barreirinha	<i>Theobroma grandiflorum</i> (Cupuaçu)	
INPA R1003							
INPA R1009	<i>Bacillus</i> sp.	100%	100,00%	OQ874174.1			
INPA R1065					Manacapuru; Lago do Paru S 3°15'24,7" W 60°32'3,4"	<i>Inga edulis</i> (Ingá)	De Oliveira <i>et al.</i> (2021)

4.3 Avaliação do desenvolvimento de plântulas de *Ananas erectifolius in vitro* em diferentes meios

4.3.1 Efeito dos reguladores de crescimento no desenvolvimento curauá (cultivo *in vitro*)

A fim de verificar o efeito de diferentes reguladores de crescimento na cultura de curauá foi preparado 0,5 litros de meio de cultura MS0 modificado (30 mg/L de sacarose; 1,0 ml/L de ácido nicotínico; 2,0 ml/L de mio-Inositol; 1,0 ml/L de piridoxina; 1,0 ml/L de tiamina e solidificados com 1,8 g/L de Phytigel), acrescido das dosagens dos hormônios (reguladores): 6-Benziminalopurina (BAP) (1,0 e 2,0 mg/L⁻¹), Ácido naftaleno acético (ANA), em três concentrações, 0,25 (concentração padrão utilizada para crescimento das plântulas), 0,19 mg/L⁻¹ (menor concentração) e 0,50 mg/L⁻¹ (maior concentração) e, a fim de determinar o efeito do Ácido indolilacético (AIA) foram utilizadas as mesmas concentrações que ANA. Como controle foi utilizado o MS sem a adição de reguladores, conforme descrito na Tabela 4. Os meios foram esterilizados a 120° C por 20 minutos e seu pH foi ajustado para 5,8.

Tabela 4. Tratamentos realizados com diferentes reguladores de crescimento.

		TRATAMENTOS
		Controle MS0
6-Benziminalopurina +	Ácido Indolacético	T1 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ AIA)
		T2 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ AIA)
		T3 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ AIA)
	Ácido Naftalenoacético	T4 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ ANA)
		T5 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ ANA)
		T6 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ ANA)

Em sequência houve a seleção dos frascos com plântulas crescidas (segundo item 4.1) para introdução nos meios com os tratamentos. E em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas, com auxílio de uma pinça flambada foi retirado o material vegetal do frasco, sendo colocado em uma cerâmica para eliminação de raízes danificadas e

escuras e, a diminuição do comprimento das raízes laterais e basais, bem como a retirada de boa parte do ápice caulinar. Foram introduzidas cinco plântulas em cada frascos de vidro contendo 40 mL de meio MS modificado sem e com hormônios. Cada tratamento foi testado com dez repetições, ou seja, dois frascos com cinco plântulas cada.



Figura 7. Subcultivo *in vitro* do *Ananas erectifolius* (Curauá).

4.3.2 Produção de AIA

As rizobactérias foram testadas quanto a concentração de AIA produzidas no meio de cultura YM sem a adição de precursor. Para tanto, as rizobactérias selecionadas (item 4.2) foram cultivadas em Erlenmeyers contendo 50 mL de meio Yeast Manitol (YM) líquido. Os frascos foram incubados à temperatura ambiente (28 ± 2 °C), em agitação a 150 rpm, até o crescimento microbiano. Após sete dias de crescimento, a biomassa bacteriana foi separada por centrifugação a 12.000 rpm durante 15 minutos. Para as análises colorimétricas de AIA no sobrenadante (Gordon e Weber 1951), foram utilizadas uma parte do reagente de Salkowski [FeCl_3 0,5 M + HClO_4 (35%)] e duas partes do sobrenadante obtido de cada isolado. Após 25 minutos de reação a temperatura de 26 ± 2 °C, o fitohormônios foi quantificado por espectrofotometria em 530 nm para verificar a presença de ácido indolacético. As concentrações em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foram calculadas a partir de uma equação da reta construída com seis concentrações de AIA comercial (20, 40, 60, 80, 100 e $120 \mu\text{g.mL}^{-1}$) $y = 0,0003x + 0,0397$, em que “x” representa a quantidade de auxina secretada na cultura (Figura 6).

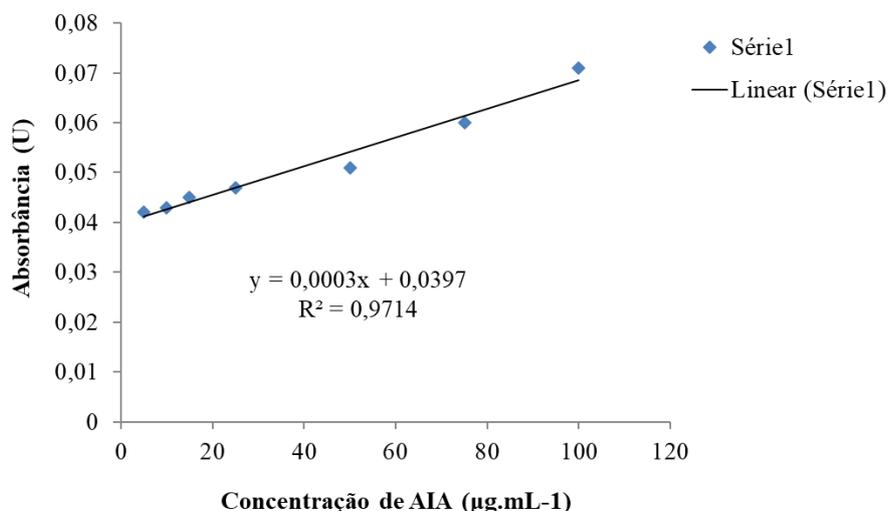


Figura 4. Equação da reta formada para obtenção da concentração de AIA (ácido indolacético) em cada isolado de rizobactéria.

Fonte: Autora.

4.3.3 Efeito das rizobactérias no desenvolvimento do *curauá* (cultivo *in vitro*)

Foram realizados ensaios com as rizobactérias para comparação aos realizados com reguladores de crescimento. As rizobactérias selecionadas (item 4.2) foram cultivadas em Erlenmeyers contendo 50 mL de meio Yeast Manitol (YM) líquido. Os frascos foram incubados à temperatura ambiente (28 ± 2 °C), em agitação a 150 rpm, até o crescimento microbiano. Após sete dias de incubação, as rizobactérias foram padronizadas para 1×10^8 UFC.mL⁻¹ (Unidades Formadoras de Colônia), em câmara de Neubauer.

Posteriormente, as rizobactérias padronizadas foram inoculadas em frascos de vidro de 250 mL contendo 40 mL de meio semissólido MS0. E após 24 horas houve a seleção dos frascos com plântulas *in vitro* para introdução destas nos meios com os tratamentos (Tabela 5).

O processo de introdução das plântulas nos frascos com as rizobactérias seguiu o mesmo preparo descrito no item 4.3.1, totalizando dois frascos por tratamentos com dez repetições em meio MS + RIZOBACTÉRIA.

Tabela 5. Tratamentos analisados quanto ao efeito das rizobactérias no desenvolvimento de *Ananas erectifolius*.

Tratamento	Tratamento
Controle MS0	T15 MS + INPA R 010
T1 MS + INPA R 633	T16 MS + INPA R 070
T2 MS + INPA R 677	T17 MS + INPA R 152
T3 MS + INPA R 1003	T18 MS + INPA R 843
T4 MS + INPA R 622	T19 MS + INPA R 983
T5 MS + INPA R 276	T20 MS + INPA R 1065
T6 MS + INPA R 666	T21 MS + INPA R 1009
T7 MS + INPA R 296	T22 MS + INPA R 055
T8 MS + INPA R 672	T23 MS + INPA R 922
T9 MS + INPA R 676	T24 MS + INPA R 937
T10 MS + INPA R 634	T25 MS + INPA R 287
T11 MS + INPA R 579	T26 MS + INPA R 285
T12 MS + INPA R 822	T27 MS + INPA R 028
T13 MS + INPA R 629	T28 MS + INPA R 999
T14 MS + INPA R 001	T29 MS + INPA R 825

4.3.4 Avaliações biométricas

Os tratamentos com os reguladores e as rizobactérias foram mantidos a 25 ± 2 °C, sob iluminação com lâmpadas fluorescentes (Sylvania, Phillips / luz do dia) com intensidade de $30,0 \mu\text{moles.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 16 horas de fotoperíodo. As avaliações dos desenvolvimentos das plântulas foram realizadas aos 0, 30, 60 dias de incubação, com o auxílio de paquímetro manual, para averiguação do cumprimento das raízes, altura da plântula e largura da folha (medida a partir da folha mais larga). Houve, também, a contagem do número de brotos e folhas de cada planta em seus respectivos tratamentos. E após a última avaliação (60 dias), as plântulas foram aclimatizadas em casa de vegetação.



Figura 8. Avaliação das plântulas do *Ananas erectifolius* (Curauá).

4.4 Avaliação do efeito das rizobactérias e reguladores no desenvolvimento do *Ananas erectifolius* em casa de vegetação

Os testes em casa de vegetação foram realizados no Centro de Bionegócios da Amazônia – CBA. Os tratamentos analisados consistiram na inoculação das plantas dos 11 isolados bacterianos que apresentaram melhores efeitos no desenvolvimento das plântulas, do regulador de crescimento utilizado como padrão e de dois controles, em triplicata, Tabela 6.

Tabela 6. Tratamentos selecionados para os testes em casa de vegetação.

TRATAMENTOS	
Controles	T1 - SOLO NÃO ESTERILIZADO SEM INOCULAÇÃO T2 - SOLO ESTERILIZADO SEM INOCULAÇÃO
Regulador	T3 - SOLO ESTERILIZADO COM REGULADOR DE CRESCIMENTO PADRÃO (2,0 BAP+0,25ANA)
Rizobactérias	T4 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R1065 T5 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R287 T6 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R579 T7 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R633 T8 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R1003 T10 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R028 T11 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R070 T12 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R999 T13 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R937 T15 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R152 T18 - SOLO ESTERILIZADO + INPA R822

O solo utilizado nos testes em casa de vegetação foi coletado da camada superficial, de 0 a 20 cm, da Estação Experimental de Hortaliças Dr. Alejo Von Der Pahlen, do Instituto Nacional de Pesquisas (INPA). E encaminhados ao Laboratório Temático de Solos e Plantas do INPA para determinação a partir de análises químicas das proporções de macro e micronutrientes, bem como pH e matéria orgânica nele presentes antes da esterilização e posterior montagem do experimento (Tabela 7).

Tabela 7. Análises químicas do solo utilizado em experimento em casa de vegetação, sem esterilização.

Análises Químicas															
	pH		C	MOS	N	Ca	Mg	Al	H+Al	K	K	P	Fe	Mn	Zn
Nº	Água	KCL	cmole Kg ⁻¹							mg Kg ⁻¹					
1	4,35	3,87	7,78	13,42	0,54	0,06	0,04	0,84	4,09	0,03	10,90	1,84	115,80	0,73	0,85
		pH-		pH em água				H+Al		Acidez potencial a pH 7					
		C-		Carbono orgânico				K-		Potássio trocável (K ⁺)					
		MOS-		Matéria orgânica do solo				P-		Fósforo disponível					
		N-		Nitrogênio total				Fe-		Ferro trocável (Fe ²⁺)					
		Ca-		Cálcio trocável (Ca ²⁺)				Mn-		Manganês trocável (Mn ²⁺)					
		Mg-		Magnésio traçável (Mg ²⁺)				Zn-		Zinco trocável (Zn ²⁺)					
		Al-		Alumínio trocável (Al ³⁺)											

4.4.1 Aclimatização

Para a aclimatização das plântulas, os testes com as bactérias e o controle, ocorreram da seguinte maneira: as mudas tiveram suas raízes lavadas para remoção completa do meio de cultura e foram introduzidas em vasos de 1,0 Kg, com solo autoclavado três vezes no intervalo de cinco dias e então adicionadas as bactérias que apresentaram os melhores resultados e outras que com as médias baixas nos testes anteriores. Como controle foram utilizados vasos com o solo aclimatizado não esterilizado.

Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, com sistema de irrigação por nebulização, durante 30 dias e após esse período foram transferidas para outra casa de vegetação com sistema de irrigação por microaspersão, onde permaneceram por mais 30 dias.

Cada planta foi avaliada nos parâmetros: altura, número de folhas e brotos, com 30 e 60 dias após a aclimatização. Os tratamentos foram distribuídos, utilizando o método de sorteio pelo aplicativo Randomizer, para que não houvesse interferências em relação à proporção de água e luminosidade.

4.5 Produção de biomassa

Após o período de crescimento em casa de vegetação (60 dias), as plantas foram coletadas e lavadas com água destilada para retirada de excesso de solo, então foram medidas as massas frescas e secas das partes aéreas e das raízes.

4.5.1 Determinação de biomassa fresca

As medidas de peso fresco (g) da parte aérea foram realizadas com auxílio de balança de precisão. As folhas foram então seccionadas na base do pecíolo e então feita a medida. Já as raízes das plantas de curauá foram seccionadas da parte aérea e avaliadas as medidas de peso fresco (g) em balança de precisão e a área radicular medida com auxílio de paquímetro manual. Essas determinações de massa fresca da parte aérea e de raízes foram realizadas em triplicata e os resultados foram apresentados como g/planta.

4.5.3 Determinação de biomassa seca

A biomassa seca foi determinada através de pesagem individual (em balança analítica) da parte aérea e raízes de plantas aclimatizadas. Para tanto, em sacos de papel devidamente identificados, foram colocados a parte aérea e raízes e levados a estufa a 70 °C por um período de 72 horas, até obtenção de peso constante, a fim de se determinar a quantidade de água presente e a relação entre peso fresco e peso seco. Cada determinação foi realizada em triplicata e os resultados são apresentados em porcentagem (%) de biomassa seca a partir da equação 1.

(1)

$$\left(\frac{P_s}{P_f} \right) \times 100$$

Onde: Ps = Peso seco; Pf = peso fresco.

4.6 Análise Estatística

Os dados experimentais foram analisados estatisticamente usando o programa IBM SPSS Statistics, versão 27.0.1, para Windows. Para isso, os resultados foram submetidos a um teste de homogeneidade de variância mediante a prova de Levene, depois de comprovar a normalidade com a prova de Shapiro-Wilk. Foi realizada análise de variância (ANOVA) com os dados e com o teste F sendo significativo, procedeu-se uma análise de comparação de médias pelo teste Tukey a 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação do desenvolvimento de plântulas de *Ananas erectifolius in vitro* em diferentes meios

5.1.1 Efeito de diferentes reguladores de crescimento sobre o desenvolvimento de plântulas de curauá (cultivo *in vitro*)

Os resultados observados quanto à influência dos reguladores no número de folhas de curauá durante o processo de crescimento *in vitro*, mostraram que a combinação do 6-Benzilaminopurina e do Ácido indolilacético foi capaz de promover o aumento do número folhas, entre 7,5 e 9,3 unidades (un), enquanto os tratamentos com Benzimialopurina e Ácido naftaleno acético variaram entre 7,5 e 8,9 (un) (Tabela 8). Tais dados evidenciam a eficácia específica da BAP e AIA na promoção do desenvolvimento foliar do curauá *in vitro*.

Os melhores resultados foram obtidos em plantas cultivadas no T3 (MS + 1,5 mg/L⁻¹ BAP + 0,19 mg/L⁻¹ AIA), que obteve a melhor média com 9,30 unidades de folhas. Em segundo lugar, o tratamento T6 (MS + 2,0 mg/L⁻¹ BAP + 0,50 mg/L⁻¹ ANA) também apresentou um desempenho notável, com uma média estatisticamente semelhante de 8,90 unidades de folhas (conforme representado na Figura 7 e na Tabela 8).

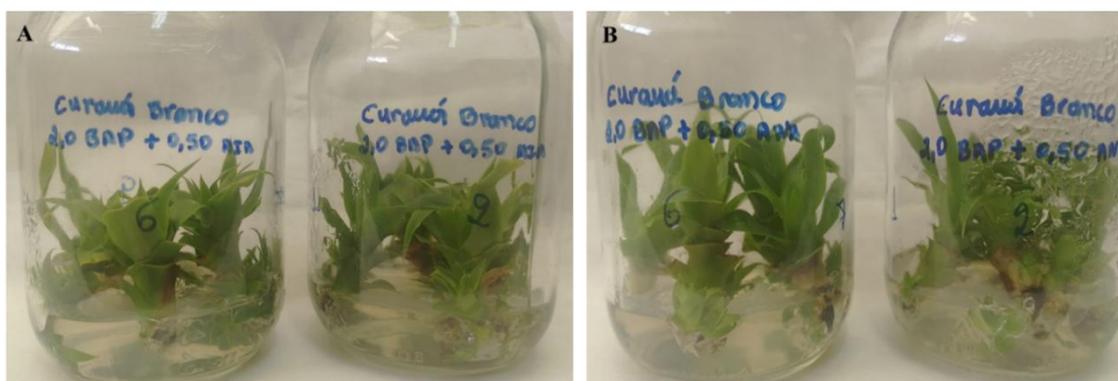


Figura 9. Crescimento *in vitro* de curauá. A: T3 (MS + 1,5 mg/L⁻¹ BAP + 0,19 mg/L⁻¹ AIA) e B: T6 (MS+2,0 mg/L BAP + 0,50 mg/L ANA).

Tabela 8. Efeito de diferentes reguladores de crescimento sob o número de folhas de curauá *in vitro*.

TRATAMENTOS	----- N° FOLHAS (un) -----					
	0 dia		30 dias		60 dias	
Controle MS	5,1	aC	7,0	bB	7,9	BcA
T1 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ AIA)	5,3	aC	7,5	abB	8,5	AbcA
T2 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ AIA)	4,7	aC	7,5	abB	8,8	AbA
T3 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ AIA)	4,8	aC	7,9	aB	9,3	Aa
T4 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ ANA)	4,8	aC	7,5	abA	7,7	Ca
T5 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ ANA)	4,9	aC	7,7	abB	8,7	abA
T6 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ ANA)	4,7	aC	7,7	abB	8,9	Aa
Média*	4,9	C	7,5	B	8,5	A

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

Quanto ao efeito de diferentes reguladores de crescimento na promoção de brotações de curauá *in vitro*, foram observados resultados significativos (Tabela 9). Aos 30 dias de incubação, o tratamento mais eficaz foi o T6 (MS + 1,5 mg/L⁻¹ BAP + 0,19 mg/L⁻¹ ANA), apresentando o maior número de brotos, com uma média de 3,00 unidades por plântula, seguido pelo tratamento T1 (MS + 2,0 mg/L⁻¹ BAP + 0,50 mg/L⁻¹ AIA) com 2,4 unidades.

Ao alcançar os 60 dias, o tratamento T6 continuou se destacando, registrando a maior produção individual de brotos, atingindo 5,8 unidades por plântula, conforme ilustrado na Figura 8. No entanto, os reguladores de crescimento BAP + AIA demonstraram alta eficiência na promoção de brotações ao longo do período de cultivo.

As produções variaram entre 3,7 e 4,6 unidades, indicando uma consistente capacidade desses reguladores em estimular o desenvolvimento de brotos de curauá.

Tabela 9. Efeito de diferentes reguladores de crescimento sob o número brotos de curauá *in vitro*.

TRATAMENTOS	----- N° BROTOS (un) -----					
	0 dia		30 dias		60 dias	
Controle MS	0		0	C	0	C
T1 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ AIA)	0		2,4	abA	4,1	abA
T2 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ AIA)	0		1,8	abB	4,6	abA
T3 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ AIA)	0		2,0	abB	3,7	abA
T4 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ ANA)	0		1,1	bcAB	1,7	bcA
T5 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ ANA)	0		1,7	abcA	2,4	bcA
T6 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ ANA)	0		3,0	aB	5,8	aA
Média*	0	C	1,7	B	3,2	A

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

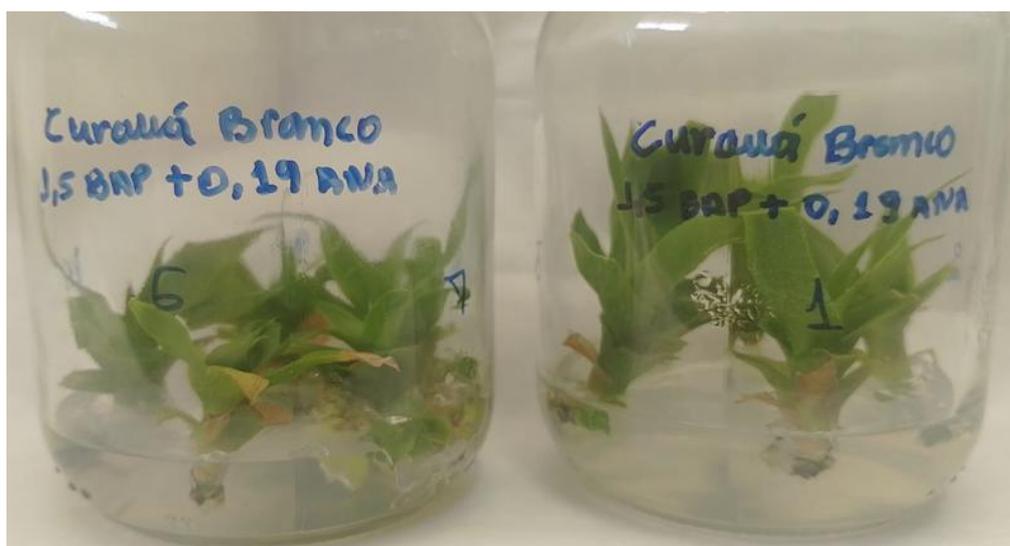


Figura 10. Brotações de curauá *in vitro*, tratamento T6 (MS + 1,5 mg/L⁻¹ BAP + 0,19 mg/L⁻¹ ANA).

Com relação à análise do número de raízes, foi observado o crescimento exclusivamente aos 60 dias de incubação (Tabela 10). O tratamento T1 (MS + 2,0 mg/L⁻¹ BAP + 0,50 mg/L⁻¹ AIA), que consiste na dosagem mais alta de BAP e AIA entre os tratamentos com esses dois hormônios, foi o único a apresentar produção de raízes, alcançando um número de 0,4 unidades por plântula. Este tratamento se destacou ao ser

o único a demonstrar o desenvolvimento de raízes quando comparado com as dosagens variadas de BAP + AIA.

Por outro lado, nas dosagens de BAP + ANA, dois tratamentos (T4 e T5) mostraram crescimento de raízes, alcançando, respectivamente, 0,1 unidades por plântula. Esses resultados indicam que diferentes combinações de hormônios influenciaram o desenvolvimento de raízes, sendo que o tratamento T1 se destacou como o mais eficaz na promoção desse aspecto específico do crescimento vegetal.

Em resumo, os achados sugerem a importância da seleção cuidadosa das dosagens e combinações de BAP, AIA e ANA para otimizar o crescimento de raízes, ressaltando a eficácia do tratamento T1 na promoção desse aspecto em particular. Essas informações são cruciais para o desenvolvimento de estratégias de cultivo mais eficientes e específicas para a cultura em questão.

Tabela 10. Efeito de diferentes reguladores de crescimento sob o número raízes de curauá *in vitro*.

TRATAMENTOS	Nº RAÍZES (un)			
	0 dia	30 dias	60 dias	
Controle MS	0	0	0	B
T1 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ AIA)	0	0	0,4	Aa
T2 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ AIA)	0	0	0	B
T3 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ AIA)	0	0	0	B
T4 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ ANA)	0	0	0,1	abA
T5 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ ANA)	0	0	0,1	abA
T6 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ ANA)	0	0	0	B
Média*	0	0	0,1	A

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

A produção de raízes foi um parâmetro que não desenvolveu tanto nos testes com os reguladores, apesar de ser uma das características que estes reguladores apresentam em sua ação a produção de raízes, sendo assim, apenas uma dosagem de BAP + AIA foi capaz de produzir raízes, já nos tratamentos com BAP+ANA duas dosagens influenciaram a produção de algumas raízes.

O crescimento da parte aérea das plântulas, apresentado na Tabela 11, revela que aos 60 dias de incubação houve uma semelhança estatística entre todos os tratamentos. No entanto, se destaca o tratamento T6 (MS + 1,5 mg/L⁻¹ BAP + 0,19 mg/L⁻¹ ANA) que

obteve a maior média de crescimento da parte aérea, 4,2 centímetros (cm). Isso indica que, embora haja semelhança estatística entre os tratamentos, a combinação específica de BAP e ANA (T6) demonstrou uma leve, porém maior eficácia na promoção do crescimento da parte aérea das plantas de curauá. Esses resultados são relevantes para o desenvolvimento de protocolos de cultivo mais diligentes, principalmente na produção de plantas de curauá com características desejadas na parte aérea.

Tabela 11. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na altura de plantas de curauá *in vitro*.

TRATAMENTOS	----- ALTURA (cm) -----					
	0 dia		30 dias		60 dias	
Controle MS	1,6	bC	2,3	cB	2,7	bA
T1 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ AIA)	1,7	abB	3,4	abA	4,0	aA
T2 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ AIA)	1,8	aC	3,0	abB	3,6	aA
T3 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ AIA)	1,6	bC	3,0	abB	4,0	aA
T4 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ ANA)	1,8	abC	3,4	aB	4,0	aA
T5 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ ANA)	1,6	abC	2,8	bcB	3,6	aA
T6 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ ANA)	1,7	abC	3,4	aB	4,2	aA
Média*	1,7	C	3,1	B	3,8	A

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

É possível notar a evolução do crescimento das plântulas testadas de acordo com o tratamento e o período avaliado, e o tratamento que se destacou ao longo no período *in vitro* testado foi na maior dosagem de reguladores BAP e ANA, a junção destes dois reguladores se mostrou eficaz em diversos parâmetros avaliados.

Quanto à largura das folhas, aos 30 dias destacam-se os tratamentos T3 (MS + 1,5 mg/L⁻¹ BAP + 0,19 mg/L⁻¹ AIA) e T5 (MS + 2,0 mg/L⁻¹ BAP + 0,25 mg/L⁻¹ ANA) com médias de 0,8 e 0,8 centímetros, respectivamente. Já os demais tratamentos alcançaram larguras ente 0,7 e 0,7 cm.

Ao atingir os 60 dias, três tratamentos (T3, T5 e T6) apresentaram semelhança estatística, todos com larguras superiores a 0,9 cm. Esses resultados indicam a influência positiva desses tratamentos específicos na largura das folhas ao longo do período de cultivo, demonstrando um crescimento notável e estatisticamente significativo em comparação com os demais tratamentos (Tabela 12).

Tabela 12. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na largura das folhas de curauá *in vitro*.

TRATAMENTOS	----- LARGURA DA FOLHA (cm) -----					
	0 dia		30 dias		60 dias	
Controle MS	0,5	bC	0,6	bB	0,7	bA
T1 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ AIA)	0,6	abB	0,7	abAB	0,8	abA
T2 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ AIA)	0,6	abB	0,7	abAB	0,8	abA
T3 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ AIA)	0,7	aC	0,8	aB	0,9	aA
T4 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,50 mg/L ⁻¹ ANA)	0,6	abC	0,7	abB	0,8	abA
T5 (MS + 2,0 mg/L ⁻¹ BAP + 0,25 mg/L ⁻¹ ANA)	0,6	aB	0,8	aB	0,9	aA
T6 (MS + 1,5 mg/L ⁻¹ BAP + 0,19 mg/L ⁻¹ ANA)	0,6	aC	0,7	abB	0,9	aA
Média*	0,6	B	0,7	B	0,9	A

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

A largura das folhas foi influenciada nas dosagens mais baixas de reguladores testados, sendo que o regulador ANA, foi o proporcionou um diâmetro maior comparado ao controle e ao regulador AIA, é possível notar esta diferença através do gráfico abaixo.

O objetivo da micropropagação *in vitro*, é produzir em larga escala em curto período. Os reguladores de crescimento são extremamente necessários para que isso ocorra, uma vez que, aceleram o processo de multiplicação dos brotos laterais.

De acordo com Pedroso *et al.*, (2016), os fitorreguladores influenciam o crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo promover, inibir, ou modificar os processos fisiológicos e assim, controlar as atividades dos meristemas. E durante os anos, os fitohormônios 6-Benzimidazopurina (BAP), Ácido indolilacético (AIA) e Ácido naftaleno acético (ANA), tendo sido extensivamente empregados no cultivo *in vitro* de diversas culturas, sendo considerados essenciais na micropropagação do abacaxizeiro (Santos, 2023). Esses fitohormônios têm se destacado como reguladores de crescimento fundamentais para influenciar positivamente o desenvolvimento de plantas *in vitro* e sua eficácia é respaldada pela presença frequente na literatura especializada.

Em suma, quando se trabalha com reguladores de crescimento é necessário testar concentrações diferentes, uma vez que, certa dosagem pode favorecer um aspecto, e inibir outro, ou seja, a adição do 6-Benzilaminopurina + ácido naftalenoacético foi positivo para as brotações, porém inibiu o crescimento das raízes e o alongamento.

Diversos estudos demonstram a ação de reguladores de crescimento fornecem *insights* valiosos sobre a influência destes em diferentes cultivares. Alves *et al.*, (2014) relataram que a adição de 1,0 mg/L⁻¹ de BAP promoveu a formação de um maior número de folhas, com 14,8 folhas promovendo a formação de um maior número de folhas de

Ananas comosus var. *bracteatus*. E Santos *et al.*, (2015) ao analisarem cinco explantes por frasco de subcultivo obtido de uma gema axilar de *Ananas comosus* var. *erectifolius*, cultivados em meio MS + 2,22 μ M de BAP + 0,54 μ M de ANA, alcançaram uma média de 6,5 ou 82,654 de mudas, em um período de 40 dias.

Para Grohs *et al.* (2008), as auxinas, como o ácido indolilacético (AIA), desempenham um papel crucial na indução de raízes, e isso foi observado nos resultados obtidos. Sendo ainda interessante notar que a capacidade dos tecidos vegetais em metabolizar mais rapidamente os hormônios naturais, como o AIA presente na própria planta (Controle MS), em comparação com os reguladores de crescimento artificiais, pode ter contribuído para os resultados obtidos. Com isso, tanto a ação do AIA natural quanto do AIA sintético podem ter exercido um papel importante na promoção do enraizamento das plantas.

Além disso, Maravilha *et al.*, (2023) destacaram a importância da presença de auxina no meio de cultura para influenciar diretamente o processo de formação de raízes laterais e adventícias. Sendo destacado por Gato *et al.*, (2018), que o melhor resultado alcançado em plântulas cultivadas foi com a adição em meio MS de 1,0 mg/L⁻¹ BAP + 0,12 mg/L⁻¹ AIA. Por outro lado, Alves *et al.*, (2014) obtiveram sucesso utilizando uma concentração superior de 3,0 mg/L⁻¹ de BAP na produção de raízes em *Ananas comosus* var. *bracteatus*.

Gato *et al.*, (2019) alcançaram bons resultados através da combinação utilizando dois reguladores BAP + ANA (MS acrescido de 1,0 mg/L⁻¹ BAP + 0,12 mg/L⁻¹ ANA (T7)) em testes tanto no processo de introdução *in vitro* de *Ananas erectifolius*, quanto na fase de multiplicação dos explantes já estabelecidos, conseguindo uma produção de plântulas com altura média de 3,3 cm.

Esses estudos ressaltam a complexidade e a importância da seleção criteriosa de reguladores de crescimento para atingir metas específicas no desenvolvimento de plantas *in vitro* em termos de altura, número de folhas, número de raízes, brotações e largura das folhas, contribuindo para a expansão do conhecimento e otimização de protocolos de cultivo em diferentes contextos e espécies vegetais.

Assim, os resultados obtidos neste estudo sobre os efeitos dos reguladores de crescimento em curauá (*in vitro*) reforçam a importância da escolha adequada dos reguladores de crescimento na otimização do desenvolvimento de cultivares. As combinações BAP + AIA e BAP + ANA mostraram efeitos significantes em diversos

aspectos do crescimento das plantas de curauá *in vitro*, especialmente a composição de BAP + ANA que apresentou as maiores médias individuais na maior parte das avaliações realizadas, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento global das plântulas de curauá, resultando em uma produção de massa mais robusta e equilibrada.

5.1.2 Efeito das rizobactérias no desenvolvimento do *Ananas erectifolius* (cultivo *in vitro*)

Inicialmente, as 29 rizobactérias foram avaliadas quanto a capacidade de produzir o hormônio vegetal Ácido Indolacético em meio de cultivo YM sem suplementação com o precursor L-triptofano (Tabela 13). Os isolados produziram quantidades que variaram de 25,44 a 1.522,11 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, sendo que o INPA R296 e o INPA R825 apresentaram os maiores e menores níveis, respectivamente.

Esses resultados destacam a diversidade na capacidade de produção de Ácido Indolacético entre as rizobactérias testadas. Essa capacidade pode ter implicações significativas no crescimento e desenvolvimento das plantas hospedeiras, incluindo a promoção do crescimento radicular, o aumento da resistência a estresses ambientais e a melhoria da eficiência na absorção de nutrientes.

Tabela 13. Produção de ácido indolacético ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) por isolados de rizobactérias em meio YM.

CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO INDOLILACÉTICO ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)		
CÓDIGO DAS RIZOBACTÉRIAS	GÊNERO	7 dias
INPA R001		88,7 i
INPA R010		23,2 o
INPA R028		62,1 l
INPA R055	<i>Bacillus</i> sp. X30	96,5 i
INPA R070	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	47,6 m
INPA R152	<i>Paenibacillus</i> sp.	73,2 j
INPA R276		177,6 f
INPA R285	<i>Bacillus</i> sp.	218,7 f
INPA R287		51,0 m
INPA R296	<i>Bacillus subtilis</i>	25,4 o
INPA R579	<i>Bacillus</i> sp.	31,0 n
INPA R622		214,3 f
INPA R629	<i>Bacillus</i> sp.	131,0 g
INPA R633	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	56,5 l
INPA R634		261,0 f
INPA R666		115,4 g
INPA R672		461,0 e
INPA R676	<i>Bacillus</i> sp.	56,5 l
INPA R677	<i>Burkholderia</i> sp.	674,3 d
INPA R822	<i>Burkholderia contaminans</i>	755,4 c
INPA R825	<i>Burkholderia</i> sp.	1522,1 a

INPA R843	<i>Bacillus</i> sp.	1179,8	b
INPA R922	<i>Rhizobium</i> sp.	1158,7	b
INPA R937	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	413,2	e
INPA R983	<i>Burkholderia</i> sp.	92,1	i
INPA R999	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	73,2	k
INPA R1003		124,3	g
INPA R1009	<i>Bacillus</i> sp.	92,1	i
INPA R1065		84,3	J
Média*		288,3	

*Médias total dos tratamentos.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %.

Entre os gêneros bacterianos produtores de AIA estão: *Gluconacetobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Actinomyces*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Rhizobium*, entre outros (Fernandes *et al.*, 2023).

Diferentes estudos, avaliam a produção *in vitro* de AIA por bactérias relacionada à quantidade do precursor L-triptofano presente no meio de cultura (De Paula *et al.*, 2022; Vaz, 2013; Muniz, 2011; Galdiano Júnior, 2009; Chagas Júnior, 2007). No entanto, Halda-Alija (2003) observou a produção de AIA por isolados de rizobactérias mesmo na ausência de triptofano adicionado ao meio de cultura.

Esses resultados destacam a complexidade da regulação da produção de AIA pelas bactérias, sugerindo que outros fatores podem estar envolvidos no processo. O fato de as bactérias serem capazes de produzir AIA mesmo na ausência de triptofano adicionado ao meio de cultura indica a existência de vias metabólicas alternativas ou interações complexas com o ambiente que influenciaram essa produção.

Os resultados observados na Tabela 14, evidenciam que o número de folhas produzidas foi influenciado significativamente pelas rizobactérias presentes no meio de cultura, durante o período avaliado (0, 30 e 60 dias). A análise individual das rizobactérias revelou diferenças significativas em termos de número de folhas dentro de cada período avaliado. Em todos os dias avaliados algumas rizobactérias foram estatisticamente iguais, destacando-se sempre uma ou algumas em relação às demais.

Ao 0 dia de incubação, o maior número de folhas foi apresentado pelo tratamento T20 MS + INPA R1065 destacou-se estatisticamente com 6,3 unidades. Já aos 30 dias os tratamentos mais produtivos foram T12 MS + INPA R822, seguido do com controle com 9,5 e 9,3 unidades, respectivamente. Aos 60 dias os tratamentos mais produtivos foram T1 MS + INPA R633, T12 MS + INPA R822 e o controle com 10,3 unidades. Observou-

se ainda, que a menor produção aos 30 dias, ocorreu com T23 MS + INPA R922 (5,30 un.), enquanto aos 60 dias a menor produção foi associada ao tratamento T22 MS + INPA R 055 (2,3 un).

Embora alguns tratamentos tenham proporcionado os maiores números de folhas aos 60 dias de incubação, ao compararmos a média total de cada período avaliado, o período de 30 dias foi o que favoreceu uma maior produção do número de folhas (8,0 un.) em comparação aos demais dias. Isso sugere que o momento ideal para avaliar a produção de folhas pode variar de acordo com as características específicas das rizobactérias e do cultivo em questão.

Tabela 14. Número de folhas produzidas sob efeito das rizobactérias no desenvolvimento das plântulas de *Ananas erectifolius* (curauá), em 0, 30 e 60 dias.

TRATAMENTOS	Nº FOLHAS (un)					
	0 dia		30 dias		60 dias	
Controle MS0	4,8	bcC	9,3	aB	10,3	aA
T1 MS + INPA R 633	4,8	bcC	9,1	abB	10,3	aA
T2 MS + INPA R 677	5,4	abcC	8,2	abcdB	9,3	abcA
T3 MS + INPA R 1003	5,0	abcB	8,7	abcdA	9,9	bA
T4 MS + INPA R 622	4,4	cB	7,6	abcdA	8,3	abcdeA
T5 MS + INPA R 276	5,1	abcB	8,4	abcdA	5,6	cdefgAB
T6 MS + INPA R 666	5,3	abcAB	8,8	abcA	5,0	defgC
T7 MS + INPA R 296	5,3	abcAB	7,6	abcdA	3,8	fgB
T8 MS + INPA R 672	4,9	bcB	7,6	abcdA	8,2	abcdeA
T9 MS + INPA R 676	5,4	abcB	8,8	abcA	9,7	abcA
T10 MS + INPA R 634	4,7	bcB	7,5	abcdA	8,3	abcdeA
T11 MS + INPA R 579	4,9	bcB	8,1	abcdA	7,9	abcdefA
T12 MS + INPA R 822	5,3	abcB	9,5	aA	10,3	aA
T13 MS + INPA R 629	5,7	abcAB	6,8	cdeA	3,6	fB
T14 MS + INPA R 001	5,3	abcC	8,6	abcdB	9,6	abcA
T15 MS + INPA R 010	5,1	abcB	7,7	abcdB	8,8	abcdB
T16 MS + INPA R 070	4,9	bcAB	7,6	abcdA	4,4	efgB
T17 MS + INPA R 152	5,3	abcC	8,7	abcdB	9,9	bA
T18 MS + INPA R 843	5,1	abcB	8,1	abcdA	9,0	abcdA
T19 MS + INPA R 983	5,6	abcB	8,2	abcdA	8,9	abcdA
T20 MS + INPA R 1065	6,3	aB	8,5	abcdA	9,3	abcA
T21 MS + INPA R 1009	4,6	bcB	7,6	abcdA	8,3	abcdeA
T22 MS + INPA R 055	5,1	abcAB	6,7	deA	2,7	fC
T23 MS + INPA R 922	5,2	abcA	5,3	eA	6,0	bcdefgA
T24 MS + INPA R 937	5,8	abC	8,1	abcdB	9,9	bA
T25 MS + INPA R 287	4,8	bcC	8,7	abcdB	9,9	bA
T26 MS + INPA R 285	5,5	abcAB	7,5	abcdA	3,1	fB
T27 MS + INPA R 028	5,8	abB	8,5	abcdA	9,2	abcdA
T28 MS + INPA R 999	5,4	abcC	7,5	abcdB	8,3	abcdeA
T29 MS + INPA R 825	5,2	abcC	7,2	bcdB	9,1	abcdA
Médias*	5,2	C	8,0	A	7,9	B

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

Podemos ver a evolução ao longo dos testes que as rizobactérias proporcionaram um aumento significativo na produção do número de folhas, porém estatisticamente o controle obteve juntamente com outras rizobactérias a mesma média aos 60 após a introdução *in vitro*.

Na Tabela 15, os tratamentos não apresentaram diferença significativa estatisticamente, demonstrando desenvolvimento de brotos somente aos 30 dias de incubação. Entretanto, é importante notar que houve variação no número de brotos em diferentes tratamentos e períodos de avaliação.

Aos 30 dias, o tratamento que apresentou o maior número de brotos foi T1 MS + INPA R633, com 0,5 unidades. Já aos 60 dias, o tratamento mais produtivo foi T16 MS + INPA R 070, com 0,7 unidades.

Isso pode indicar que o desenvolvimento de brotos pode ser influenciado por fatores específicos, como a composição do meio de cultura e as características das rizobactérias utilizadas nos tratamentos. A variação no número de brotos ao longo do tempo também destaca a importância de avaliar o desempenho dos tratamentos em diferentes momentos do experimento para compreender melhor seu potencial de crescimento e desenvolvimento.

Tabela 15. Número de brotos produzidos sob efeito das rizobactérias no desenvolvimento das plântulas de *Ananas erectifolius* (curauá), em 0, 30 e 60 dias.

TRATAMENTOS	Nº BROTOS (un)					
	0 dia		30 dias		60 dias	
Controle MS0	0,0	0,0	aA	0,0	aA	
T1 MS + INPA R 633	0,0	0,5	aA	0,5	aA	
T2 MS + INPA R 677	0,0	0,3	aA	0,3	aA	
T3 MS + INPA R 1003	0,0	0,1	aA	0,1	aA	
T4 MS + INPA R 622	0,0	0,0	aA	0,1	aA	
T5 MS + INPA R 276	0,0	0,4	aA	0,4	aA	
T6 MS + INPA R 666	0,0	0,0	aA	0,1	aA	
T7 MS + INPA R 296	0,0	0,0	aA	0,0	aA	
T8 MS + INPA R 672	0,0	0,0	aA	0,0	aA	
T9 MS + INPA R 676	0,0	0,1	aA	0,1	aA	
T10 MS + INPA R 634	0,0	0,2	aA	0,2	aA	
T11 MS + INPA R 579	0,0	0,0	aA	0,0	aA	
T12 MS + INPA R 822	0,0	0,1	aA	0,1	aA	
T13 MS + INPA R 629	0,0	0,0	aA	0,0	aA	
T14 MS + INPA R 001	0,0	0,2	aA	0,2	aA	
T15 MS + INPA R 010	0,0	0,0	aA	0,0	aA	
T16 MS + INPA R 070	0,0	0,3	aA	0,7	aA	
T17 MS + INPA R 152	0,0	0,4	aA	0,4	aA	
T18 MS + INPA R 843	0,0	0,3	aA	0,3	Aa	
T19 MS + INPA R 983	0,0	0,4	aA	0,4	aA	
T20 MS + INPA R 1065	0,0	0,3	aA	0,3	aA	
T21 MS + INPA R 1009	0,0	0,1	aA	0,1	aA	

T22 MS + INPA R 055	0,0	0,0	aA	0,0	aA	
T23 MS + INPA R 922	0,0	0,1	aA	0,1	aA	
T24 MS + INPA R 937	0,0	0,1	aA	0,1	aA	
T25 MS + INPA R 287	0,0	0,4	aA	0,4	aA	
T26 MS + INPA R 285	0,0	0,0	aA	0,0	aA	
T27 MS + INPA R 028	0,0	0,0	aA	0,0	aA	
T28 MS + INPA R 999	0,0	0,1	aA	0,1	aA	
T29 MS + INPA R 825	0,0	0,2	aA	0,6	aA	
Médias*	0,0	C	0,1	B	0,1	A

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

Na cultura de tecido a produção de brotos é fundamental para a produção em larga escala, as rizobactérias foram capazes de produzir brotos mesmo que não tenham sido muito comparando com os reguladores de crescimento, já foi um ótimo resultado e através de testes futuros estes resultados sejam melhores, tendo em vistas que nunca havia sido realizado testes utilizando rizobactérias no desenvolvimento *in vitro* com o curauá.

Quanto ao número de raízes apresentados na Tabela 16, o tratamento que se destacou estatisticamente tanto aos 30 quanto aos 60 dias foi T24 MS + INPA R937, com 1,3 unidades e posteriormente com 1,7 unidades, respectivamente. É importante observar que, com exceção dos tratamentos T7 MS + INPA R296, T17 MS + INPA R152 e T26 MS + INPA R285, que não apresentaram desenvolvimento de raízes após 60 dias de incubação, todos os demais tratamentos com rizobactérias proporcionaram crescimento radicular. Os números variaram entre 0 e 1,3 unidades aos 30 dias e entre 0 e 1,7 unidades aos 60 dias de incubação.

Esses resultados destacam a eficácia geral dos tratamentos com rizobactérias em promover o desenvolvimento radicular, demonstrando a importância desses microrganismos no estímulo ao crescimento das raízes. A variação nos resultados ressalta a necessidade de considerar a diversidade de respostas das plantas aos diferentes tratamentos, o que pode estar relacionado com diversas variáveis, como genética das plantas, características do meio e demais condições experimentais.

Tabela 16. Número de raízes produzidas sob efeito das rizobactérias no desenvolvimento das plântulas de *Ananas erectifolius* (curauá), em 0, 30 e 60 dias.

TRATAMENTOS	Nº RAÍZES (un)					
	0 dia		30 dias		60 dias	
Controle MS0	0,0	0,0	bA	0,0	dA	
T1 MS + INPA R 633	0,0	0,3	abAB	1,0	abcdA	
T2 MS + INPA R 677	0,0	0,6	abAB	0,8	abcdA	
T3 MS + INPA R 1003	0,0	0,8	abAB	1,3	abcdA	
T4 MS + INPA R 622	0,0	0,7	abAB	1,4	abcA	
T5 MS + INPA R 276	0,0	0,0	bA	0,1	cdA	
T6 MS + INPA R 666	0,0	0,2	bA	0,2	cdA	
T7 MS + INPA R 296	0,0	0,0	bA	0,0	dA	
T8 MS + INPA R 672	0,0	0,5	abA	0,7	abcdA	
T9 MS + INPA R 676	0,0	0,2	bA	0,6	abcdA	
T10 MS + INPA R 634	0,0	0,4	abA	0,6	abcdA	
T11 MS + INPA R 579	0,0	0,4	abA	0,3	bcdA	
T12 MS + INPA R 822	0,0	0,8	abA	1,2	abcdA	
T13 MS + INPA R 629	0,0	0,0	bA	0,0	dA	
T14 MS + INPA R 001	0,0	0,6	abB	1,3	abcdA	
T15 MS + INPA R 010	0,0	0,1	bA	0,1	cdA	
T16 MS + INPA R 070	0,0	1,0	abA	1,4	abcA	
T17 MS + INPA R 152	0,0	0,1	bA	0,4	abcdA	
T18 MS + INPA R 843	0,0	0,1	bA	0,1	cdA	
T19 MS + INPA R 983	0,0	0,7	abA	0,9	abcdA	
T20 MS + INPA R 1065	0,0	0,2	bA	0,4	abcdA	
T21 MS + INPA R 1009	0,0	0,1	bA	0,1	cdA	
T22 MS + INPA R 055	0,0	0,0	bA	0,0	dA	
T23 MS + INPA R 922	0,0	0,1	bA	0,1	cdA	
T24 MS + INPA R 937	0,0	1,3	aA	1,7	aA	
T25 MS + INPA R 287	0,0	0,2	bA	0,3	bcdA	
T26 MS + INPA R 285	0,0	0,1	bB	0,7	abcdA	
T27 MS + INPA R 028	0,0	0,9	abAB	1,6	abA	
T28 MS + INPA R 999	0,0	0,3	abA	0,6	abcdA	
T29 MS + INPA R 825	0,0	0,4	abAB	0,9	abcdA	
Médias*	0,0	0,3	B	0,6	A	

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

As rizobactérias surpreenderam em relação ao enraizamento, principalmente comparando a produção de raízes através dos tratamentos com os reguladores. No próximo gráfico é possível visualizar que apenas três das 29 testadas além do controle não foram capazes de produzir raízes, sendo um resultado muito positivo, pois este parâmetro é essencial no desenvolvimento das plântulas *in vitro*.

Com relação à altura das plântulas, observa-se que aos 0 dias de incubação houve uma semelhança estatística entre todos os tratamentos, com variações de 1,5 a 1,8 centímetros (cm). Entretanto, aos 30 dias, destaca-se o tratamento T9 MS + INPA R676, que obteve a maior média de crescimento da parte aérea, atingindo 3,8 centímetros. Aos

60 dias, o tratamento T12 MS + INPA R070 se destacou com 5,3 cm de altura (Tabela 17).

Indicando com isso que, ao longo do período de incubação, houve um aumento significativo na altura das plântulas, com diferentes tratamentos se destacando em momentos específicos. Também sendo possível observar diminuição da altura em seis tratamentos, o que indica a perda ou morte de algumas repetições (plântulas) durante o período de avaliação.

Tabela 17. Efeito das rizobactérias na altura das plântulas de *Ananas erectifolius* (curauá) em 0, 30 das e 60 dias.

TRATAMENTOS	----- ALTURA (cm) -----					
	0 dia		30 dias		60 dias	
Controle MS0	1,6	Ac	3,2	abcdB	3,7	abcdeA
T1 MS + INPA R 633	1,7	Ac	3,6	abB	4,2	abcdA
T2 MS + INPA R 677	1,7	aC	3,0	abcdeB	4,0	abcdA
T3 MS + INPA R 1003	1,7	aC	3,0	abcdeB	4,7	abcA
T4 MS + INPA R 622	1,7	aC	3,3	abcdB	4,2	abcdA
T5 MS + INPA R 276	1,8	aA	3,2	abcdA	2,7	cdefghA
T6 MS + INPA R 666	1,8	aB	3,4	abcdA	2,2	defghAB
T7 MS + INPA R 296	1,7	aA	2,9	abcdeA	1,6	efghA
T8 MS + INPA R 672	1,7	aB	3,2	abcdA	3,7	abcdeA
T9 MS + INPA R 676	1,8	aB	3,8	aA	4,9	abcA
T10 MS + INPA R 634	1,7	aC	3,2	abcdB	4,2	abcdA
T11 MS + INPA R 579	1,6	aB	3,4	abcdA	4,1	abcdA
T12 MS + INPA R 822	1,7	aC	3,5	abcB	5,3	aA
T13 MS + INPA R 629	1,8	aA	1,7	fA	0,8	ghA
T14 MS + INPA R 001	1,6	aC	2,7	abcdefB	3,1	abcdefA
T15 MS + INPA R 010	1,6	aB	2,7	abcdefA	3,0	bcdefgA
T16 MS + INPA R 070	1,8	aB	2,7	abcdefA	3,0	bcdefgA
T17 MS + INPA R 152	1,7	aB	3,6	abcA	4,5	abcA
T18 MS + INPA R 843	1,5	aC	3,4	abcdB	5,1	abA
T19 MS + INPA R 983	1,7	aC	3,6	abB	4,7	abcA
T20 MS + INPA R 1065	1,6	aB	2,6	bcdefA	3,5	abcdeA
T21 MS + INPA R 1009	1,6	aB	3,2	abcdA	3,7	abcdeA
T22 MS + INPA R 055	1,7	aA	2,0	efA	0,7	hB
T23 MS + INPA R 922	1,8	aB	2,3	defAB	3,0	bcdefgA
T24 MS + INPA R 937	1,6	aC	2,5	cdefB	3,6	abcdeA
T25 MS + INPA R 287	1,7	aC	3,7	abB	4,7	abcA
T26 MS + INPA R 285	1,7	aAB	2,3	defA	1,0	fghB
T27 MS + INPA R 028	1,6	aC	3,7	abB	4,4	abcA
T28 MS + INPA R 999	1,6	aB	2,8	abcdefA	3,6	abcdeA
T29 MS + INPA R 825	1,7	aC	2,8	abcdefB	3,6	abcdeA
Médias*	1,7	C	3,0	B	3,5	A

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

As rizobactérias influenciaram positivamente o crescimento das plântulas *in vitro*, no próximo gráfico podemos observar este desenvolvimento no ciclo de 60 dias de

introdução, na qual atingiram uma média boa comparada ao controle e aos testes com os reguladores de crescimento.

Quanto à largura das folhas, observou-se variação estatística desde o início do período de incubação, destacando-se o tratamento T3 MS + INPA R1003, com 0,7 cm. Aos 30 dias, o mesmo tratamento manteve a maior média de largura de folhas, com 0,9 cm. Já aos 60 dias, nove tratamentos apresentaram semelhança estatística com o controle (0,8 cm), com as maiores larguras observadas nos tratamentos T1, T3, T4, T8, T9, T20, T21, T25 e T28, variando entre 0,8 e 0,9 cm de largura da folha (Tabela 18).

Os diferentes tratamentos puderam influenciar a largura das folhas ao longo do tempo de incubação. O destaque contínuo do tratamento T3 MS + INPA R1003 sugere sua eficácia em promover um aumento na largura das folhas, enquanto a similaridade estatística entre vários tratamentos aos 60 dias sugere uma possível adaptação das plantas às condições do experimento.

Tabela 18. Efeito das rizobactérias na largura das folhas nas plântulas de *Ananas erectifolius* (curauá) em 0, 30 dias e 60 dias.

TRATAMENTOS	----- LARGURA DA FOLHA (cm) -----					
	0 dia		30 dias		60 dias	
Controle MS0	0,6	abC	0,8	abcA	0,8	aA
T1 MS + INPA R 633	0,7	abC	0,8	abB	0,9	aA
T2 MS + INPA R 677	0,5	abB	0,7	abcA	0,8	abA
T3 MS + INPA R 1003	0,7	aB	0,9	aA	0,9	aA
T4 MS + INPA R 622	0,6	abC	0,7	abcB	0,8	aA
T5 MS + INPA R 276	0,6	abA	0,7	abcA	0,4	bcdeA
T6 MS + INPA R 666	0,6	abA	0,7	abcA	0,4	cdeA
T7 MS + INPA R 296	0,6	abA	0,7	abcA	0,4	deA
T8 MS + INPA R 672	0,6	abB	0,8	abcA	0,9	aA
T9 MS + INPA R 676	0,6	abB	0,7	abcAB	0,8	aA
T10 MS + INPA R 634	0,5	abB	0,6	bcB	0,8	abcA
T11 MS + INPA R 579	0,5	abA	0,7	abcA	0,7	abcdA
T12 MS + INPA R 822	0,5	abB	0,7	abcB	0,8	abB
T13 MS + INPA R 629	0,5	bAB	0,6	bcA	0,2	eB
T14 MS + INPA R 001	0,5	abC	0,7	abcB	0,8	abA
T15 MS + INPA R 010	0,5	abC	0,6	cB	0,8	abcA
T16 MS + INPA R 070	0,7	abB	0,8	abcAB	0,9	aA
T17 MS + INPA R 152	0,6	abB	0,7	abcAB	0,8	aA
T18 MS + INPA R 843	0,5	abC	0,7	abcB	0,8	abcA
T19 MS + INPA R 983	0,5	abB	0,7	abcB	0,8	abA
T20 MS + INPA R 1065	0,6	abB	0,7	abcA	0,8	abA
T21 MS + INPA R 1009	0,5	abC	0,7	abcB	0,8	aA
T22 MS + INPA R 055	0,5	abB	0,6	bcB	0,7	Abc
T23 MS + INPA R 922	0,5	abA	0,6	bcA	0,6	abcdeA
T24 MS + INPA R 937	0,6	abB	0,7	abcAB	0,8	aA
T25 MS + INPA R 287	0,5	abB	0,7	abcAB	0,8	abA
T26 MS + INPA R 285	0,6	abAB	0,7	abcA	0,3	eB
T27 MS + INPA R 028	0,5	abC	0,7	abcB	0,8	abA
T28 MS + INPA R 999	0,5	abB	0,6	abcAB	0,8	abcA
T29 MS + INPA R 825	0,5	abB	0,6	bcB	0,8	abcA
Médias*	0,6	C	0,7	B	0,7	A

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

O efeito das rizobactérias no desenvolvimento do curauá *in vitro* proporcionou plântulas com uma largura superior ao controle, evidenciando que estas podem melhorar a produção de biomassa desta espécie.

Embora essas rizobactérias demonstrem ter o potencial de produzir o ácido indolacético, que é o fitohormônio mais encontrado dentro do grupo das auxinas, o qual dentre as diversas funções em que atua no desenvolvimento de uma planta, se destaca pelo crescimento radicular, melhorando a absorção de nutrientes (Davies, 2004). Desse modo, verificar o efeito das rizobactérias em plântulas de curauá (*in vitro*), torna-se de extrema importância para conhecer as implicações no desenvolvimento desta espécie.

Essas bactérias podem desempenhar um papel fundamental, influenciando positivamente o desenvolvimento das plantas através de vários mecanismos, como a produção de hormônios vegetais, fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes e promoção do desenvolvimento radicular (Fernandes *et al.*, 2023), especialmente nos estágios iniciais de desenvolvimento e no processo de enraizamento (Broek *et al.*, 1999).

Pesquisas com diversos tipos de culturas vêm sendo desenvolvidas com potenciais bactérias promotoras de crescimento vegetal, investigando sua influência no desenvolvimento das plantas e seu possível uso comercial (Antunes *et al.*, 2022; Parrales *et al.*, 2022; Simões *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2018), esses estudos ressaltam a importância das interações entre as plantas e as bactérias presentes na rizosfera, destacando o interesse crescente na utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal como uma estratégia sustentável para aumentar a produtividade agrícola. Ao compreender melhor os mecanismos de ação dessas bactérias e sua interação com as plantas

Vaz (2013), observou-se que isolados de rizóbios influenciaram no crescimento de raízes secundárias de plântulas de pepino. E Solano *et al.* (2008) destacaram que alterações na densidade e no comprimento dos pelos radiculares resultam em um aumento na superfície do sistema radicular, o que permitiu uma melhor exploração dos nutrientes e da água do solo.

Ao observamos as Tabela 13 e a comparamos com as Tabelas 14 a 18, observamos que embora algumas rizobactérias tenham apresentado elevada produção de AIA, estas não necessariamente apresentaram os maiores efeitos sobre o desenvolvimento

das plântulas de curauá. Isso pode indicar que as características genéticas das plantas e bactérias não favorecem a associação planta-bactéria ou que houve uma concentração inadequada do hormônio durante o período avaliado. Em estudos realizados Remans *et al.* (2008) e Marchioro (2005), observaram que em concentrações muito altas, a auxina inibe o alongamento celular e, conseqüentemente, afeta o crescimento da planta.

Sabendo que o curauá enfrenta desafios no processo *in vitro*, pois mesmo em meios com adição de reguladores de crescimento, enfrenta dificuldades para produzir uma quantidade suficiente de raízes para uma correta absorção de nutrientes, o que prolonga o tempo necessário deste em casa de vegetação. Nos testes com a introdução de rizobactérias no meio de cultura, foi observada uma diferença significativa na produção de raízes em comparação ao controle e em relação aos testes com várias dosagens diferentes de reguladores. Além de uma maior concentração de raízes, os tratamentos com rizobactérias produziram raízes mais longas (Figura 9).

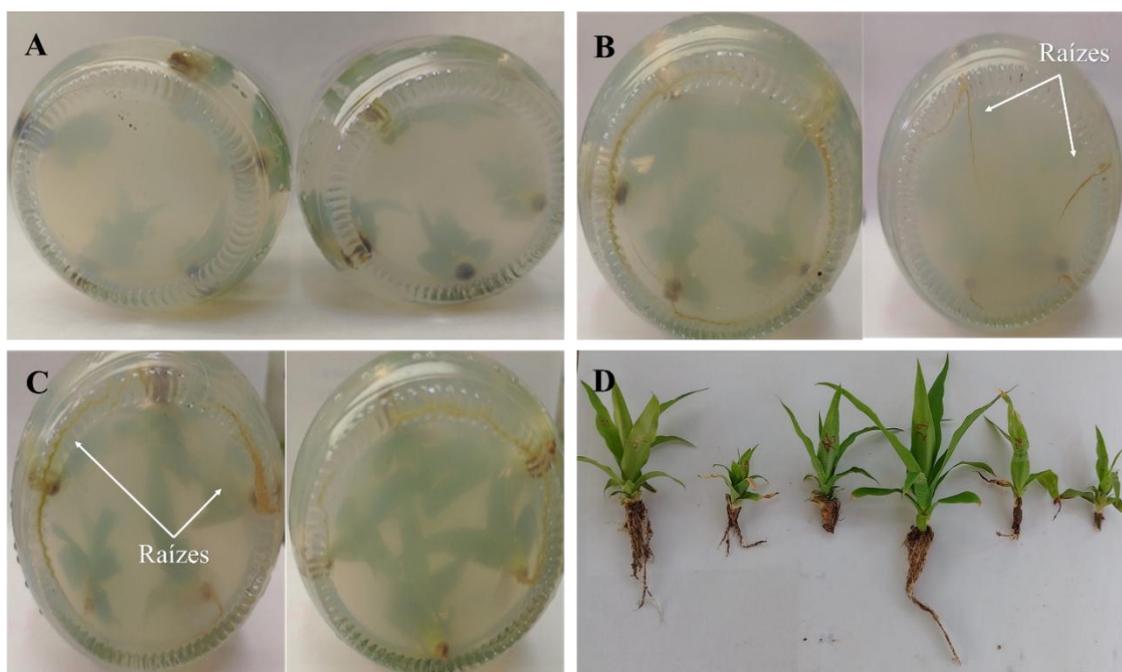


Figura 11. Desenvolvimento das plântulas de curauá, aos 30 e 60 dias. (A) Controle sem inoculação, (B) T2 MS + INPA R 677, (C) T24 MS + INPA R 937 e (D) Plântulas de diferentes tratamentos.

Fonte: Autora.

Esses resultados sugerem que a aplicação de rizobactérias pode ser uma estratégia eficaz para promover o desenvolvimento do curauá no processo *in vitro*. A capacidade das rizobactérias de estimular o crescimento radicular pode ajudar a superar

as limitações enfrentadas pela planta na absorção de nutrientes e, conseqüentemente, acelerar seu crescimento e desenvolvimento. Desse modo, foram selecionados 11 tratamentos com bactérias para realização de teste em casa de vegetação, são eles: T4 INPA R1065, T5 (INPA R287), T6 (INPA R579), T7 (INPA R633), T8 (INPA R1003), T10 (INPA R028), T11 (INPA R070), T12 (INPA R999), T13 (INPA R937), T15 (INPA R152) e T18 (INPA R822).

5.2 Avaliação do efeito das rizobactérias e reguladores no desenvolvimento do *Ananas erectifolius* em casa de vegetação

Os testes em casa de vegetação são de extrema importância para a experimentação e conseqüentemente na construção de resultados, informação e conhecimento. Pois permitem o controle de variáveis ambientais como temperatura, umidade e luz, proporcionando um ambiente controlado para o crescimento das plantas. Além disso, as casas de vegetação oferecem proteção contra os fatores externos, como chuva, vento e pragas, garantindo condições ideais para o desenvolvimento das plantas e a condução adequada dos experimentos (Figura 10).



Figura 12. Teste em casa de vegetação (aclimatização).

No que diz respeito ao desenvolvimento foliar (Tabela 19), o tratamento mais eficaz aos 30 dias de aclimatização, em termos de número de folhas foi o T4 - Solo esterilizado + INPA R1065, com uma média de 12,0 unidades, superando tanto os controles (T1 = 5,6 un e T2 = 10,0 un), quanto o regulador de crescimento (8,0 un). Aos 60 dias, as médias de folhas oscilaram entre 8,3 e 15,6 unidades, sendo que o T4 se manteve com o maior valor (15,6 un).

Tabela 19. Número de folhas em plantas de *Ananas erectifolius* (curauá) crescidas em casa de vegetação, com 30 dias e 60 dias.

TRATAMENTOS	Nº FOLHAS (un)			
	30 dias		60 dias	
T1 - Controle (SNESI) ¹	5,6	gB	8,3	Fa
T2 - Controle (SESI) ²	10,0	bA	9,6	CdB
T3 - SE ³ + Regulador (2,0 BAP+0,25ANA)	8,0	deB	9,0	Ea
T4 - SE + INPA R1065	10,0	bB	11,6	Ba
T5 - SE + INPA R287	9,3	cA	9,3	Da
T6 - SE + INPA R579	7,3	efB	9,6	CdA
T7 - SE + INPA R633	7,6	eB	9,0	Ea
T8 - SE + INPA R1003	7,6	eB	10,6	BcA
T10 - SE + INPA R028	8,0	deB	10,0	Ca
T11 - SE + INPA R070	12,0	aB	15,6	Aa
T12 - SE + INPA R999	8,0	deB	9,3	dA
T13 - SE + INPA R937	8,0	deA	8,6	efA
T15 - SE + INPA R152	8,6	dB	9,3	Da
T18 - SE + INPA R822	7,0	fB	11,3	Ba
Média	8,3	B	10,1	A

¹ SNESI: Solo não esterilizado sem inoculação;

² SESI: Solo esterilizado sem inoculação;

³ SE: Solo esterilizado.

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

Nos testes em casa de vegetação as rizobactérias se mostraram eficiente no desenvolvimento das mudas de curauá, e um dos isolados alcançou uma diferença significativa em relação ao controle e aos demais isolados, como podemos ver no gráfico abaixo, que mostra a evolução da produção do número de folhas durante a segunda avaliação.

Na Tabela 20 é possível verificar o número de raízes produzidas após 60 dias de aclimatização, o tratamento T4 - Solo esterilizado + INPA R1065 obteve a melhor média em

relação a produção de raízes, com 5,9 unidades, seguido por T18 - SE + INPA R822 com 5,3 (un). Os demais tratamentos atingiram medias entre 0,7 e 4,2 unidades.

Tabela 20. Número de raízes em plantas de *Ananas erectifolius* (curauá) crescidas em casa de vegetação, com 60 dias.

TRATAMENTOS	----- N° RAIZES (un) -----	
	60 dias	
T1 Controle (SNESI) ¹	1,7	g
T2 Controle (SESI) ²	1,4	g
T3 - SE ³ + Regulador (2,0 BAP+0,25ANA)	0,7	k
T4 - SE + INPA R1065	5,9	a
T5 - SE + INPA R287	2,4	f
T6 - SE + INPA R579	2,4	f
T7 - SE + INPA R633	4,2	c
T8 - SE + INPA R1003	2,7	e
T10 - SE + INPA R028	0,9	j
T11 - SE + INPA R070	1,9	f
T12 - SE + INPA R999	3,9	c
T13 - SE + INPA R937	0,9	j
T15 - SE + INPA R152	3,1	d
T18 - SE + INPA R822	5,3	b
Média	2,7	

¹ SNESI: Solo não esterilizado sem inoculação;

² SESI: Solo esterilizado sem inoculação;

³ SE: Solo esterilizado.

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

Assim, é possível visualizar que as rizobactérias potencializaram o crescimento das raízes, principalmente comparada ao controle. Este foi um resultado positivo, tendo em vista que o curauá apresenta dificuldades de enraizamento, o que acaba afetando a fase de aclimatização, pois as raízes são essenciais para as mudas possam se desenvolver de maneira mais rápida e eficiente.

Com relação à altura das plantas de curauá em casa de vegetação após 30 dias, o T4 - SE + INPA R1065, apresentou crescimento de 7,0 centímetros, enquanto os demais tratamentos variaram entre 3,2 e 5,9 cm. Aos 60 dias de aclimatização, o tratamento T4 - SE + INPA R1065 continuou promovendo o melhor alongamento da planta (13,7 cm), Tabela 21.



Figura 13. Muda do *Ananas erectifolius* (Curauá) em casa de vegetação

Tabela 21. Altura das plantas de *Ananas erectifolius* (curauá) crescidas em casa de vegetação, com 30 dias e 60 dias.

TRATAMENTOS	----- ALTURA (cm) -----			
	30 dias		60 dias	
T1 - Controle (SNESI) ¹	4,7	cB	7,0	EfA
T2 - Controle (SESI) ²	4,2	cdB	6,9	Ga
T3 - SE ³ + Regulador (2,0 BAP+0,25ANA)	3,7	dB	4,8	há
T4 - SE + INPA R1065	7,0	aB	13,7	aA
T5 - SE + INPA R287	5,9	bB	10,1	bA
T6 - SE + INPA R579	5,2	bcB	8,1	deA
T7 - SE + INPA R633	4,7	cB	9,5	cA
T8 - SE + INPA R1003	3,2	dB	7,4	eA
T10 - SE + INPA R028	4,5	cB	6,6	fA
T11 - SE + INPA R070	4,2	cdB	8,8	dA
T12 - SE + INPA R999	5,7	bB	9,2	cdA
T13 - SE + INPA R937	4,5	cB	6,6	fA
T15 - SE + INPA R152	5,9	bB	10,3	bA
T18 - SE + INPA R822	5,4	bcB	10,3	bA
Média	4,9	B	8,5	A

¹ SNESI: Solo não esterilizado sem inoculação;

² SESI: Solo esterilizado sem inoculação;

³ SE: Solo esterilizado.

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

As mudas de curauá cresceram aos 60 dias de experimento, o isolado 1065 foi capaz de favorecer quase o dobro da altura do controle, mostrando a eficácia da utilização das rizobactérias no desenvolvimento das mudas em casa de vegetação.

Na largura das folhas (Tabela 22), observou-se que aos 30 dias de aclimatização, o tratamento T4 - SE + INPA R1065 com uma média de 1,1 centímetros, alcançando valores superiores aos controles T1 e T2 e ao tratamento com regulador de crescimento (T3), que atingiram valores de 0,5 a 0,8 cm. Aos 60 dias, o T4 continuou com as maiores médias de largura de folha (1,5 cm), seguido pelo T7 - SE + INPA R633 e T12 - SE + INPA R999, ambos com 1,3 cm e, o T3 - SE³ + Regulador (2,0 BAP+0,25ANA), com 1,3 centímetros.

Tabela 22. Largura das folhas de *Ananas erectifolius* (curauá) crescidas em casa de vegetação, com 30 dias e 60 dias.

TRATAMENTOS	----- LARGURA DA FOLHA (cm) -----			
	30 dias		60 dias	
T1 - Controle (SNESI) ¹	0,70	dB	0,87	cA
T2 - Controle (SESI) ²	0,57	eB	0,83	cA
T3 - SE ³ + Regulador (2,0 BAP+0,25ANA)	0,83	cB	1,30	bA
T4 - SE + INPA R1065	1,15	aB	1,53	aA
T5 - SE + INPA R287	0,83	cA	0,63	dB
T6 - SE + INPA R579	0,97	bA	0,80	cdB
T7 - SE + INPA R633	0,73	dB	1,37	bA
T8 - SE + INPA R1003	0,73	dA	0,67	dB
T10 - SE + INPA R028	0,73	dA	0,73	dA
T11 - SE + INPA R070	0,53	eA	0,40	eB
T12 - SE + INPA R999	1,00	bB	1,37	bA
T13 - SE + INPA R937	0,73	dB	1,03	bcA
T15 - SE + INPA R152	0,87	cB	1,13	bcA
T18 - SE + INPA R822	0,83	cB	1,07	bcA
Média	0,80	B	0,98	A

¹ SNESI: Solo não esterilizado sem inoculação;

² SESI: Solo esterilizado sem inoculação,

³ SE: Solo esterilizado.

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

Em suma é possível visualizar que o diâmetro das mudas que aclimatizadas com as rizobactérias propiciaram um melhor desenvolvimento do curauá em casa de vegetação. O interessante é que o isolado 1065 foi o melhor em todos os parâmetros, com exceção do número de folhas, sendo que esta rizobactéria não apresentou um bom resultado *in vitro*.

Nos testes em casa de vegetação (aclimatização) embora não tenha ocorrido produção de brotos em nenhum dos tratamentos, os resultados destacam uma diferença significativa no desenvolvimento das diferentes partes das plantas de curauá branco entre os tratamentos. Demonstrando que esterilização do solo teve um impacto positivo no desenvolvimento delas quando comparadas ao controle (T1) com solo não esterilizado, bem como a associação entre essas plantas de curauá e as rizobactérias de diferentes gêneros.

Essa associação favoreceu o desenvolvimento de folhas, raízes, altura e largura de folhas, sendo sobretudo o processo de enraizamento primordial na fase de aclimatização, pois uma muda bem enraizada diminui o tempo nesta fase.

A aptidão na associação entre plantas e bactérias também é demonstrada em pesquisas como a de Gonçalves (2017), que ao realizar tratamento com fibra de coco adicionada de rizobactérias, onde apresentou uma elevação significativa na variável número de folhas, com média de 18,83 cm, aos 120 dias após a aclimatização de mudas de *Ananas comosus* 'BRS IMPERIAL'. E o Gonçalves (2016), após 60 dias de aclimatização, com cultivo das plantas em fibra de coco + turfa na presença de rizobactérias, obteve plantas com altura 18,20 cm de média nos testes com *Ananas comosus* 'BRS IMPERIAL'.

Luciano *et al.*, (2023), também obtiveram ótimos resultados utilizando isolados de *Bacillus* e *Trichoderma* como promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*, atingindo uma média de 18 cm de altura, aos 90 dias de aclimatização. Marchioro (2020), também conseguiu bons resultados utilizando *Bacillus* sp. em mudas de milho, no qual a altura das plantas variou de 56,3 a 67,6 cm.

Em estudo realizado por Maccarone *et al.*, (2016) foi demonstrado um aumento significativo no desenvolvimento radicular de mudas de alface após a inoculação com uma concentração de 1×10^7 UFC/mL da bactéria do gênero *Bacillus*, em ensaio de 55 dias. Isso por que segundo Sánchez *et al.*, (2014), a inoculação de bactérias melhora o desenvolvimento radicular das plantas, uma vez que são capazes de absorver água e nutrientes, através da produção de reguladores de crescimento que estão associados à interface radicular. Gaspareto *et al.*, (2013), trabalharam com *Bambusa vulgaris* e *B. vulgaris* var. *Vittata*, e obtiveram resultados melhores com alturas de 30 cm, comprimento de raiz de 17,0 cm e número de folhas (14).

A capacidade dos tratamentos com rizobactérias em melhorar o crescimento das plantas de curauá branco foi claramente evidenciada nas análises realizadas, com destaque para o tratamento T4 – SE + INPA R1065. Este tratamento demonstrou resultados significativamente superior em termos de número de folhas, raízes, altura e largura da folha, ressaltando com isso o potencial benéfico das rizobactérias para promover o desenvolvimento vigoroso dessas plantas.

Assim, torna-se crucial ressaltar a importância de realizar mais pesquisas para avaliar a eficácia das diferentes espécies de rizobactérias. Isso se deve ao fato de que outros fatores podem influenciar significativamente o sucesso da interação entre as plantas e as rizobactérias, e entender esses mecanismos é essencial para otimizar estratégias que promovam um crescimento vegetal mais eficiente e sustentável.

5.3 Produção de biomassa seca

Os resultados apresentados na Tabela 23 e 24, são referentes ao peso fresco e seco (parte aérea e raízes) das plantas que passaram pelo processo de aclimatização, após os 60 dias. Constatando-se que as variáveis massas seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR) foram significativamente influenciadas ($p < 0,05$) pelos tratamentos.

Quanto à matéria seca ou peso seco, os maiores valores de massa seca da parte aérea foram observados nos tratamentos T4 - SE + INPA R1065 e T6 - SE + INPA R579, com 0,226 % e 0,225 %, respectivamente. Os demais tratamentos atingiram pesos de 0,057 % (T18) a 0,176 % (T15). Notavelmente, os controles apresentaram pesos secos semelhantes a alguns tratamentos com as rizobactérias, registrando 0,108 % (T1) e 0,064 % (T2), respectivamente. Esses resultados destacam a influência positiva das rizobactérias nos parâmetros de crescimento das plantas de curauá.

Tabela 23. Peso seco da parte aérea das plantas de curauá, após 60 dias de aclimatização (casa de vegetação).

TRATAMENTOS		
----- g/planta -----		
T1 - Controle (SNESI) ¹	0,108	e
T2 - Controle (SESI) ²	0,064	f
T3 - SE ³ + Regulador (2,0 BAP+0,25ANA)	0,120	d
T4 - SE + INPA R1065	0,226	a
T5 - SE + INPA R287	0,104	e
T6 - SE + INPA R579	0,225	a
T7 - SE + INPA R633	0,147	c
T8 - SE + INPA R1003	0,161	b
T10 - SE + INPA R028	0,101	e
T11 - SE + INPA R070	0,127	d
T12 - SE + INPA R999	0,150	c
T13 - SE + INPA R937	0,057	f
T15 - SE + INPA R152	0,176	b
T18 - SE + INPA R822	0,059	f
Média	0,136	b

¹SNESI: Solo não esterilizado sem inoculação;

²SESI: Solo esterilizado sem inoculação,

³SE: Solo esterilizado.

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

Observar-se a influência das rizobactérias na produção de biomassa do curauá, no qual o isolado 1065 comparado aos controles teve uma diferença muito significativa no peso fresco e seco da parte aérea das mudas aclimatizadas.

Para o peso fresco das raízes das plantas (Tabela 24), o tratamento T4 - SE + INPA R1065 proporcionou a maior massa fresca, com 0,248 g/planta, seguido pelo T7 - SE + INPA R633, com 0,207 g/planta, os demais tratamentos variaram entre 0,007 g/planta (T2 - Controle (SESI)) a 0,133 g/planta (T6 - SE + INPA R579).

Em relação à matéria seca das raízes, o tratamento T4 - SE + INPA R1065 continuou com a maior média, com 0,154 %, seguido pelo T6 - SE + INPA R579, com 0,109 %. A variação entre os tratamentos foi de 0,005 % (T2) a 0,057 % (T7). Mais uma vez, os controles e o tratamento com o regulador apresentaram pesos secos baixos, variando de 0,005 % a 0,019 %. Reforçando assim, a influência positiva dos tratamentos com rizobactérias no desenvolvimento das raízes das plantas de curauá.

Tabela 24. Peso seco da raiz das plantas de curauá, após 60 dias de aclimatização (casa de vegetação).

TRATAMENTOS		
----- g/planta -----		
T1 - Controle (SNESI) ¹	0,019	f
T2 - Controle (SESI) ²	0,005	i
T3 - SE ³ + Regulador (2,0 BAP+0,25ANA)	0,017	f
T4 - SE + INPA R1065	0,154	a
T5 - SE + INPA R287	0,007	i
T6 - SE + INPA R579	0,109	b
T7 - SE + INPA R633	0,057	c
T8 - SE + INPA R1003	0,010	h
T10 - SE + INPA R028	0,031	e
T11 - SE + INPA R070	0,013	g
T12 - SE + INPA R999	0,046	d
T13 - SE + INPA R937	0,005	i
T15 - SE + INPA R152	0,022	f
T18 - SE + INPA R822	0,016	f
Média	0,045	B

¹ SNESI: Solo não esterilizado sem inoculação;

² SESI: Solo esterilizado sem inoculação,

³ SE: Solo esterilizado.

*Médias dos tratamentos nos diferentes dias.

Obs.: Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5 %; minúsculas nas colunas para comparar os valores dentro de cada tratamento e maiúsculas na linha para comparar os períodos de incubação.

O peso seco das raízes dois isolados destacaram-se com os maiores pesos, com valores bem mais altos que os controles e os reguladores, mostrando mais uma vez a potencialidade das rizobactérias na produção de raízes nas mudas de curauá.

Os estudos realizados por Stoll *et al.*, (2018) e Sánchez *et al.*, (2014) destacam os benefícios da inoculação de cepas bacterianas no cultivo de alface (*Lactuca sativa*). No estudo de Stoll *et al.*, (2018), a inoculação de cepas bacterianas resultou em um aumento significativo na massa fresca das plantas em comparação ao controle não inoculado. Observando um aumento de 30% no peso fresco das plantas devido à ação de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV).

Por outro lado, na pesquisa de Sánchez *et al.*, (2014), foram avaliados consórcios de cepas bacterianas em plantas de alface. O tratamento com consórcios de cepas bacterianas resultou em um aumento de 102% no peso seco das plantas em relação ao tratamento químico. Esse aumento no peso seco foi atribuído a uma melhor nutrição das plantas, especialmente devido ao crescimento das raízes

Youseif (2018) relatou resultados significativos no crescimento das raízes de milho inoculadas com 49 isolados de bactérias promotoras de crescimento (BPCP), atribuindo esse aumento à capacidade dessas bactérias em sintetizar ácido indolacético (AIA), importante hormônio vegetal relacionado ao crescimento radicular.

Da mesma forma, Moreira e Araújo (2013) testaram isolados de *Bacillus* spp. como promotores de crescimento em *Eucalyptus urograndis* e observaram aumentos expressivos na produção de massa seca na parte aérea, que variaram de 53% a 167% em comparação com o controle. Isso ressalta a capacidade desses isolados de *Bacillus* em melhorar o crescimento e desenvolvimento das plantas de eucalipto.

Esses resultados destacam mais uma vez o potencial das bactérias em promover o desenvolvimento o crescimento das e a produtividade das plantas, tanto em termos de massa fresca quanto de peso seco, através de diferentes mecanismos, como promoção do crescimento radicular e melhoria da nutrição das plantas.

Os isolados de rizobactérias avaliados neste estudo demonstraram promissor potencial em relação desenvolvimento das plantas de curauá branco, especialmente o tratamento T4 com a rizobactéria INPA R1065. No entanto, é crucial realizar testes adicionais desses isolados em associação com as plantas de curauá, especialmente na presença de fatores limitantes adicionais, a fim de estabelecer uma simbiose eficaz e promover a tolerância a condições ambientais adversas. Esses testes adicionais podem incluir avaliações em condições de estresse abiótico, como solos ácidos ou com altas concentrações de alumínio, além de considerar outros fatores limitantes, como deficiências nutricionais ou condições de seca.

A compreensão do comportamento desses isolados de rizobactérias em condições mais realistas de campo é essencial para determinar sua viabilidade e eficácia como agentes promotores de crescimento em agricultura sustentável.

6. CONCLUSÕES

Os reguladores BAP e ANA influenciaram o crescimento *in vitro* de curauá branco (*Ananas erectifolius*), sobretudo o tratamento MS + 1,5 mg/L⁻¹ BAP + 0,19 mg/L⁻¹ ANA, sendo uma dosagem mais baixa do que a utilizada como padrão, com este resultado é possível diminuir os custos, quando comparado ao uso destes reguladores em um volume a nível de escala de produção;

O número de brotos foi favorecido apenas pela ação dos reguladores BAP, ANA e AIA, demonstrando ser uma opção garantida para multiplicação de plântulas, uma vez que este parâmetro é essencial no processo para produção dessas plântulas em larga escala em um menor espaço de tempo;

As rizobactérias utilizadas demonstraram capacidade de produzir AIA (ácido indolilacético), aos sete dias, sem suplementação de L-triptofano, com máxima de 1522,11 µg.mL⁻¹ (INPA R825) e mínima de 23,22 µg.mL⁻¹ (INPA R010);

A utilização de rizobactérias mostrou aumento nas variáveis altura, número de folhas, raiz e largura da folha, o que resulta em bom desenvolvimento e crescimento da cultura do curauá, sendo a brotação o único parâmetro que não desenvolveu como esperado. Em testes futuros, em pesquisas futuras a utilização das rizobactérias, mais a adição dos reguladores de crescimento testados em meio de cultura, pode ser uma alternativa para que todos os parâmetros tenham resultados bem mais positivos;

As plântulas inoculadas com as rizobactérias alongaram-se significativamente mais do que aquelas com reguladores de crescimento. A produção do número de raízes foi o parâmetro que mais se desenvolveu em comparação aos reguladores, sendo observado também o crescimento de raízes mais longas, tendo em vista, que o curauá apresenta dificuldades de enraizamento *in vitro*, este foi um resultado positivo;

Dentre as 29 rizobactérias avaliadas quanto ao efeito no crescimento vegetal *in vitro*, 11 bactérias apresentaram melhores efeitos sobre as plântulas de curauá, são elas: INPA R1065, INPA R287, INPA R579, INPA R633, INPA R1003, INPA R028, INPA R070, INPA R999, INPA R937, INPA R152 e INPA R822;

Dos 11 isolados bacterianos testados em casa de vegetação durante o processo de aclimatização, o tratamento inoculado com o INPA R1065 (T4) se destacou ao proporcionar o melhor desenvolvimento das mudas de curauá. Este tratamento se sobressaiu em praticamente todas as variáveis analisadas (nº de folhas, raízes, altura e

largura da folha), demonstrando ser promissor para o desenvolvimento de mudas de curauá *ex vitro*;

As plântulas que receberam a suplementação com microrganismos apresentaram um enraizamento significativamente maior. Esse enraizamento mais robusto pode ter contribuído para uma aclimatização mais rápida das plântulas ao ambiente externo, potencialmente permitindo que elas se estabelecessem mais rapidamente e se adaptassem às novas condições. Além disso, o aumento do sistema radicular pode influenciar a capacidade das plantas de absorver nutrientes do solo;

A falta de brotação das plântulas durante o período de incubação em casa de vegetação destaca mais uma vez a necessidade de conduzir estudos adicionais abrangendo uma ampla gama de parâmetros a serem investigados. Essa constatação pode sugerir que há outros fatores que podem influenciar o processo de brotação das plântulas e que ainda não foram explorados neste trabalho;

Os tratamentos T4 (INPA R1065) e T6 (INPA R579) se destacaram ao exercerem um impacto significativo no peso fresco e seco tanto da parte aérea quanto das raízes das plantas, com destaque para. Isso reforça a eficácia da aplicação de rizobactérias como uma estratégia viável para aumentar a produção de biomassa de curauá;

Ao promoverem o crescimento radicular, o desenvolvimento foliar e o vigor geral das plantas, as rizobactérias demonstram ser uma ferramenta valiosa para otimizar a produção de curauá. Esses resultados também destacam a importância de explorar e compreender as interações complexas entre as plantas e os microrganismos do solo, visando desenvolver estratégias de manejo sustentáveis e eficazes.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, A. R. **Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas em *Paspalum notatum* Flügge**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

AGUIAR, K. P. **Prospecção de bactérias promotoras do crescimento vegetais associadas a vermicompostos**. UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO CAMPOS DOS GOYTAZES-RJ MARÇO – 2012.

ALMEIDA, N. M. DE; PACHECO JUNIOR, R. G.; CÉZAR, J. DE O.; GONÇALVES, H. A.; SOUZA, A. Produção de mudas micropropagadas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em larga escala: uma inovação tecnológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 16; CONGRESSO LATINO-AMERICANO E CARIBENHO DE MANDIOCA, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: SBM, 2015.

ALVES, K. A.; LONDE, L. N.; MELO, E. F.; RODRIGUES, G. B.; MULTIPLICATION OF ORNAMENTAL PINEAPPLE IN DIFFERENT CONCENTRATIONS OF BAP AND PERIODS EVALUATION OF DEVELOPMENT IN VITRO. **Biosci. J.**, Uberlandia, v. 30, supplement 1, p. 188-198, June/14.

AMARAL, M. B.; MONTEIRO, E. C.; BARBOSA, E. S.; SILVA, E. F. P.; CASTILHO, G. J. M. Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal: uma revisão de literatura. XXI Encontro Latino-Americano de Iniciação Científica, XVII Encontro Latino-Americano de Pós-Graduação e VII Encontro de Iniciação à Docência – Universidade do Vale do Paraíba, outubro, 2017.

AMARAL, V. F. M. **Multiplicação in vitro de *Cedrella fissilis* Vell.** 2006. 60f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

ANTUNES, J. E. L., et al. Isolation and Characterization of Plant Growth-Promotion Diazotrophic Endophytic Bacteria Associated to Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Grown in Paraíba, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, 2022.

ARAÚJO, W. L. et al. **Microrganismos Endofíticos: Aspectos Teóricos e Práticos de Isolamento e Caracterização**. 1. ed. Santarém: Universidade Federal do Oeste do Pará. 2014.

ARAUJO, R.; LOPES S. D.; CECOM, P. R. Multiplicação in vitro do abacaxizeiro ‘smooth cayenne’ utilizando benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA) **Revista Ceres**, vol. 55, núm. 5, septiembre-octubre, 2008.

ARAGÃO, A. K. O.; ALOUFA, M. A. I.; COSTA, I. A. Effect of bap (6-benzylaminopurine) on shoot induction in explants of brazilwood. **Cerne**, v. 17, n. 3, p. 339-345, 2011

ASSMANN, S.M. Abscisic acid signal transduction in stomatal responses. In Davies P.J. (ed), *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!* 3 rd edition, pp.399-420. **Kluwer Academic**, Boston.2010.

BARBOSA, J. Z.; CONSALTER, R.; VEZZANI, F. M.; MOTTA, A. C. V. Bactérias e fungos benéficos na endosfera das plantas. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 7, n. 3, p. 99-116, set. 2015.

BHAT, M. A., RASOOL, R. & RAMZAN, S. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable and eco-friendly agriculture. **Acta Scientific Agriculture**, 3, 23–25.2019.

BLOEMBERG, G.V. & LUGTENBERG, B.J.J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion Plant Biology** 4:343-350. 2001.

BRAGA, R. S., CORDEIRO, I. M. C.C., ANDRADE. A. C. DA S., FERREIRA., G.C. Efeito do Extrato Vegetal no Desenvolvimento de Plantas de Curauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith) Em Plantio Florestal. In: SIMPÓSIO DE MEIO AMBIENTE, UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, 6. Viçosa, 2010 Anais. CD-ROM, Set/ 2010, p. 1-5.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. Manual de métodos microbiológicos para alimentos. Coordenação Geral de Laboratório Animal. 1991/1992 2ª revisão. 136p.

BAZZAN, R. D. **Efeito de bioestimulantes no rendimento de grãos na cultura do trigo (*Triticum aestivum*)**. 2014. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso – UNIJUÍ/DE Ag, Ijuí, 2014.

BRASIL. Lei 6.894 de 16 de dezembro de 1980. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 17, dez. 1980. Seção 1, p. 25289.

BRASIL. Lei 7.802 de 11 de julho de 1989. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 12 jul. 1989. Seção 1, p. 11459.

BEATTY, P.H.; GOOD, A.G. Future prospects for cereals that fix nitrogen. **Science**, Vol.333, 2011.

BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR): seu potencial como antagonistas e agentes de biocontrole. 2012 dezembro;35(4 (suplemento)):1044-51. doi: 10.1590/s1415-47572012000600020. Epub 2012, 18 de dezembro.

BILCATI, G. K; MATOSKI. A.; TRIANOSKI, R.; LENGOWSKI, E. C. Effects of pre-treatment of Curauá fibers on compatibility with portland cements. ISSN 1517-7076

artigo e-12190, V 23 N.03 2018.

CAMPOS, M. F; NAJM, C. C; Ono, E. O; Rodrigues J. D. Arquitetura de plantas de soja e a aplicação de reguladores vegetais - **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 3, n. 1, p. 153-159, 2010.

CAMPELO, M. F; LAMEIRA, O. A; MOREIRA, R. K. P. P; RAMIRES, A. C. S.; Fenologia reprodutiva de Ananas comosus var. erectifolius (L. B. Smith) Coppens & F. Leal. e sua correlação com a temperatura média do ar e precipitação pluviométrica **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, e7010514621, 2021 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14621>.

CARVALHO, J. C.; VIECELLI, C. A.; ALMEIDA, D. K. Produtividade e desenvolvimento da cultura da soja pelo uso de regulador vegetal. **Acta Iguazu**, Cascavel. v. 2, n. 1, p. 50-60, 2013.

CATTELAN, A. J. Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 36p. (Embrapa Soja. Documentos, 139).

CRESTANI, M., BARBIERI, R. L., HAWERROTH, F. J. CARVALHO, F. I. F. D, & Oliveira, A. C. D. (2010). Das Américas para o mundo: Origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Ciência Rural**, 40(6), 1473-1483. 2010.

CHERNIN, I.; CHET, I. (2002). Microbial Enzymes in Biocontrol of Plant Pathogens and Pests. 10.1201/9780203904039.ch7.

Chouhan, D. K., Jaiswal, D. K. Gaurav, A. K., Mukherjee, A. & Verma, J. P. (2021). PGPM as a potential bioinoculant for enhancing crop productivity under sustainable agriculture. In: Rakshit, A., Meena, V. S. M. P., Singh, H.B. & Singh A.K. (org). **Biofertilizers, Woodhead Publishing**, 221-237.

CORDEIRO, I. C. C; ANDRADE, A. C. S; FERREIRA, G. C; BRAGA, R. S. PRODUTOS E SERVIÇOS AMBIENTAIS DO CULTIVO DE CURAUÁ (*Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B.Sm.) Coppens & F.Leal, Bromeliaceae) em plantio florestal. Congresso nacional de meio ambiente de poços de caldas 8., 2011, Poços de Caldas. Anais... Poços de Caldas: GSC, 2011.

CORDEIRO, I. M. C. C. et al. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos in vitro de *Schizolobium amazonicum* Huber ex. Dulce (Paricá). **Nota técnica**. Cerne, Lavras, v. 10, n. 1, p. 118-124, jan./jun. 2004.

CORREIA, W. K. A.M; MELO, Y. L; MACEDO, C. E. C. Efeito da concentração do ANA (Ácido Naftalenoacético) no enraizamento in vitro de brotos de abacaxizeiro (*Ananas comosus*). <https://doi.org/10.14295/oh.v13i0.1604>

COSTA, M.; ALVES, S. P; FRANCISCO, A.; ALMEIDA, J.; ALFAIA, CM; MARTINS, SV; PRATES, JAM; SANTOS- SILVA, J.; DORAN, O.; Bessa, RJB, 2017. A redução do

amido na terminação de dietas suplementadas com óleo não evita o acúmulo de trans-10 18:1 na carne decordeiros. **J.Anim. Ciência**, <https://doi.org/10.2527/jas2017.1578>

CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. Water relations and yield in Azospirillum-inoculated wheat exposed to drought in the field. **Canadian Journal of Botany**, v.82, p.273–281, 2004.

CRUZ, A.C.; PEREIRA, F.S.; FIGUEIREDO, V.S. Fertilizantes organomineirais de resíduos do agronegócio: avaliação do potencial econômico Brasileiro. Indústria química | **BNDES Setorial**, v.45, p. 137-187, 2017.

COZENTINO, N. C.B. **ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FUNGOS DE SOLO DE INTERESSE NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS**. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp. Jaboticabal, 2019.

DALTON, D.A.; KRAMER, S. Nitrogen-fixing bacteria in non-legumes. In **Springer Netherlands, Dordrecht** pp. 105-130. 2006.

DAVIES, P. J. Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action! 3. ed. **Dordrecht, Boston: Kluwer Academic**, 2004. xii, CP16, 750 p. ISBN 1402026854.

DEMASON, D. A. Auxin-cytokinin and auxin-gibberellin interactions during morphogenesis of the compound leaves of pea (*Pisum sativum*). **Planta**, v. 32, p. 1432-2048, 2005.

DE PAULA, A. F. de, *et al.* Endophytic and rhizospheric bacteria associated with *Paspalum atratum* and its potential for plant growth promotion with different phosphate sources. **Frontiers in plant science**, v. 13, p. 884716, 2022.

DIAS, J. P. T. **Etil-trinexapac em diferentes concentrações e épocas de aplicações no crescimento de figueira (*Ficus carica* L.)**. Botucatu, 2014. 87 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista. 2014.

DIAS, A. S.; SANTOS, C. C.; Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso. – Nova Xavantina, MT: Pantanal, p.98, 2022. DOI <https://doi.org/10.46420/9786581460631>.

ERENO, D., “Fibra para Toda Obra”, Boletim Eletrônico Fapesp, n. 104, 2004. [FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo](#), Acesso em 10/11/2023.

FARIA, L. S. **Observação da ação do etileno: uma abordagem experimental para o ensino de botânica**. Trabalho de Conclusão de Mestrado apresentado ao Programa de Mestrado Profissional em Ensino de Biologia. Brasília, 2020.

FERNANDES, A. C. V.; LISBOA, P. H. G.; ANDRADE, P. H. M. DE; VIGNA, B. B. Z.; NOGUEIRA, S. R.; FAVERO, A. P.; LACAVA, P. T. Bactérias endofíticas associadas a *Paspalum vaginatum* Swartz com potencial para promoção de crescimento vegetal e biocontrole: **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v.6, n.2, p. 1071-1089, abr./jun., 2023

FINET, C.; JAILLAIS, Y. AUXOLOGY: When auxin meets plant evo-devo. **Developmental Biology**, vol. 369, no. 1, 2012.

FRANCHE, C.; LINDSTRÖM, K.; ELMERICH, C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant and soil**, 321, p.35-59, 2009.

FREITAS, S. S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: SILVEIRA, A. P. D.; Freitas, S. S. Microbiologia do solo e qualidade ambiental. Campinas: **Instituto Agrônomo**, p. 1-20. 2007.

FREITAS, A. M; PADILHA, F. de J.; BARROS, S. de S.; BARBOSA, W.T.; CALDERARO, F. L.; SILVA, S.; QUIRINO, M.G.; FREITAS, F.A. Curauá bers de plantas produzidas por cultura de tecidos: caracterizações térmicas, mecânicas e morfológica characterizations. Programa de Pós-graduação em Design – Departamento de Design e Expressão Gráfica, Universidade Federal do Amazonas. 69077-000, Manaus – AM, Brazil. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1562572/v1>

FRESCHI, J. A importância das auxinas e da citocinina para a nutrição da planta e o enchimento de frutos. **Stoller**, 2019. Disponível em: < <https://www.stoller.com.br/a-importancia-da-auxina-e-da-citocinina-para-a-nutricao-da-planta-e-o-enchimento-de-frutos/> > , acesso em: 30/06/2023.

FICK, T. A. **Estabelecimento in vitro e propagação de Cordia trichotoma (Vell.) Arrabida ex Steudel (Louro-pardo)**. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

FLOH, E. IOCHOVET. S; SANTOS, A. LUÍS. WENDT.; DEMARCO, D. embriogênese vegetal: abordagens básicas e biotecnológicas, 2015.

FLORENCIO, C.; SANTOSA, B. R.; FAVAROA, C. P; BRONDIA, M. G; VELLOSA, C. C; KLAICA, R; RIBEIRO, C; FARINASA, C. S; MATTOSO, L. H. C. Avanços na produção e formulação de inoculantes microbianos visando uma agricultura mais sustentável. **Quim. Nova**, Vol. 45, No. 9, 1133-1145, 2022. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170909>

FUJIHASHI, G. D. A., & Barbosa, W. L. R. (2002). Ananas erectifolius (Curauá): padronização dos extratos, frações e do material vegetal. **Revista Científica da Köppen, W.** Climatologia. Fondo de Cultura Económica. 1948.

GALDIANO JÚNIOR, R.F. 2009. **ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PRODUTORAS DE AUXINAS ASSOCIADAS**

ÀS RAÍZES DE ORQUÍDEAS. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 84p.

GATO, A. M. G; SILVA, S; FERREIRA, F. F; PINHEIRO, E. N; RODRIGUES, D. C; ASSUNÇÃO, L. M; SILVA, E. L; MARINHO, V. R. P. Efeitos de diferentes reguladores de crescimento na produção de mudas micropropagadas de *Ananas erectifolius* L.B. Smith **Scientia Amazonia**, v. 8, n. 3, B1-B7, 2019.

GATO, A. M. G; SILVA, S; FERREIRA, F. F; PINHEIRO, E. N; RODRIGUES, D. C; ASSUNÇÃO, L. M; SILVA, E. L; MARINHO, V. R. P. Desinfestação e introdução in vitro de *Ananas erectifolius* (L. B. Smith.) **Scientia Amazonia**, v. 7, n.2, B32-B36, 2018.

GONÇALVES, J. C. **Rizobactérias produtoras de ácido indolacético como promotoras do crescimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro 'brs imperial'**. 2016, 88p. Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2017.

Harthmann, O. E. L. (2009). Microbiolização de sementes com rizobactérias na produção de cebola.

HUBBARD, K. E. *et al.* Early abscisic acid signal transduction mechanisms: newly discovered components and newly emerging questions, **Genes and Development**, v. 24, p. 1695-1708. 2010.

HUNGRIA, M.; STACEY, G. Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: Basic aspects and potential application in agriculture. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p. 819-830, May-Jun. 1997.

JARDIM, L. S; SAMPAIO, P. T. B; COSTA, S. S; GONÇALVES, C. Q. B; BRANDÃO, H. L. M. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na regeneração in vitro de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). **Acta Amazonica**, VOL. 40(2) 2010: 275 – 280. 2010.

JUNIOR. I.B. Fibras vegetais e compósitos na indústria automotiva. **Mix Sustentável** Florianópolis, v.6. n.4. p.129-138. Ago.2020.

KLEPACKI, M. E. **Efeito de BAP (6-Benzilaminopurina) na multiplicação in vitro de Schomburgkia crispa Lindley (Orchidaceae)**. Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Agronomia do Centro de Curitiba da Universidade Federal de Santa Catarina. 2022.

LIBERA J. V. D. **Laminados de Fibra de Curauá/ Epóxi Obtidos a Partir de Pré-Impregnados**. Dissertação de Mestrado em Integridade de Materiais da Engenharia, Publicação: FGA.DM – 077A/2019, Programa de Pós-Graduação em Integridade de Materiais da Engenharia, Faculdade Gama / Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 108p.2019.

LOPES, J.S.; FILHO, M. B. D.; GURGEL, E. S. C. Promoção de crescimento de plantas-sucedida Micróbios: métodos de inoculação e Fatores abióticos. V. 2. Frente. **Sustentar. Sist. Alimentar** 5:606454. Fev. 2021.

MACCARRONE, A., BENZZO, M.; SELUY, L. 2016. Aislamiento y selección de microorganismos de género *Bacillus* con actividad antifúngica y/o promotora del crecimiento. Encuentro de jóvenes investigadores, **Universidad Nacional de Litoral**. <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/2079/RCB>.

MACIEL, N. O. R. **Análise mecânica comparativa de tração, flexão e Impacto entre compósitos reforçados com fibras de Curauá e compósitos reforçados com fibras de vidro**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais), Campos dos Goytacazes – RJ, 2017.

MAFRA, R; DUARTE, J. L; LASMAR, D. J. *Biofibras Business Plan*. Trabalho de Conclusão de Curso de (MBA in Business and Innovation) – FUCAPI – New Mexico University, Manaus, 2010.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; Nascimento, A. R. P.; Donato, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, vol. 1, p.89-111, 2004.

MARCHIORO, E. **Inoculação de microrganismos promotores do crescimento vegetal na cultura do milho**. Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis 2023.

MATSUKAWA, E. et al. Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. **Actinomycetologica**, v.21, p.32-39, 2007.

MARTÍNEZ-VIVEROS, O.; JOQUERA, M.A.; CROWLEY, D.E.; GAJARDO, G.; MORA, M.L. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **J. Soil Science and Plant Nutrition**. 2010.

MARTINELLI L. A. Os caminhos do nitrogênio - do fertilizante ao poluente. **Informações agrônômicas**, número 118 junho de 2007.

MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B.; ASSIS. S.M.P.; GOMES, A.M.A.; Nascimento, A.R.P.; Donato, V.M.T.S. 2004. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciências Agrônômicas**, (1): 89-111.

MEDEIROS, J. C. D., MARTINS, W. S. & MIRANDA, F. F. R. (2020). Antagonism of *Trichoderma* spp. in *Fusarium moniliforme* biocontrol in corn culture. **Revista Sítio Novo**, 4 (4), 169-178.

MEILHOC, E. et al. Nitric oxide in legume-rhizobium symbiosis. **Plant Science**, v. 181, n. 5, p. 573-581, Nov 2011.

MILANESE, A. C.; CIOFFI, M. O. H.; VOORWALD, H. J. C. Mechanical behavior of natural fiber composites. **Procedia Engineering**, p. 2022–2027, 2011.

MINELLI, C. O; MIYAMOTO, M. S. F; FILHO, S. A; OLIVEIRA, L. O; PEREIRA, J. O. Caracterização do complexo α -amilases produzido por um bradyrhizobium sp. Isolado do solo amazônico”, **International Journal of Development Research**. Vol. 09, Edição, 12, pp. 32868-32871, dezembro de 2019.

MIRANSARI, M. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, **Journal of Plant Nutrition**, 37:14, 2227- 2235, 2014.

MORETI, U. S.; PEREIRA, J. C. S.; ALTHMAN, M. P. F. AUXINA: HORMÔNIO DE DESENVOLVIMENTO FISIOLÓGICO VEGETAL. REVISTA **CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE AGRONOMIA DA FAEF**, v. 33, n.1, junho, 2018.

MOREIRA, M. A; CARVALHO, J. G; PASQUAL, M; FRÁGUAS, C. B; SILVA, A. B. Acclimatization of micropropagated pineapple pl. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 875-879, set./out., 2006.

MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; Oliveira, M. L. R. Micropropagação de Sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 47, n.12, p. 1691-1698, 2012.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. v. 15, p. 473-4971, 1962.

NIETO-JACOBO, Maria F. et al. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 102, 2017.

OLIVEIRA, T. C. **Decomposição de amido de babaçu (*Orbignya phalerata* mart.) e produção de amilase por rizobactérias amazônicas**. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa Multi-institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia, na Universidade Federal do Amazonas. 2022.

OLIVEIRA, L.A.; MINELLI-OLIVEIRA, C. 2019. Potencial econômico da microbiota amazônica In: Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza.1 ed.: **Atena Editora**, v.1, p. 254-264.

OLIVEIRA, L.A.; MOREIRA, F.W. 1993. A importância do uso Adequado dos Solos no Zoneamento Ecológico-Econômico da Amazônia. In: Ferreira, E.J.G; SANTOS, G.M; LEÃO, E.L.M; OLIVEIRA, L.A. (eds). **Bases Científicas para Estratégias de Preservação e Desenvolvimento da Amazônia**. 2: 17-24.

OLIVEIRA, A. de N; FLOR, N. S; OLIVEIRA, A. de O. Influência do pH e temperatura sobre a atividade amilolítica de rizóbios isolados de solos da Amazônia. **Acta Amazonica**, vol. 40(2) 2010: 401 – 404. 2010.

PAULA, T.A., **Bactérias promotoras de crescimento vegetal associadas ao sorgo**. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Viçosa, MG, 2018.

PARRALES, Y. R., et al. Desempenho agrônômico da cultura de arroz *Oryza sativasob* irrigação com aplicação de MPC, microrganismos promotores de crescimento e hormônios vegetais na área de Babahoyo. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v.5, n. 1, p. 921–938, 2022.

PEDROSO, L.; BERTOLDO, J. L.; MARCHI, B. DE A.; CRUZ, R. M. S. DA; SOUZA, B. C. DE; LERMEN, C.; ALBERTON, O. Avaliação dos fitorreguladores auxina e giberelina na germinação e crescimento do arroz. Arq. Ciênc. Vet. Zool. **UNIPAR, Umuarama**, v. 19, n. 4, p. 241-245, out./dez. 2016.

PEREIRA, R.M.; DA SILVEIRA, E.L.; CARARETO ALVES, L.M. & LEMOS, E.G.M Avaliação de populações de possíveis rizobactérias em solos sob espécies florestais. R. Bras. Ci. Solo, Viçosa – MG. v.32, p.1921-1927, 2008.

PICANÇO MS, GHAVAMI K. Comportamento à resilientes de argamassas com fibras vegetais da Amazônia. REM: **Revista Escola de Minas**, Ouro Preto, Minas Gerais, 13-18. 2008.

PINHEIRO, S.; BARRETO, S. B. MB-4 Agricultura sustentável trofobiose e biofertilizantes. 312 **Fundação Juquira Candiru**, MIBASA, 6ª ed. 269 p., 2000.

RAMOS, L. M. A. **Características anatômicas do lenho juvenil e adulto da Madeira de Eucalyptus grandis Hill ex Maiden**. 2011. 28 p. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

ROSOLEM, C.A.; FOLONI, J.S.S.; OLIVEIRA, R.H. Dinâmica do nitrogênio no solo em razão da calagem e adubação nitrogenada, com palha na superfície. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.38, p.301-309, 2003.

ROBERTSON, G. P.; VITOUSEK, P. M. Nitrogen in Agriculture: Balancing the Cost of an Essential Resource. Annual **Review of Environment and Resources**, v. 34, p. 97-125, 2009.

ROBERTO, S. R.; BOTELHO, R. V. Características e efeitos fisiológicos dos principais reguladores vegetais usados na viticultura. visão agrícola nº14 JUNHO 2021.

RODRIGUES, M.V.M. **Potenciais aplicações de microrganismos endofíticos na promoção do desenvolvimento vegetal**. Trabalho apresentado ao Curso de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte Instituto de Ciências Biológicas UFMG 2014.

ROMEIRO, R. S. Controle biológico de doenças de plantas – Fundamentos. Viçosa - MG: UFV, 2007. 296 p.

SABARWAL, Akash; KUMAR, Kunal; SINGH, Rana P. Hazardous effects of chemical pesticides on human health-cancer and other associated disorders. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 63, p. 103 – 114, 2018.

SAIKKONEN K., *et al.* Evolution of endophyte–plant symbioses. **Trends Plant Sci.** Vol. 9, 2004.

SANTOS, P, B.; BARBOSA, F. S.; VIEIRA, C. F.; CARVALHO, A. C. P.P. Number of explants, culture medium and photoperiod in ornamental pineapple micropropagation. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 4, p. 749-754, out-dez, 2015.

SANTOS, L. A. L.; PINHEIRO, L. R. B.; ROCHA, L. S. et al. Biological control of anthracnosis in papaya fruits by biofilm-forming epiphytic bacteria. **Summa Phytopathol**, v. 47, n. 1, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/216998>.

SATYANARAYANA, KG; GUIMARÃES, JL & WYPYCH, F. - COMPOS.: <http://dx.doi.org/> Parte A, 38, p.1694 (2007).

SENA, J. C. De A. Manual técnico para o cultivo do Curauá. Marituba: EMATER, 2011.

SILVA, A.P. DOURADO, M.N. Mecanismos de promoção de crescimento vegetal por bactérias endofíticas. **Iniciação Científica CESUMAR** - v. 24, n. 1 jan./jun. 2022, e10776 - e-ISSN 2176-9192.

SILVA, Y.S. **Reguladores de crescimento no desempenho agrônômico de soja.** Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia Capanema, 2018.

SILVA, R. A. **Cytokinin in nodulation, morphophysiology and common bean production.** **Vitoria da Conquista-BA:** Thesis - PhD in Agronomy, Area of Concentration in Plant Science. UESB. 97 p. 2017.

SILVA, S. **Melissa officinalis (L.): Produção estimulada de óleos essenciais nas culturas *in vitro*. Testes de atividade larvicida do hidrolato de plantas micropropagadas sobre o *Aedes aegypti* L.** Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

SILVEIRA, A. P. D.; Freitas, S. S. Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: **Instituto Agrônômico.** 312 p. 2007.

SIMÕES, W. L., et al. Efficient inoculation of diazotrophic bacteria into sugarcane by the drip irrigation system. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, 2019.

SOLANO, B.R.; BARRIUSO, J.; GUTIÉRREZ-MAÑERO, F.J. 2008. Physiological and molecular mechanisms of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). In: Ahmad, I.; PICHTEL, J.; HAYAT, S. **PLANT-BACTERIA INTERACTIONS - strategies and techniques to promote plant growth.** **Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.,** p.41-54.

- SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H. J. 1985. Methods in legume-*Rhizobium* technology. **NifTAL**. Project and Mircen, Hawaii, USA. 365pp.
- SOUTO, J. S; MORIMOTO, J. M; FERREIRA, W. M; NAKABASHI, M; SUZUKI, R. M. Efeitos do ácido naftalenoacético no desenvolvimento in vitro de *Cattleya bicolor* Lindl. (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Biociências**. ISSN 1980-4849 / 1679-2343.
- SOUZA, R., AMBROSINI, A., Bactérias promotoras do crescimento vegetal como inoculantes em solos agrícolas. *Genet. Mol. Biol.* 38, 401–419. and Passaglia, LMP (2015) DOI: 10.1590/S1415-475738420150053.
- STOLL, A., OLALDE, V.; BRAVO, J. 2018. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal andinas sobre el crecimiento de plántulas de lechuga bajo condiciones industriales. **Biotecnología y Sustentabilidad**, 1:1.
- TAIZ, L. ZEIGER, E. Fisiologia vegetal; Tradução Elaine Romanato Sabtarém... [et al]. - 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal, 5ª ed, Trad, de E, R, Santarém, Porto Alegre: Artmed, 2013.
- Torres, Ae.; Caldas, L.S.; Buso, J. A 1998. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. v.1. 2ª Edição. Brasília: Embrapa Hortaliças, 508 p.
- VALLAD, G. E.; GOODMAN, R. M. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic, 2004.
- VAZ, L.P.N. 2013. **Obtenção de isolados de rizóbios com características agrônomicas desejáveis provenientes de solos da região do Amazonas**. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 91p.
- VINCENT, J.M. A manual for practical study of root nodule bacteria. IBP Handbook N. 15. **Blackwell Scient. Publ.** 140p. 1970.
- ZIMMERMAN, P.W.; WILCOXON, F. Several chemical growth substances that cause initiation of roots and other responses in plants. **Contrib. Boyce Thompson Inst.** v. 7, p. 209–229. 1935.
- ZIKANKUBA, Vumilia Lwoga et al. Pesticide regulations and their malpractice implications on food and environment safety. **Cogent Food & Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 1601544, 2019.
- ZHAO, L.; XU, Y.; LAI, X. Antagonistic endophytic bacteria associated with nodules of soybean (*Glycine max* L.) and plant growth-promoting properties. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 269–278, 2018.

WEINERT, N. *et al.* Rhizosphere Communities of Genetically Modified Zeaxanthin-Accumulating Potato Plants and Their Parent Cultivar Differ Less than Those of Different Potato Cultivars. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 2, 2009.
