



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**



**ARYANA PINHEIRO DO NASCIMENTO**

**BACTÉRIAS: USO NO BIOCONTROLE DA ANTRACNOSE E NA PROMOÇÃO DO  
CRESCIMENTO DO GUARANAZEIRO [*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.)  
Ducke]**

**MANAUS-AM**

**2024**

**ARYANA PINHEIRO DO NASCIMENTO**

**BACTÉRIAS: USO NO BIOCONTROLE DA ANTRACNOSE E NA PROMOÇÃO DO  
CRESCIMENTO DO GUARANAZEIRO [*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.)**

Ducke]

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Biotecnologia da Universidade Federal do  
Amazonas, como requisito para obtenção do título  
de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Dr. José Odair Pereira

Coorientador: Dr. Pedro de Queiroz Costa Neto

Coorientador: Dr. André Luiz Atroch

**MANAUS-AM**

**2024**

## Ficha Catalográfica

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

N244b Nascimento, Aryana Pinheiro do  
Bactérias : Uso no biocontrole da antracnose e na promoção do crescimento do guaranazeiro [Paullinia cupana Kunth var. sorbilis (Mart.) Ducke] / Aryana Pinheiro do Nascimento . 2024  
94 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: José Odair Pereira  
Coorientador: Pedro de Queiroz Costa Neto  
Coorientador: André Luiz Atroch  
Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Colletotrichum. 2. Controle biológico . 3. Enraizamento. 4. Guaraná. I. Pereira, José Odair. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

## AGRADECIMENTOS

Dedico esse trabalho a Deus por ser tão presente e essencial em minha vida, por ser meu apoio nos momentos mais difíceis, e por não me deixar desistir dessa jornada, mesmo querendo fazer isso todos os dias.

À minha família, por sua capacidade de acreditar em mim. Mãe, seu cuidado e dedicação foi que deram, em alguns momentos, a força para seguir.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Odair Pereira, por seus ensinamentos, confiança e principalmente pela paciência ao longo desse trabalho.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Pedro de Queiroz Costa Neto, pela confiança e principalmente pela amizade ao longo desses anos, obrigado por ser essa pessoa acolhedora, por sempre estar disponível e disposto a me escutar, me ajudar, tirar minhas dúvidas, ou até mesmo me encher delas (risos), você sempre foi uma peça chave para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional. Obrigada por há 13 anos, sem nem me conhecer, ter aberto a porta do Laboratório de Princípios Bioativos de Origem Microbiana – LPBOM.

Ao meu segundo coorientador Prof. Dr. André Atroch, pela sua valiosa contribuição no desenvolvimento desta pesquisa, e por compartilhar seus conhecimentos. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Dr. Firmino José do Nascimento Filho e Sr. Luciano Malcher (*in memoriam*) por todo apoio e ajuda, sempre nos auxiliando em campo, nos períodos de coleta e implantação do experimento.

Ao meu namorado Luiz Felipe, pelo companheirismo e ajuda ao longo de toda essa trajetória. Obrigada pelo apoio incondicional, eu sei que não foi fácil.

Aos meus colegas do Laboratório de Princípios Bioativos de Origem Microbiana – LPBOM, Luana, Leandro e Kelven, pelo companheirismo e pelas ideias trocadas. Agradeço em especial ao Lucas e Wilson (meus queridos agrônomos) que foram os meus suportes, quando eu não podia me fazer presente. Vocês foram essenciais para que eu pudesse concluir esse trabalho.

À minha querida amiga e estatística particular (risos) Carla Coelho, por todo esforço e dedicação em me ajudar, pelas contribuições e por todo incentivo.

Ao meu psicólogo Fredgaard Victor por ser tão essencial nessa etapa da minha vida e cuidar da minha saúde mental. Obrigada pelo comprometimento comigo.

A Universidade Federal do Amazonas e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, pela oportunidade de aprendizado e crescimento.

A Embrapa Amazônia Ocidental pelo apoio técnico e consultoria.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM 002/2018 - UNIVERSAL AMAZONAS) que possibilitou a realização dessa pesquisa pelo financiamento do projeto.

Aos demais, que de alguma forma colaboraram com a realização deste trabalho e torcem por mim.

**Meus sinceros Agradecimentos!**

*“Nobody said it was easy  
No one ever said it would be this hard”  
**Coldplay***

NASCIMENTO, Aryana Pinheiro. **Bactérias: Uso no Biocontrole da Antracnose e na Promoção do Crescimento do Guaranazeiro** [*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke]. 2024. 94f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, 2024.

## RESUMO

A guaranicultura tem importância econômica e social no Brasil, pois é o principal produtor de guaraná no mundo em termos comerciais. O guaranazeiro é uma espécie nativa da Amazônia com grande importância para o setor socioeconômico da região, é encontrado principalmente na região de Maués, onde é cultivado pelas comunidades indígenas e tradicionais. Apesar de seu constante melhoramento genético, algumas cultivares apresentam dificuldades no enraizamento de estacas, o que implica diretamente na produção de mudas, além da alta incidência de doenças fúngicas. Como alternativa para minimizar este problema, o uso de microrganismos endofíticos e rizosféricos, vem sendo eficientes no biocontrole de fitopatógenos e na promoção do crescimento vegetal, podendo ser utilizados como bioinoculantes. Resultados de estudos anteriores evidenciaram sucesso com inoculantes microbianos em leguminosas e gramíneas, no entanto poucos dados existem para frutíferas tropicais, sobretudo na produção de mudas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a ação de microrganismos amazônicos no controle do fitopatógeno *Colletotrichum fructicola* e no enraizamento do guaranazeiro pela promoção de crescimento vegetal. Para avaliar a promoção de crescimento vegetal, as bactérias foram inoculadas via enraizamento de estacas na cultivar BRS-CG611 e por meio da microbiolização de sementes nas concentrações de  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> e  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> e plantadas em substrato específico. No biocontrole da antracnose, a eficácia de *Burkholderia* sp. bactéria endofítica isolada de *Himatanthus sucuuba*, foi avaliada por meio do pincelamento da suspensão bacteriana nos tempos 72h, 48h, 24h e no mesmo dia de inoculação do fitopatógeno. O maior percentual de enraizamento de estacas com a cultivar BRS-CG611 foi promovido pela rizobactéria *Bacillus* sp. RZ2MS9, no entanto, não houve incremento do sistema radicular das estacas. Quanto à germinação das sementes, as bactérias não influenciaram no crescimento das mudas. No controle do fitopatógeno, a inoculação da bactéria endofítica *Burkholderia* sp. nas mudas de guaranazeiro da cultivar BRS-Amazonas, suprimiu o aparecimento da doença nos tempos que antecediam a inoculação do fitopatógeno e reduziu as lesões causadas pelo *C. fructicola* nas mudas inoculadas no tempo 0h em relação ao controle.

**Palavras-chave:** - *Colletotrichum* - Controle biológico - Enraizamento - Guaraná.

NASCIMENTO, Aryana Pinheiro. **Bacteria: Use in the Biocontrol of Anthracnose and in Promoting the Growth of Guarana** [*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke]. 2024. 94f. Thesis (Doctorate in Biotechnology) – Universidade Federal do Amazonas, 2024.

## ABSTRACT

Guaraniculture has economic and social importance in Brazil, as it is the main producer of guarana in the world in commercial terms. The guarana tree is a species native to the Amazon with great importance for the socioeconomic sector of the region. It is found mainly in the Maués region, where it is cultivated by indigenous and traditional communities. Despite their constant genetic improvement, some cultivars present difficulties in rooting cuttings, which directly implies the production of seedlings, in addition to the high incidence of fungal diseases. As an alternative to minimize this problem, the use of endophytic and rhizospheric microorganisms has been efficient in the biocontrol of phytopathogens and in promoting plant growth, and can be used as bioinoculants. Results from previous studies have already shown success with microbial inoculants in legumes and grasses, however little data exists for tropical fruit trees, especially in the production of seedlings. This work aimed to evaluate the action of Amazonian microorganisms in controlling the phytopathogen *Colletotrichum fructicola* and in the rooting of the guarana tree by promoting plant growth. To evaluate the promotion of plant growth, the bacteria were inoculated via rooting of cuttings in the BRS-CG611 cultivar and through seed microbiolization at concentrations of  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> and  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> and planted in a specific substrate. In the biocontrol of anthracnose, the effectiveness of *Burkholderia* sp. endophytic bacteria isolated from *Himatanthus sucuuba*, was evaluated by brushing the bacterial suspension at times 72h, 48h, 24h and on the same day of inoculation of the phytopathogen. The highest percentage of rooting of cuttings with the BRS-CG611 cultivar was promoted by the rhizobacteria *Bacillus* sp. RZ2MS9, however, there was no increase in the root system of the cuttings. Regarding seed germination, the bacteria did not influence the growth of the seedlings. To control the phytopathogen, the inoculation of the endophytic bacterium *Burkholderia* sp. in guarana seedlings of the BRS-Amazonas cultivar, it suppressed the appearance of the disease in the times that preceded the inoculation of the phytopathogen and reduced the lesions caused by *C. fructicola* in the seedlings inoculated at time 0h in relation to the control.

**Keywords:** - *Colletotrichum* - Biological control - Rooting - Guarana.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Formas de comercialização do guaraná .....	155
<b>Figura 2.</b> Boxplot do efeito dos tratamentos com inoculação bacteriana de <i>Burkholderia</i> sp. (B1), <i>Bacillus</i> sp. RZ2MS9 (Br) e ausência de inoculação - controle (Cr) na porcentagem de mortalidade e enraizamento de estacas de guaranazeiro da cultivar BRS-CG611 .....	366
<b>Figura 3.</b> Efeito fenotípico sobre a arquitetura de raízes de guaranazeiro da cultivar BRS-CG611: (A) Planta sem inoculação bacteriana (Cr); (B) Planta inoculada com a rizobactéria <i>Bacillus</i> sp. RZ2MS9; e (C) Planta inoculada com <i>Burkholderia</i> sp. (B1).....	399
<b>Figura 4.</b> Folhas de guaranazeiro da BRS-Amazonas após o experimento (A) Controle positivo – mudas tratadas apenas com o fitopatógeno <i>Colletotrichum fructicola</i> ; (B) e (C) Mudas tratadas com <i>Burkholderia</i> sp. (B1) + o fitopatógeno <i>C. fructicola</i> no tempo 0h.....	433

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Caracterização por similaridade obtida a partir da comparação de sequências do gene 16S rDNA das estirpes bacterianas com as sequências depositadas no Banco de Dados do GenBank®, utilizando a ferramenta BLASTn .....	344
<b>Tabela 2.</b> Teste de Kruskal-Wallis e <i>post-hoc</i> de Dunn para análise do enraizamento de estacas de guaranazeiro da cultivar BRS-CG611 submetidas à inoculação das bactérias <i>Bacillus</i> sp. RZ2MS9 (Br), <i>Burkholderia</i> sp. (B1) e controle (Cr) - sem inoculação bacteriana.....	36
<b>Tabela 3.</b> Teste de Kruskal-Wallis para análise da promoção do crescimento vegetal em sementes de guaranazeiro inoculadas com as bactérias <i>Bacillus</i> sp. RZ2MS9 e <i>Burkholderia</i> sp. nas concentrações de $1 \times 10^8$ e $1 \times 10^9$ UFC mL <sup>-1</sup> e um controle (sem inoculação bacteriana).....	40
<b>Tabela 4.</b> Teste de Kruskal-Wallis e <i>post-hoc</i> de Dunn para análise da porcentagem da severidade da doença em mudas de guaranazeiro da cultivar BRS-Amazonas submetidas a quatro tempos de inoculação da bactéria <i>Burkholderia</i> sp. antecedendo a inoculação do fitopatógeno e os controles positivo e negativo.....	43

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
2.1	O GUARANAZEIRO .....	14
2.2	VALOR SÓCIO-ECONÔMICO DA ESPÉCIE.....	15
2.3	PROPAGAÇÃO DO GUARANAZEIRO .....	17
2.4	BACTÉRIAS COMO PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL .....	18
2.5	HORMÔNIOS COMO REGULADORES DO DESENVOLVIMENTO VEGETAL .....	20
2.6	ÁCIDO-INDOL-ACÉTICO COMO COFATOR DO ENRAIZAMENTO .....	21
2.7	CONTROLE BIOLÓGICO POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS .....	23
2.8	ANTRACNOSE.....	24
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	27
3.1	OBJETIVO GERAL .....	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	27
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
4.1	MICRORGANISMOS .....	28
4.2	CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR .....	28
4.3	ENSAIOS “IN VIVO” PARA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL .....	29
4.3.1	Preparo dos inóculos bacterianos .....	29
4.3.2	Delineamento experimental .....	29
4.3.3	Plantio e condições de crescimento .....	29
4.3.4	Análise morfológica das mudas.....	30
4.3.5	Bacterização das sementes.....	30
4.3.6	Delineamento experimental.....	31
4.3.7	Plantio e condições de crescimento .....	31
4.3.8	Análise morfológica das mudas.....	31
4.4	ENSAIOS “IN VIVO” PARA O CONTROLE BIOLÓGICO .....	32
4.4.1	Produção de conídios e suspensão bacteriana .....	32
4.4.2	Preparo das mudas.....	32
4.4.3	Delineamento experimental.....	32
4.4.4	Microbiolização da parte aérea.....	32
4.4.5	Avaliação dos sintomas .....	33
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	33

<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	34
5.1 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR.....	34
5.2 ENSAIOS “IN VIVO” PARA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL EM ESTACAS DE GUARANAZEIRO.....	35
5.3 ENSAIOS “IN VIVO” PARA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL EM SEMENTES DE GUARANAZEIRO.....	40
5.4 ENSAIOS “IN VIVO” PARA O CONTROLE BIOLÓGICO .....	42
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	46
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	47
<b>APÊNDICE</b> .....	62

## 1 INTRODUÇÃO

O guaranazeiro [*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke] é uma planta da região Amazônica que possui alto potencial econômico para o Estado, pois seus frutos são geradores de insumos para as indústrias de bebidas em função do seu elevado teor de cafeína. É responsável por movimentar setores biotecnológicos e comerciais, uma vez que o Amazonas é o segundo maior produtor de frutos, ficando atrás somente da Bahia (Souza, 2010; Marques *et al.*, 2019).

A propagação no Estado, e consequentemente a produtividade da cultura pode ser prejudicada pela ocorrência de doenças. Entre os agentes causais de doenças em guaranazeiro temos os fungos, que no campo ou pós colheita, pode reduzir a produção e afetar a qualidade dos produtos (Amorim *et al.*, 2011). Das inúmeras doenças fúngicas que acometem o guaranazeiro, a principal é a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum guaranicola*, a qual limita o desenvolvimento dessa cultura na região. Essa doença ocorre em todas as fases de desenvolvimento da planta, levando à formação de lesões necróticas de coloração marrom-avermelhada nas folhas e também nos frutos, comprometendo o desenvolvimento e a produtividade (Silva *et al.*, 2015).

O controle de patógenos fúngicos, incluindo o *Colletotrichum*, é feito pela seleção de plantas com genótipos tolerantes e aplicação de fungicidas. Porém, o uso indiscriminado de fungicidas pode desbalancear o equilíbrio existente entre os microrganismos e, em algumas cultivares, aumentar a severidade da doença. Esses efeitos podem ser diminuídos com o uso de agentes de controle biológico, tanto com relação à seleção de linhagens resistentes de patógenos, como em relação ao equilíbrio ecológico.

Outro fator que influencia na propagação da cultura é o enraizamento das mudas, devido que as cultivares possuem diferentes capacidades de enraizamento o que pode inviabilizar a multiplicação em larga escala, mesmo que a cultivar tenha um bom potencial produtivo (Atroch *et al.*, 2007).

As bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) possuem habilidades diretas e indiretas para promover o crescimento e desenvolvimento vegetal. Os mecanismos diretos estão relacionados ao aumento da disponibilidade de nutrientes e produção de fitohormônios e os mecanismos indiretos envolvem a inibição de patógenos e indução de resistência sistêmica na planta (Ramakrishna *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021).

Na busca por uma produção agrícola mais sustentável e com redução de custos em insumos, as BPCP são uma alternativa viável em muitos sistemas e culturas agrícolas. Tal

desempenho tem sido relatado em diversos estudos relacionados às habilidades dessas bactérias em promoverem o crescimento vegetal, manter o estado nutricional da planta, conciliando com a redução do uso de insumos químicos (Aloo *et al.*, 2019; Andrade *et al.*, 2023).

Nesse sentido, o presente estudo é considerado de grande importância tanto no biocontrole da antracnose como na produção de mudas de guaranazeiro, pelo fato de ser uma alternativa ao processo atual de enraizamento e às práticas consolidadas na presente cultura. Dessa forma, o objetivo desta pesquisa foi o de avaliar a ação de microrganismos amazônicos no controle do fitopatógeno *C. fructicola*, e no enraizamento do guaranazeiro pela promoção de crescimento vegetal.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O GUARANAZEIRO

O guaranazeiro é uma espécie nativa da Amazônia, cujo fruto é o guaraná. É uma dicotiledônea pertencente à família das Sapindaceae, com 130 gêneros e 2.000 espécies distribuídas em árvores, arbustos e cipós (Souza; Lorenzi, 2008).

O gênero *Paullinia* tem aproximadamente 200 espécies, restrito à essa região com poucas exceções na América tropical e subtropical. A espécie *P. cupana* possui duas variedades botânicas, a variedade *sorbilis* encontrada somente no Brasil, e por isso conhecida como guaraná brasileiro, a qual, é econômica e comercialmente utilizada e conseqüentemente a mais estudada, e a *P. cupana* var. *typica*, o guaraná encontrado na Venezuela e Colômbia (Schimpl *et al.*, 2013; Tricaud; Pinton; Pereira, 2016).

Na Amazônia brasileira, além da *P. cupana*, há mais de oito espécies registradas, incluindo *P. seminuda* Radlk., *P. paullinoides* Radlk., *P. verrucosa* Radlk., *P. rufescens* Rich. ex Juss., *P. caloptera* Radlk., *P. selenoptera* Radlk., *P. pinnata* L. e *P. pseudota* Radlk. ex Warm. (Schmidt, 1941; Trópicos, 2012). Estas espécies ainda não foram bem caracterizadas, mas dependem da relação filogenética com o guaranazeiro, podendo se tornar uma rica fonte de variabilidade genética para fins de reprodução (Atroch, 2009).

Existem controvérsias em relação à origem e distribuição do guaranazeiro. No entanto, o habitat natural parece estar limitado à região da bacia do rio Maués-Açu, que coincide com o território dos índios Sateré Mawé (Schmidt, 1941; Saldaña *et al.*, 2002).

Quanto às suas características botânicas, a planta é um arbusto semiereto e lenhoso. O fruto possui aspectos semelhantes a uma cápsula, onde cada cápsula porta uma semente, que ao ficar madura apresenta coloração vermelho-amarelo. A parte mais comercializada do guaranazeiro, a semente, aparece após o rompimento da casca de cor preta, junto ao arilo de cor branca (Gomes, 2021).

É uma planta adaptada a clima quente e úmido, necessitando de mais de 1300 mm de chuva por ano e temperatura média superior a 21 °C, se adapta melhor aos solos ricos em matéria orgânica, profundos e bem drenados, de textura média. Em seu habitat natural cresce como liana até atingir o estrato superior da floresta, com a domesticação e o cultivo a céu aberto, apresenta-se na forma de arbusto sub ereto com aproximadamente 3,0 m de altura (Arruda, 2007; Ângelo *et al.*, 2010).

## 2.2 VALOR SÓCIO-ECONÔMICO DA ESPÉCIE

A guaranicultura tem importância econômica, social, cultural e ambiental na Amazônia. O Brasil é o único produtor mundial e atende ao mercado nacional e internacional. A área de cultivo do guaranazeiro expandiu-se além da fronteira da Amazônia, sendo plantado comercialmente no Amazonas, Acre, Pará, Rondônia, Mato Grosso e Bahia (Atroch; Cordeiro, 2022).

O atrativo comercial do guaranazeiro está nas suas sementes, que após secas, dão origem a um produto comercial com alto teor de cafeína (2,5 a 6%), cerca de duas a cinco vezes mais que as sementes de café, superando também os teores encontrados no mate (1%) e no cacau (0,7%). As sementes de guaraná ainda apresentam grande quantidade de amido (60% da semente seca), tanino (em torno de 10%), teobromina (0,03 a 0,17%) e teofilina (0,02 a 0,06%), ricas também em fósforo, potássio, ferro, cálcio, tiamina, vitamina A, proteína e açúcares (Miranda; Metzner, 2010; Souza *et al.*, 2010).

Essas sementes possuem propriedades excepcionais, como alimento funcional. As diferentes formas de consumo do guaraná, seja em pó ou na forma de extratos, tem sido estudada na saúde humana por seus efeitos estimulante, anti-inflamatório, antioxidante, anticâncer, hipocolesterolêmico e efeitos antiobesidade; embora muitos estudos sobre dosagens e toxicidade ainda precisam ser elucidados para sua aplicabilidade na saúde humana (Torres *et al.*, 2021).

O guaraná comercial pode ser encontrado de quatro formas diferentes: guaraná em rama (grão torrado); guaraná em bastão (pasta do grão torrado, triturado, pilado e misturado com água em forma de bastão); guaraná em pó (grão torrado e moído); xaropes e essências, sendo está a forma mais disponível no mercado (Majhenic; Skerget; Zeliko *et al.*, 2007).



Figura 1. Formas de comercialização do guaraná  
Fonte: Embrapa (2008)

Apesar do processo de torrefação das sementes, fator que pode diminuir a quantidade de polifenóis, o extrato do guaraná em pó é uma boa fonte de compostos antioxidantes, oferecendo possíveis efeitos benéficos à saúde quando consumidos diariamente (Antunes, 2011; Silva *et al.*, 2015; Machado *et al.*, 2018). A quantidade de cafeína no guaraná em pó pode variar de acordo com a procedência da matéria-prima (região de plantio), o método de cultivo, presença de contaminantes químicos e métodos de secagem (Prado Júnior *et al.*, 2017).

O cultivo de guaranazeiro teve início no estado do Amazonas, no município de Maués, distante 257 km da capital do Estado. O plantio também foi incentivado durante muitos anos em outros Estados como Acre, Pará, Rondônia, Mato Grosso e Bahia. Na década de 1980, Maués representava o polo de produção de guaraná no Brasil, gerando significativa renda por meio das indústrias de bebidas, cosméticas e farmacêuticas (Marques *et al.*, 2019).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB, atualmente, as áreas totais de guaranazeiros destinados a colheita de guaraná são de 10 mil hectares no Brasil, distribuídas principalmente nos estados da Bahia (5.600 ha) e Amazonas (4.025 ha). O principal Estado produtor é a Bahia, que representou 67,0% da produção nacional em 2021, situando-se em 1,8 mil ton, seguido do Amazonas com 23,5% da produção nacional, tendo produzido 643 ton, e a terceira maior produção é obtido pelo estado do Mato Grosso com 6,3% da produção com 172 ton (Conab, 2022).

A produtividade dos guaranazeiros no Amazonas é a mais baixa ( $160 \text{ kg ha}^{-1}$ ) dentre os estados produtores (Ibge, 2021). Existem limitações que influenciam na produtividade do guaranazeiro, tais como: Problemas fitossanitários (ocorrência de pragas e doenças), envelhecimento dos guaranazais, e a carência de pesquisas voltadas para o ecossistema amazônico, sobre o uso correto do solo, manejo de coberturas vegetais e controle de plantas infestantes, além do alto custo dos insumos (Atroch, 2009).

A relevância da produção de guaraná no estado da Bahia, se deve principalmente às condições climáticas favoráveis no desenvolvimento da cultura e produtores que adotam um processo de modernização dos sistemas de cultivo com pacotes tecnológicos modernizantes. Apesar da produtividade no estado da Bahia ser maior, o preço de comercialização da semente de guaraná é menor ( $\text{R\$ } 13,55 \text{ kg}^{-1}$ ) em relação ao Amazonas ( $\text{R\$ } 20,50 \text{ kg}^{-1}$ ) (Conab, 2022). Isso se deve, em grande parte, à comercialização direta da produção do guaraná amazonense com grandes indústrias de refrigerantes localizadas no Estado, as quais não adquirem o produto da Bahia, devido ao alto custo com transporte e encargos (Albertino, 2011).

O Amazonas apresenta recuperação de sua produção, pois a Embrapa Amazônia Ocidental vem trabalhando intensivamente em pesquisas para que ocorra esse aumento de

produtividade de guaranazeiro, com base na distribuição de mudas resistentes a doenças, e implantação de projetos empresariais de cultivo que tendem a adotar padrões agrícolas tecnificados (Atroch, 2009).

Incentivado por práticas agrícolas e novas tecnologias, fruto de pesquisas, o conhecimento sobre a cultura evoluiu nos últimos anos, e esta, apresenta grande potencial socioeconômico para os amazonenses: oferta oportunidades de agronegócios, gera renda para a população rural e permite a cultura permanecer no mesmo meio. O avanço pela demanda do guaraná e a mão de obra envolvida na produção são alternativas para o desenvolvimento do setor agrícola e industrial do Estado (Cravo, 2001; Albertino *et al.*, 2012).

### 2.3 PROPAGAÇÃO DO GUARANAZEIRO

A propagação sexuada tem importância restrita em grande número de frutíferas, sendo a propagação assexuada largamente utilizada na produção de mudas. Isso se deve à necessidade de se garantir a manutenção das características varietais, as quais determinam o valor agrônomo do material a ser propagado, em espécies de elevada heterozigose como as frutíferas (Mendonça *et al.*, 2014). Plantas oriundas da reprodução via sementes podem apresentar grande variabilidade genética, porém, na fruticultura os produtores buscam uniformidade genética na implantação do jardim comercial (Franzon *et al.*, 2010).

A produção de mudas de guaranazeiro pela utilização de sementes, é dificultada devido as suas características de perder rapidamente a viabilidade, não suportando desidratação acentuada nem baixa temperatura, enquadrando-se no grupo de sementes recalcitrantes, além da alta variabilidade genética entre as plantas, e o longo período para formação de mudas (Carvalho *et al.*, 1982; Pereira, 2005).

O processo de estaquia surge como alternativa para a propagação vegetativa da espécie, possibilitando a reprodução de plantas superiores com as características desejadas, além da padronização do cultivo comercial, já que os indivíduos propagados serão clones do genótipo selecionado e, portanto, desenvolverão as características desejadas no processo de seleção (Mondenezi, 2019).

A estaquia pode propiciar a obtenção de indivíduos idênticos à planta matriz, mas também tem o potencial de aumentar a obtenção de tecidos juvenis, a uniformidade e vigor na produção, maximizando o potencial de estabelecimento quando levadas à campo, podendo ainda ser uma ferramenta importante para a propagação de espécies de difícil enraizamento (Tosta *et al.*, 2012; Badilla *et al.*, 2016).

O sucesso no processo de propagação vegetativa está relacionado a vários fatores como escolha da técnica utilizada, qualidade do material biológico, tipo de estacas, substrato, facilidade de enraizamento, regulador de crescimento, concentração do regulador e estações do ano (Rios *et al.*, 2012; Stuepp *et al.*, 2015).

É considerada a técnica de maior viabilidade econômica para o estabelecimento de plantios clonais, visto que plantas inicialmente bem desenvolvida e de rápido estabelecimento podem reduzir custos e maximizar o sistema produtivo (Silva, 2018), os indivíduos propagados vegetativamente também são capazes de produzir precocemente e mostram maior sobrevivência no estabelecimento inicial. Essa técnica também é utilizada para a propagação de plantas ornamentais, espécies florestais e na fruticultura (Hartmann *et al.*, 2011).

#### 2.4 BACTÉRIAS COMO PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL

Dentre as Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas – BPCPs estão incluídas as bactérias de vida livre no solo próximo às raízes, as rizobactérias, bactérias endofíticas e epifíticas (Ramakrishna *et al.*, 2019), que além de possuírem uma grande influência no crescimento das plantas, também podem ser uma fonte importante de compostos bioativos (Abdallah *et al.*, 2019).

Alternativas sustentáveis de baixo custo são observadas em diversas plantas, pela substituição parcial ou integral de nutrientes minerais pelo uso de microrganismos. Esses microrganismos apresentam alta diversidade de capacidades bioquímicas, executando processos como Fixação Biológica de Nitrogênio - FBN, produção de fitohormônios (auxinas, giberelinas e citocininas), solubilização de fosfato, sideróforos, reduzindo a aplicação de fertilizantes químicos, entre outros (Hungria *et al.*, 2011; Florentino *et al.*, 2017; Alori; Babalola, 2018) além da ação antagônica aos fitopatógenos do solo e a resistência ao estresse abiótico e biótico (Afzal *et al.*, 2019; Camaille *et al.*, 2021).

As rizobactérias representam o grupo mais conhecido das BPCPs. Isso ocorre, pois elas contribuem no crescimento das plantas por meio de regulação dos níveis hormonais, aquisição de recursos nutricionais e biocontrole de diferentes patógenos, além de reduzir a produção de etileno, possibilitando que as plantas desenvolvam uma raiz mais longa e melhor se estabeleçam no início do desenvolvimento (Zandi; Basu, 2016; Bhattacharyya *et al.*, 2020).

No caso das bactérias endofíticas é relevante ressaltar que elas colonizam os tecidos internos das plantas, onde não causam alterações morfológicas e nem causam doenças, sendo

capazes de exercer prontamente um efeito benéfico, tendo em vista que se encontram em contato direto com as células vegetais (Malfanova *et al.*, 2013; Santoyo *et al.*, 2016).

A produção de hormônios vegetais pode regular o crescimento, além de diversos aspectos da fisiologia vegetal, como senescência e dominância apical, apesar das plantas produzirem os próprios hormônios, a quantidade produzida não supre a demanda interna, necessária para seu desenvolvimento (Odoh, 2017).

Dentre os hormônios vegetais mais ligados ao incremento vegetal está o grupo das auxinas, sendo seu principal representante o ácido indol-3-acético (AIA), responsável pela regulação da divisão celular, expansão, diferenciação celular, e polarização, além de desenvolvimento de órgãos, como raiz lateral, adventícia e dominância apical (Ludwig-Müller, 2015).

Quanto à FBN, é um processo realizado por algumas espécies de bactérias de fundamental importância no fornecimento de nitrogênio para determinados grupos de plantas (Soumare *et al.*, 2020). Nesse processo, o N<sub>2</sub> presente no ar é convertido em sua forma amoniacal, tornando-o disponível para a absorção vegetal (Zgad Zaj *et al.*, 2016).

O fósforo é outro elemento essencial para o desenvolvimento das plantas, e quando aplicado na sua forma solúvel, é perdido por se ligar fortemente às partículas de solo, tornando-se em grande parte, insolúvel e indisponível às plantas (Odoh, 2017). Dessa forma, a ação de microrganismos solubilizadores de fosfatos se dá pela disponibilização desse mineral na sua forma solúvel, na solução do solo (Sharma *et al.*, 2011). A mineralização de fosfatos orgânicos, ou a mobilização da forma orgânica para inorgânica também é um mecanismo microbiano, que torna possível a absorção do nutriente pela planta (Singh *et al.*, 2011).

Outra estratégia utilizada por esses microrganismos é o controle biológico de fitopatógenos. Dentre os mecanismos utilizados para o controle biológico, estão a produção de antibióticos que consiste em uma forma direta de controle, sendo que bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Streptomyces* e *Pseudomonas* (Postma *et al.*, 2009; Shao *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2015) são descritos como produtores. Além da competição por nicho e nutrientes (Odoh, 2017), já que são capazes de colonizar rapidamente a rizosfera ou filosfera utilizando os nutrientes disponíveis e se desenvolvendo no espaço disponível, não possibilitando, aos patógenos, chance de estabelecimento, impedindo desta forma o desenvolvimento da doença (Pahari; Mishra, 2017).

Apesar de vários estudos terem comprovado a eficiência desses microrganismos em leguminosas e gramíneas, poucos foram empreendidos no que se relaciona à resposta de inoculação de bactérias em frutíferas tropicais (Weber *et al.*, 1999; Weber *et al.*, 2003),

sobretudo na produção de mudas (Fernandes *et al.*, 2013). Estes resultados apontam para um cenário igualmente promissor para o desenvolvimento de inoculantes para frutíferas, já que essas bactérias têm apresentado resultados satisfatórios (Baldotto *et al.*, 2010).

Além de todas as vantagens econômicas, o uso de microrganismos como bioinoculantes tem importância ambiental, pois contribui para o aumento da produtividade de maneira sustentável. Tal utilização evita a degradação de solos, causada pelo uso indiscriminado de fertilizantes e defensivos agrícolas, permitindo também a produção de alimentos de qualidade, reduzindo custos para o produtor. Evita ainda a eutrofização dos ambientes aquáticos, por reduzir a quantidade de nutrientes lixiviados, e também contribui reduzindo a emissão de gases necessários para a produção de adubos nitrogenados, cujo consumo de energia é bastante dispendioso (Rodrigues, 2016).

## 2.5 HORMÔNIOS COMO REGULADORES DO DESENVOLVIMENTO VEGETAL

As dificuldades do enraizamento de estacas constituem um dos mais sérios problemas envolvendo a participação do ambiente como também os fatores relacionados à própria planta, sendo assim, a busca por técnicas auxiliares e sustentáveis torna-se de grande importância, como os reguladores de crescimento, proporcionando melhoria do enraizamento (Gontijo *et al.*, 2003).

Segundo Botin e Carvalho (2015) os hormônios vegetais, também conhecidos como fitormônios, são responsáveis pelo crescimento, diferenciação, regulação da intensidade e orientação do crescimento, sendo eles: auxinas, giberelinas, citocininas e etileno.

Estes podem ser tanto naturais quanto sintéticos, e podem ser aplicados diretamente nas plantas, alterando seu balanço hormonal, de modo que haja alteração na germinação, emergência e desenvolvimento inicial das plantas, promovendo alongamento do caule, divisão celular em tecidos, crescimento de frutos, abscisão foliar, indução de florescimento, e etc. (Ruedell *et al.*, 2013).

As auxinas são sintetizadas principalmente em folhas jovens onde promovem a expansão celular e se movem a longas distâncias através do floema até as raízes, onde promovem ramificações (Malfanova *et al.*, 2013; Paque; Weijers, 2016). O ácido indol-3-acético (AIA) é a auxina mais abundante, e considerada de maior relevância pelos fisiologistas vegetais (Cassel *et al.*, 2021). Muitos processos são controlados por este hormônio vegetal, sendo eles: alongamento do caule, dominância apical, formação das raízes, desenvolvimento de

frutos e crescimento orientado ou tropismo. Nenhuma planta é capaz de se desenvolver com deficiência de auxina (Taiz; Zeiger, 2017).

Consideradas as principais substâncias indutoras do enraizamento adventício, as auxinas estimulam a síntese de etileno, favorecendo assim a emissão de raízes principalmente para espécies de difícil enraizamento (Hartmann *et al.*, 2002). Elas são empregadas de diferentes formas e quantidades nas estacas caulinares, principalmente por meio de imersão em solução concentrada, ou imersão em pó, cujo concentrado é misturado com talco inerte favorecendo o enraizamento (Xavier *et al.*, 2009).

Tratar as estacas com auxinas, além de estimular a iniciação radicular promove o aumento da porcentagem de estacas enraizadas, acelera o tempo de formação das raízes e conseqüentemente diminui a permanência das estacas no leito de enraizamento (Miranda *et al.*, 2004). Essas substâncias, além de acelerarem o processo de enraizamento, melhoram a qualidade das raízes formadas, produzindo mudas com uniformidade.

Para Fronza e Hamann (2015) as principais auxinas empregadas na propagação de mudas é a auxina natural AIA, e as auxinas sintéticas como ácido indol-3-butírico (AIB), ácido naftaleno acético (ANA) e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético.

No que tange às giberelinas, essas moléculas promovem efeitos similares às auxinas. Uma das diferenças é que as giberelinas quase não apresentam efeitos em segmentos de plantas (Peixoto, 2011), no entanto, desempenham funções biológicas, que incluem germinação de sementes, mobilização das reservas do endosperma, crescimento da parte aérea, floração, partenocarpia, senescência e abscisão (Vieira *et al.*, 2010).

As citocininas além da função da divisão celular está ligada a outras atribuições na fisiologia das plantas como mobilização de nutrientes, retardo na senescência foliar, síntese de clorofilas, desenvolvimento floral, expansão de folhas e cotilédones, germinação de sementes, dominância apical, formação e atividade de meristemas apicais e superação de dormência de gemas (Taiz; Zeiger, 2013; Fagan *et al.*, 2015).

Envolvido no desenvolvimento de raiz e parte aérea, o etileno é o hormônio que participa na maturação e senescência de frutos, abscisão de folhas, quebra de dormência entre outros processos de desenvolvimento da planta. Sua produção ocorre em resposta a estresses bióticos e abióticos. Por ser um gás, esse hormônio não se desloca através de vasos condutores e sim por difusão através dos espaços entre as células do tecido vegetal (Taiz; Zeiger, 2017).

## 2.6 ÁCIDO-INDOL-ACÉTICO COMO COFATOR DO ENRAIZAMENTO

A auxina (do grego 'auxein', que significa crescer) foi o primeiro hormônio vegetal a ser descoberto, identificado primeiramente como AIA, é o fitormônio mais estudado e o mais produzido por bactérias (Navarro *et al.*, 2006).

Apesar de ser reconhecida como molécula de origem vegetal, existem diversas populações bacterianas com capacidade de sintetizar fitormônios que incluem ácido indol-3-acético (auxina), giberelinas ou citocininas (Bottini *et al.*, 2004; Tsavkelova *et al.*, 2006). Zakhavora *et al.* (1999) verificaram que 80% das bactérias isoladas da rizosfera são capazes de produzir AIA. Considerando que essa substância não funciona como um hormônio em células bacterianas, esta habilidade pode ter evoluído devido a sua importância na relação bactéria-planta (Patten; Glick, 2002). Portanto, as bactérias podem intervir na produção e regulação de hormônios vegetais e serem determinantes do fenótipo da planta. Os fitormônios neste contexto podem assumir o papel de componentes chaves nas interações planta-microrganismo.

O AIA liberado por bactérias promotoras de crescimento estimula o aumento da superfície radicular e, conseqüentemente maior absorção de nutrientes do solo. Assim, a produção de AIA resulta em um afrouxamento das paredes celulares e aumento da exsudação, a qual proporciona nutrientes adicionais para suportar o crescimento de bactérias na rizosfera (Glick, 2012), além de poder ocasionar o desenvolvimento dos vegetais, ele também atua na defesa contra patógenos, porque favorece o aumento da espessura da parede celular do vegetal, formando uma barreira física em combate a fitopatógenos, ou seja, é capaz de impedir a entrada de fitopatógenos através das células radiculares, além de participar da regulação de genes de defesa a patógenos (Mohite, 2013).

Plantas e bactérias possuem um alto grau de similaridades em rotas biossintéticas do AIA, por exemplo, ambas, plantas e bactérias produzem o AIA pela rota do ácido indol-3-pirúvico, no entanto, bactérias benéficas ao crescimento vegetal podem sintetizar auxina através de rotas alternativas dependentes e não dependentes de triptofano, utilizando mais de uma rota biossintética do AIA (Patten; Glick, 2002; Spaepen *et al.*, 2007). A produção e a concentração de triptofano nos exsudatos radiculares variam com as espécies de plantas (Patten; Glick, 1996).

Nas plantas, as raízes são as partes mais sensíveis a variações da quantidade de AIA, em condições de acúmulo de AIA exógeno nos tecidos radiculares, os vegetais respondem com o alongamento das raízes primárias, formação de raízes laterais e adventícias, estimuladas em baixas concentrações do hormônio, e verificada a inibição do crescimento em concentrações mais elevadas (Patten; Glick, 2002).

Muitos gêneros de bactérias como *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Pantoea* e *Streptomyces* são relatados como

produtores de hormônios (Imada *et al.*, 2017; Marag; Suman, 2018). De acordo com Batista (2012) ao inocular em ensaios *in vivo* rizobactérias como *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*, observou que ambas promoveram aumento significativo do peso seco da raiz e da parte aérea de plantas de milho. Devido à capacidade das rizobactérias de promover a formação de raízes e promoção de crescimento, elas também passaram a ser avaliadas em estacas de oliveira. No Brasil, Silva *et al.* (2017) e Mariosa *et al.* (2017) foram as primeiras a realizarem estudos utilizando essa capacidade das bactérias, ambas obtendo resultados positivos promissores no enraizamento das estacas de oliveiras, quando comparados ao AIB.

Muitos estudos utilizando reguladores vegetais têm sido descritos, porém quando se trata da utilização de microrganismos na produção de mudas ainda são poucos os estudos relacionados, no Brasil e no mundo (Mariosa *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2017).

O desenvolvimento de inoculantes com rizobactérias pode contribuir com a agricultura sustentável, não somente no âmbito de reduzir o uso de fertilizantes e agrotóxicos no campo (Adesemoye; Kloepper, 2009), devido às propriedades biofertilizantes e biopesticidas das rizobactérias (Martínez-Viveros *et al.*, 2010; Bhattacharyya; Jha, 2012), mas também aliando a sua capacidade fitoestimuladora na indução do enraizamento adventício, já que os efeitos ambientais e na saúde humana provenientes da utilização do hormônio sintético AIB não são suficientemente conhecidos (National Organic Standards, 2013).

## 2.7 CONTROLE BIOLÓGICO POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS

O crescimento na produção de alimentos culmina no aumento do uso de agrotóxicos e fertilizantes químicos, ambos ambientalmente prejudiciais. Fertilizantes fosfatados e nitrogenados, bem como agrotóxicos, podem causar sérios impactos ambientais como lixiviação, poluição do ar, contaminação de lençóis freáticos e alteração da biodiversidade (Rani *et al.*, 2021).

Fitopatógenos são responsáveis por uma perda substancial na qualidade e quantidade da produção agrícola em todo o mundo (Savary *et al.*, 2019). Para minimizar o efeito de fitopatógenos na agricultura, o crescente uso de agroquímicos tornou-se realidade no Brasil (Brasil, 2016). O controle biológico, ainda é pouco utilizado por produtores, e consiste na utilização de microrganismos benéficos para minimizar o ataque e severidade de doenças em plantas (Oliveira *et al.*, 2015; Schäfer, 2017).

O controle biológico apresenta algumas vantagens: a redução de exposição dos produtores e técnicos aos defensivos agrícolas; ausência de resíduos nos alimentos; baixo risco

de poluição ambiental; ausência de período de carência entre a liberação ou aplicação do inimigo natural e a colheita, apreciação pelo mercado que demanda produtos livres de defensivos agrícolas, e principalmente, a seletividade aos inimigos naturais (Júnior, 2020).

Microrganismos como bactérias têm a capacidade de produzir compostos antimicrobianos que ajudam a competir por nutrientes e espaço em um determinado habitat, os mesmos podem ser utilizados como bioinoculantes no controle de fitopatógenos, sendo uma estratégia de controle mais barata que a utilização de produtos químicos, além de ter efeitos positivos ao promover o crescimento de plantas (Rahman *et al.*, 2018; Cesa-Luna *et al.*, 2020). Os gêneros bacterianos mais estudados capazes de produzir estas substâncias inibitórias são *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia* e *Burkholderia* (Cesa-Luna *et al.*, 2020).

A efetividade de bactérias endófitas como agentes de controle biológico depende de muitos fatores tais como a especificidade da planta hospedeira, a dinâmica de população e padrão de colonização da planta, a habilidade para mover-se dentro dos tecidos da planta e a habilidade para induzir resistência sistêmica (Melnick *et al.*, 2008).

Dentro do controle biológico de doenças, o uso de microrganismos endofíticos tem gerado bons resultados (Aravind *et al.*, 2010; Melnick *et al.*, 2011). De acordo com Souza *et al.* (2015), 113 isolados bacterianos endofíticos de plantas saudáveis de *Echinodorus scaber* Rataj (chapéu de couro) foram testadas quanto à sua potencialidade como agentes de biocontrole frente a cinco fitopatógenos pós-colheita de grãos de soja. O potencial inibitório das linhagens bacterianas testadas resultou na redução de aproximadamente 100% do crescimento dos cinco fitopatógenos, constituindo uma excelente ferramenta de controle biológico. Segundo Nascimento (2017), 219 isolados bacterianos endofíticos de *Himatanthus sucuuba* foram testados como agentes de biocontrole frente a três fitopatógenos do gênero *Colletotrichum* sp., e estas linhagens apresentaram uma redução do crescimento micelial de aproximadamente 90% dos três fitopatógenos avaliados.

Endófitos de crescimento rápido têm grande potencial de serem utilizados no controle biológico, uma vez que são capazes de colonizar nichos específicos e inibir, por competição ou antibiose, o desenvolvimento dos fitopatógenos (Azevedo; Araújo, 2007).

## 2.8 ANTRACNOSE

A antracnose é causada por um complexo de fungos do gênero *Colletotrichum*. A fonte de inóculo são restos culturais e a própria planta em campo com folhas, caule e frutos

infectados. Os esporos produzidos pelo fungo, dependem da água para infecção e a sua disseminação pode ocorrer por meio da água da chuva, por correntes de ar, ferimentos nos frutos, causados por insetos e equipamentos de cultivo que favorecem a penetração do fungo, nos diversos órgãos da planta (Santos Filho; Oliveira, 2021). O gênero é distribuído em todas as regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo, podendo infectar uma ampla gama de plantas (Cannon *et al.*, 2012).

É considerado um dos gêneros de maior importância em relação a patógenos de plantas. São várias as espécies pertencentes a este gênero e que ataca grande variedade de culturas em todo o mundo, entre elas, cereais, legumes e frutas (Bonett *et al.*, 2012).

A doença é considerada cosmopolita sendo encontrada em citrus, mamão, morango, guaraná, banana, goiaba, maracujá, ameixa, entre outros. Ataca todos os órgãos da parte aérea, causando apodrecimento (nas folhas, frutos e órgãos reprodutivos) ou crestamento (folhas e ramos) (Fisher *et al.*, 2005; Bulhões, 2012).

No ano de 2012 esse gênero foi classificado como o oitavo grupo mais importante de fungos fitopatogênicos do mundo, baseado em perspectivas científicas de significância econômica (Dean *et al.*, 2012).

A sintomatologia da doença é caracterizada por manchas necróticas com coloração escura e bordos definidos, queima e queda das flores e frutos. Pode também ocorrer o tombamento de plantas jovens, cancro e secamento de ramos. As manchas são escuras e deprimidas nos ramos, causando a seca dos ramos ponteiros. Quando a doença ataca os botões florais, ocorre a abscisão ou seca e compromete o desenvolvimento do fruto, causando podridão. No fruto, o fungo causa um escurecimento da polpa, seguido de podridão e consequentemente queda (Damm *et al.*, 2018).

É favorecida por umidade alta e temperaturas entre 25 e 30 °C. Períodos de chuva favorecem o rápido desenvolvimento da doença. Em áreas sem ocorrência da doença, o inóculo primário provem de mudas contaminadas. Em áreas contaminadas, o inóculo é o próprio solo e restos de cultura, pois o fungo sobrevive por mais de nove meses nestes locais (Santos *et al.*, 2015).

Um dos fatores limitantes da cultura do guaranazeiro no estado do Amazonas é a antracnose. Essa doença é causada pelo fungo *C. guaranicola* e pode destruir até 80% das áreas cultivadas (Muniz *et al.*, 2011).

No guaranazeiro a doença é caracterizada pelo aparecimento de lesões necróticas arredondadas de cor laranja na superfície das folhas. Lesões foliares típicas da antracnose no

guaranazeiro também são colonizadas por outros patógenos e microrganismos que se aproveitam das condições ambientais criadas pelos fitopatógenos (Newton *et al.*, 2010).

O *Colletotrichum* é encontrado tanto em guaranazeiros doentes, quanto sadios. Isso poderia indicar que existem fungos do gênero que não são danosos à planta, ou então que a doença só ocorreria se houvessem condições favoráveis para sua manifestação (Costa Neto, 2009).

O controle da antracnose deve ocorrer ainda no campo, seguido de cuidados essenciais e preventivos na pós-colheita. Visando reduzir a quantidade de inóculo no campo, o controle da doença é realizado basicamente com tratamento químico e práticas culturais. O tratamento pós-colheita dos frutos é uma forma de controlar o micélio quiescente e protegê-los de infecções secundárias, durante o armazenamento e transporte para os mercados consumidores, sendo que as medidas de controle são constituídas principalmente de fungicidas. Entretanto, os efeitos residuais e a evolução do patógeno em relação à resistência aos fungicidas têm despertado a atenção dos pesquisadores na procura de métodos alternativos de controle, tais como uso de biofungicida, extratos vegetais, óleos essenciais e indutores de resistência (Ventura *et al.*, 2003; Bonett *et al.*, 2010).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ação de microrganismos amazônicos no controle do fitopatógeno *Colletotrichum fructicola*, e no enraizamento do guaranazeiro pela promoção de crescimento vegetal.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Testar a ação de bactérias amazônicas em promover o crescimento vegetal do guaranazeiro pelo método de propagação vegetativa;

Determinar o efeito da inoculação de bactérias amazônicas sobre a germinação de sementes de guaranazeiro;

Avaliar o uso de bactéria endofítica de *Himatanthus sucuuba* em promover proteção às plantas de guaranazeiro frente ao fitopatógeno *C. fructicola*.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MICRORGANISMOS

As estirpes bacterianas utilizadas nesse trabalho, foram pré-selecionadas quanto ao potencial de biocontrole do *Colletotrichum* do guaranazeiro em testes *in vitro* e promoção de crescimento a partir da produção do fitormônio AIA (Batista, 2012; Nascimento, 2017). Foram utilizadas duas estirpes bacterianas: uma endofítica, isolada de folhas de *H. sucuuba* depositada no Laboratório de Princípios Bioativos de Origem Microbiana/LPBOM, localizado na Faculdade de Ciências Agrárias/FCA da Universidade Federal do Amazonas/UFAM, identificada pelo código B1, e uma rizobactéria, obtida de solo rizosférico de plantas de guaranazeiro cedida da Coleção Microbiana do Laboratório de Genética de Microrganismos da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, identificado pelo código RZ2MS9.

O fitopatógeno *C. fructicola* identificado por Casas (2021), foi isolado de folhas de guaranazeiro, apresentando lesões necróticas e depositado na Coleção de Culturas do Laboratório de Fitopatologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA. A patogenicidade do microrganismo foi comprovada por meio do Postulado de Koch (Bezerra, 2017).

### 4.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

As linhagens bacterianas foram identificadas por meio do sequenciamento do gene 16S rDNA. O DNA genômico dos isolados, foi extraído seguindo o método descrito por Mota, Back-Brito e Nóbrega (2009), modificado. O gene 16S rDNA foi amplificado por meio da técnica PCR, usando o par de *primer* bacteriano 27F (5' - AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG - 3') e 1492R (5' - GGT TAC CTT GTT ACG ACTT - 3') (Lane, 1991).

A reação de amplificação foi realizada em termociclador MyGenie 96 Thermal Block da Bioneer, programado para realizar desnaturação inicial a 94 °C por 3 minutos, 30 ciclos compreendendo desnaturação a 94 °C por 1 minuto, anelamento a 56 °C por 1 minuto e extensão a 72 °C por 2 minutos, seguida de extensão final a 72 °C por 7 minutos. O produto das reações foi analisado em gel de agarose (1% p/v) para visualização dos fragmentos.

As sequências obtidas a partir do gene 16S rDNA pelo sequenciamento foram utilizadas para identificação dos isolados, por meio do Banco de Dados NCBI (*National Center for*

*Biotechnology Information* – <http://ncbi.nlm.nih.gov>), utilizando a ferramenta BLASTn. Foram consideradas sequências com dissimilaridades menor ou igual a 3% com as do Banco de Dados.

### 4.3 ENSAIOS “IN VIVO” PARA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL

#### 4.3.1 Preparo dos inóculos bacterianos

Para inoculação das bactérias nas estacas, 1 mL de suspensão celular das linhagens bacterianas ( $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>) foram inoculados em frascos *Erlenmeyer* contendo 1 L de meio de cultura líquido Luria-Bertani (LB), agitado constantemente por aproximadamente 6 horas a 28 °C, até atingir a fase log que corresponde a  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>. A concentração da suspensão bacteriana foi determinada pela absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda de ( $\lambda$ ) 600 nm (Batista, 2012).

#### 4.3.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos: estacas da cultivar BRS-CG611 tratadas com suspensão bacteriana de *Bacillus* sp. RZ2MS9 (Br); com suspensão bacteriana de *Burkholderia* sp. (B1); e estacas sem inoculação bacteriana, somente aplicação de água destilada autoclavada, consistindo no controle (Cr). Foram utilizadas sete repetições e dez estacas por repetição para cada tratamento.

#### 4.3.3 Plantio e condições de crescimento

O experimento foi conduzido no campo experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, localizada no km 29 da rodovia AM-010, Manaus – Amazonas. Os ramos de guaranzeiro para confecção das estacas, foram coletados da cultivar BRS-CG611 no mês de setembro/2022 (época que a cultivar estava em floração) nas primeiras horas da manhã, afim de diminuir a perda de água do material, transportados para o viveiro, para o preparo das estacas. As estacas não apresentavam uniformidade em relação ao tamanho e espessura dos propágulos, já que isso varia de acordo com os entrenós dos ramos. Cada estaca continha um par de folíolos que foram reduzidos pela metade, cortadas em bisel e imersos nas suspensões bacterianas por 30 minutos. Os controles consistiram de estacas imersas em água destilada autoclavada, mantidas durante o

mesmo período. Foram plantadas em sacos pretos (23 x 18 x 0,15 cm) com substrato composto de terriço e areia (4:1 v/v) e acondicionadas em viveiro por 120 dias. A adubação foi realizada a cada 30 dias conforme indicação para a cultura (Pereira, 2005). As estacas foram mantidas sob nebulização intermitente, no período de setembro/2022 a janeiro/2023.

#### 4.3.4 Análise morfológica das mudas

Após 120 dias no viveiro sob influência dos tratamentos, as estacas foram separadas do substrato por lavagem em água corrente e agitação manual para análise dos caracteres morfológicos do sistema radicular. As características analisadas foram: porcentagem de estacas mortas (sem formação de calos ou raízes), porcentagem de estacas com calo (estacas vivas, com formação de massa celular indiferenciada na base e sem raízes), porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes, volume das raízes (mL) e peso da matéria fresca e seca das raízes (g).

Todas as raízes foram cortadas rente ao ponto de inserção na estaca e, posteriormente, contadas e medidas. O volume foi medido pelo deslocamento de água provocado pela introdução das raízes em proveta graduada. A massa da matéria seca foi obtida por meio da secagem das raízes em estufa a 70 °C até peso constante (Albertino *et al.*, 2012).

#### 4.3.5 Bacterização das sementes

Para a bacterização das sementes foi utilizado 1 mL de suspensão celular das linhagens bacterianas em duas concentrações diferentes, configurando os seguintes tratamentos: sementes de guaranazeiro tratadas com suspensão bacteriana de *Bacillus* sp. RZ2MS9 na concentração  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>; sementes de guaranazeiro tratadas com suspensão bacteriana de *Bacillus* sp. RZ2MS9 na concentração  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup>; sementes de guaranazeiro tratadas com suspensão bacteriana de *Burkholderia* sp. na concentração  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>; sementes de guaranazeiro tratadas com suspensão bacteriana de *Burkholderia* sp. na concentração  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup>; além do controle com ausência de inoculação bacteriana.

A inoculação foi realizada em frascos *Erlenmeyer*, contendo 100 mL de meio de cultura líquido Luria-Bertani (LB), sendo agitados constantemente até atingir as concentrações  $1 \times 10^8$  e  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup>, respectivamente. A concentração da suspensão bacteriana foi determinada por absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda de ( $\lambda$ ) 600 nm. Sementes de

guaranazeiro foram imersas nas suspensões bacterianas e mantidas sob agitação em *Becker* de 500 mL, a 120 rpm por aproximadamente 30 min a 28 °C. Os controles consistiram em sementes de guaranazeiro imersas em água destilada autoclavada sob as mesmas condições descritas acima.

#### **4.3.6 Delineamento experimental**

O delineamento experimental aplicado foi o DIC em esquema fatorial (2 linhagens bacterianas x 2 concentrações + controle), com seis repetições por tratamento, totalizando 30 parcelas, contendo dez sementes em cada parcela.

#### **4.3.7 Plantio e condições de crescimento**

O plantio seguiu metodologia descrita por Gama (2015), com modificações. As sementes foram cedidas pela Embrapa Amazônia Ocidental. Antes de serem submetidas aos tratamentos, houve a retirada da casca e arilo das sementes em água corrente, seguida da imersão nas suspensões bacterianas e posteriormente semeadas com o auxílio de uma pinça em células de bandejas preenchidas previamente com areia umedecida, mantidas em casa de vegetação e irrigadas a cada dois dias sem a adição de nenhuma solução nutritiva. Esse ensaio foi conduzido em casa de vegetação instalada na Estação Experimental da FCA/UFAM no mês de novembro/2022.

#### **4.3.8 Análise morfológica das mudas**

Após 120 dias em casa de vegetação sob influência dos tratamentos, as plântulas foram separadas do substrato por lavagem em água corrente e agitação manual para análise dos caracteres morfológicos do sistema radicular e parte aérea. As características analisadas foram: germinação (%), número de folhas, volume das raízes (mL), número de raízes, comprimento das raízes (cm), massa fresca e seca das raízes, altura das plântulas (cm) e massa fresca e seca da parte aérea (g).

Todas as raízes foram cortadas rente ao ponto de inserção das plântulas e, posteriormente, contadas e medidas. O volume foi medido pelo deslocamento de água provocado pela introdução das raízes em proveta graduada. A massa da matéria seca foi obtida por meio da secagem das raízes em estufa a 70 °C até peso constante (Albertino *et al.*, 2012).

## 4.4 ENSAIOS “IN VIVO” PARA O CONTROLE BIOLÓGICO

### 4.4.1 Produção de conídios e suspensão bacteriana

O fitopatógeno *C. fructicola* foi cultivado em placas de Petri por sete dias em meio Cenoura Dextrose Ágar (CDA) a 28 °C. Em cada placa foram adicionados 10 mL de água destilada esterilizada com *Tween* 80 1% e realizada fricção na superfície do meio com pincel de cerdas macias para liberação dos conídios. Os conídios foram quantificados utilizando câmara de *Neubauer* e a suspensão foi ajustada para a concentração de  $1 \times 10^6$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ . As bactérias foram multiplicadas e incubadas em meio LB a 28 °C por 48 horas, para posterior inoculação. As suspensões de células bacterianas foram padronizadas em  $1 \times 10^9$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  (Alfenas; Mafia, 2007; Shiomi *et al.*, 2015).

### 4.4.2 Preparo das mudas

As mudas de guaranazeiro utilizadas no ensaio foram da cultivar BRS-Amazonas adquiridas no município de Maués. O substrato utilizado foi composto por terriço e areia (4:1 v/v) e a adubação mineral foi feita com ureia ( $0,56 \text{ kg m}^{-3}$ ), KCl ( $0,3 \text{ kg m}^{-3}$ ) e Fte Br12 ( $0,2 \text{ kg m}^{-3}$ ). Cerca de 3 kg de substrato foram adicionados em cada saco preto e a adubação de cobertura foi feita mensalmente seguindo as recomendações para a cultura (Pereira, 2005). As mudas foram acondicionadas em casa de vegetação localizada na Área Experimental da FCA/UFAM.

### 4.4.3 Delineamento experimental

Foi adotado um delineamento experimental DIC, com seis tratamentos e cinco repetições, contendo três plantas por repetição. Os tratamentos consistiram em quatro tempos de inoculação da bactéria *Burkholderia* sp. antecedendo a inoculação do fitopatógeno, um controle positivo (inoculação do fitopatógeno) e outro negativo (inoculação de água destilada autoclavada).

### 4.4.4 Microbiolização da parte aérea

A microbiolização das mudas, foi realizada de acordo com Shiomi *et al.* (2015), com modificações. As mudas utilizadas nesse ensaio possuíam entre três a quatro folhas completas com folíolos recém-lançados e completamente expandidos. A aplicação das bactérias ocorreu em quatro períodos diferentes: 72h, 48h, e 24 horas antes e no mesmo dia da inoculação do fitopatógeno, pelo pincelamento da suspensão dos antagonistas até o ponto de escorrimento em uma folha jovem (folha composta de cinco folíolos). Foram inoculados 1 mL da suspensão em cada folíolo. O controle positivo consistiu do pincelamento de uma folha de cada muda apenas do pincelamento do fitopatógeno. O controle negativo consistiu do pincelamento de uma folha de cada muda apenas com água destilada esterilizada. Antes e após a inoculação, as plantas foram submetidas a 24 horas de incubação em câmara úmida e foram mantidas sob irrigação diária, até o momento da avaliação dos sintomas.

#### **4.4.5 Avaliação dos sintomas**

Avaliação da severidade da doença ocorreu diariamente durante 30 dias conforme a escala diagramática de antracnose em guaranazeiro descrita por Pereira e Araújo (2009).

### **4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Por não atenderem aos pressupostos de normalidade e homocedasticidade foi realizada a análise não paramétrica pelo teste de Kruskal-Wallis para identificação de diferença estatística em pelo menos um tratamento dentro de cada parâmetro avaliado, em seguida, as medianas foram comparadas pelo *post-hoc* de Dunn. Foram utilizados os pacotes estatísticos *dplyr* e *rstatix* no *software* R (R Core Team, 2023).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

As bactérias utilizadas nesse estudo foram identificadas por sequenciamento do gene 16S rDNA. Foi utilizado a ferramenta BLASTn para identificação por similaridade destas sequências consultando a base de dados do GenBank® (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (Tabela 1). Não foi possível fazer a identificação das linhagens a nível de espécie, no entanto, de acordo com Batista (2018) a cepa *Bacillus* sp. RZ2MS9 faz parte do grupo do *Bacillus cereus*.

Tabela 1. Caracterização por similaridade obtida a partir da comparação de sequências do gene 16S rDNA das estirpes bacterianas com as sequências depositadas no Banco de Dados do GenBank®, utilizando a ferramenta BLASTn

Isolado	Identificação	Número de Acesso	Similaridade (%)
RZ2MS9	<i>Bacillus</i> sp.	MN220627.1	100
B1	<i>Burkholderia</i> sp.	MN121848.1	100

A rizobactéria *Bacillus* sp. RZ2MS9 foi isolada da rizosfera de guaranazeiro amazônico e possui a capacidade de promover o crescimento de soja e milho. Através de ensaios *in vitro*, a linhagem foi constatada como produtora de AIA, e esse mecanismo foi sugerido como contribuidor da promoção do crescimento vegetal (Batista, 2012, 2018). Além de gerar incremento significativo de cerca de 25% no peso seco da parte aérea, comprimento total das raízes e comprimento de raízes laterais de plantas anãs de tomateiro Micro-Tom quando comparadas às plantas Micro-Tom não inoculadas (Batista, 2017).

A bactéria endofítica *Burkholderia* sp. B1 foi isolada de folhas de *H. succuba*, e demonstrou potencial *in vitro* quanto à produção de AIA, fixação biológica de nitrogênio (FNB) e no controle biológico de fungos fitopatogênicos do gênero *Colletotrichum* sp. (Nascimento, 2017). Bactérias do gênero *Burkholderia* são capazes de colonizar a rizosfera de milho, trigo, arroz, ervilha, girassol e rabanete, aumentando significativamente o crescimento da planta hospedeira, além de reduzir a presença de patógenos (Coenye; Vandamme, 2003; Chiarini *et al.*, 2006).

## 5.2 ENSAIOS “IN VIVO” PARA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL EM ESTACAS DE GUARANAZEIRO

Estudos mostram que o desenvolvimento das plantas é regulado por um ou mais hormônios vegetais, alguns promovem enquanto outros inibem vários aspectos do desenvolvimento das plantas, podendo os mesmos atuarem sozinhos ou em conjunto. O AIA é o principal hormônio vegetal da classe das auxinas, sendo responsável por induzir diversos efeitos nas plantas como diferenciação dos tecidos vasculares, indução de raízes adventícias e laterais, formação de pelos radiculares e no comprimento de raiz (Raven *et al.*, 2014; Barnawal; Singh; Singh, 2019).

Das bactérias que se associam a plantas, 85% têm capacidade de produzir AIA, estimulando respostas rápidas (aumento no alongamento celular) e respostas a longo prazo (divisão e diferenciação celular) (Lacava; Azevedo, 2013). Dentre os microrganismos com capacidade em promover o crescimento vegetal estão os gêneros *Burkholderia* e *Bacillus* (Tripti *et al.*, 2017).

Com intuito de investigar o potencial biotecnológico que as bactérias apresentaram *in vitro*, e que foi constatado em algumas culturas agrícolas, foi proposto avaliar a influência das linhagens *Burkholderia* sp. B1 e *Bacillus* sp. RZ2MS9 em promover o crescimento de sementes e estacas de guaranazeiro, uma vez que os métodos de propagação da cultura até o momento vigentes, não sejam tão promissores, e precisam ser melhorados e adequados conforme à realidade do produtor.

Desta forma, para o ensaio de propagação vegetativa do guaranazeiro, o teste de Kruskal-Wallis apontou diferença estatística entre os tratamentos apenas para os parâmetros de estacas mortas (sem formação de calos ou raízes) e estacas enraizadas. A comparação entre as medianas pelo *post-hoc* de Dunn revelou que a inoculação bacteriana promove o enraizamento de estacas, reduzindo a perda deste material propagativo pela morte em campo, uma vez que o tratamento controle, sem inoculação bacteriana resultou na maior porcentagem de estacas mortas (60%), seguido pelo tratamento *Burkholderia* sp. (B1) (50%) e *Bacillus* sp. RZ2MS9 (Br) (40%). A bactéria *Bacillus* sp. RZ2MS9 (Br) resultou em maior porcentagem de estacas enraizadas (40%), quando comparada aos demais tratamentos (10%) (Tabela 2, Figuras 2).

Tabela 2. Teste de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn para análise do enraizamento de estacas de guaranazeiro da cultivar BRS-CG611 submetidas à inoculação das bactérias *Bacillus* sp. RZ2MS9 (Br), *Burkholderia* sp. (B1) e controle (Cr) - sem inoculação bacteriana

Parâmetros avaliados	Tratamentos		
	B1	Br	Cr
Estacas sem formação de calos ou raízes (%)	50 b	40 c	60 a
Estacas com formação de calos (%)	30	30	20
Estacas enraizadas (%)	10 b	40 a	10 b
Número de raízes por estacas	5 ns	4 ns	0,561 ns
Volume das raízes (mL)	0,8 ns	0,8 ns	1,0 ns
Massa fresca das raízes (g)	0,764 ns	0,703 ns	1,3 ns
Massa seca das raízes (g)	0,146 ns	0,2 ns	0,1 ns

Nota: ns = não significativo; medianas seguidas de letras diferentes diferem entre si na linha

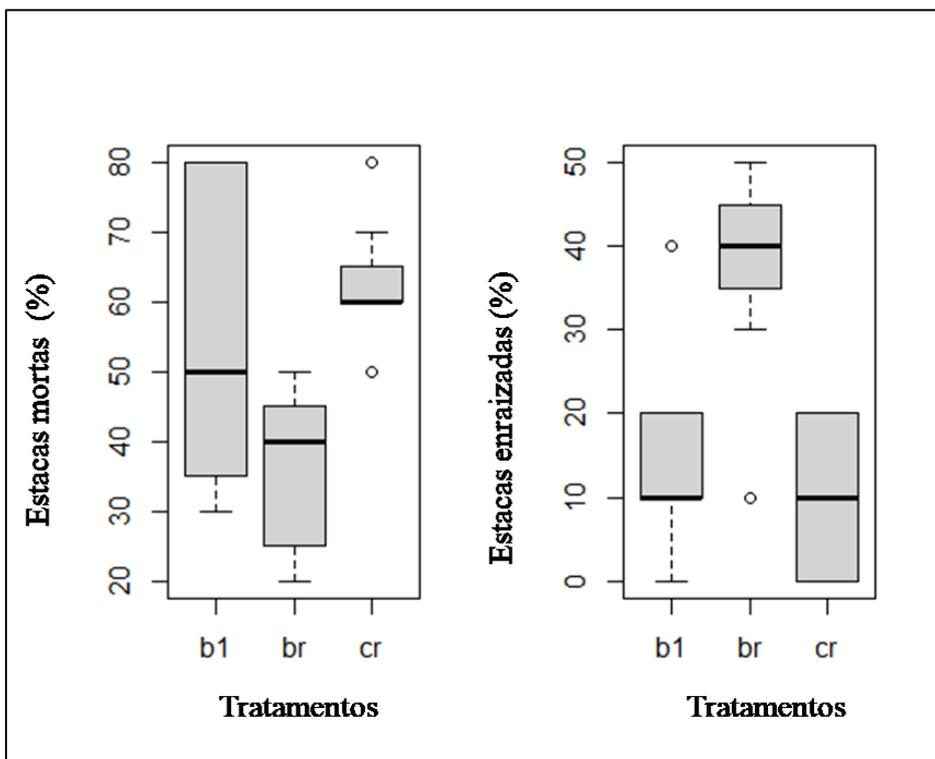


Figura 2. Boxplot do efeito dos tratamentos com inoculação bacteriana de *Burkholderia* sp. (B1), *Bacillus* sp. RZ2MS9 (Br) e ausência de inoculação - controle (Cr) na porcentagem de mortalidade e enraizamento de estacas de guaranazeiro da cultivar BRS-CG611

Sabe-se que o processo de enraizamento em espécies lenhosas é dependente do genótipo (Oliveira *et al.*, 2015). Com isso, diferentes espécies, híbridos e clones do mesmo progenitor podem requerer diferentes condições de cultivo e, conseqüentemente, índices e processos de enraizamento variados (Silva *et al.*, 2021).

Essa variação já foi observada na emissão de raízes em estacas caulinares das cultivares de guaranazeiro, oscilando de 5,6 a 90,6% (Arruda *et al.*, 2007; Albertino *et al.*, 2012). A cultivar BRS-CG611 apresentou 67,89% de enraizamento sendo enquadrada na classe 2, caracterizada como cultivar de enraizamento intermediário (Atroch *et al.*, 2007), apresentou resultados semelhantes em outras análises, 68,75% (Albertino *et al.*, 2012) e 57% (Pinto, 2019). Outras espécies também sofrem influência do genótipo. O percentual de enraizamento entre os diferentes genótipos de estacas semilenhosas de pessegueiro variou de 13,33 a 66,66% (Rosa *et al.*, 2017).

Além do genótipo, algumas hipóteses são apresentadas para explicar o percentual de enraizamento neste trabalho, como a influência da época do ano de coleta das estacas, uma vez que o sistema de produção do guaranazeiro recomenda coletar estacas no período de lançamento dos ramos, que acontece de março a maio, uma vez que as estacas devem ser retiradas de ramos novos não lignificados, pois esse tipo de ramo apresenta melhor índice de enraizamento e formação de mudas mais vigorosas.

A estação do ano em que ocorre a coleta das estacas é um fator determinante no processo de rizogênese (Zem *et al.*, 2016). Em espécies de enraizamento fácil, a época pode não influenciar nas respostas obtidas, entretanto em certas espécies, devido aos fatores fisiológicos e ambientais, o enraizamento pode ocorrer em uma época do ano específica. Nesse caso, os ramos foram coletados em setembro, período em que a cultivar estava em floração.

A segunda hipótese está relacionada à oxidação dos propágulos, fator que foi observado e que deve ser evitado para aumentar a sobrevivência da taxa de enraizamento. Nas primeiras semanas a maior perda das estacas ocorreu por oxidação.

A oxidação pode acontecer em função do excesso de água, produção de compostos fenólicos, ataque de patógenos, espessura do propágulo, grau de lignificação da estaca, alta temperatura e tempo de irrigação (Oliveira *et al.*, 2021). Desta forma o percentual de sobrevivência e enraizamento das estacas pode estar diretamente relacionado ao grau de lignificação dos ramos, visto que os tratamentos realizados por Atroch *et al.* (2007), Albertino *et al.* (2012) e Pinto (2019) utilizaram estacas obtidas de ramos herbáceos coletadas no período recomendado, não lignificados, e desta forma obtiveram melhores resultados quando comparados aos tratamentos utilizados no presente trabalho, em que as estacas utilizadas já possuíam características semilenhosas.

É possível identificar uma tendência para melhores resultados quando utilizadas estacas herbáceas para a multiplicação vegetativa por estaquia, visto que estacas herbáceas apresentam maior concentração de auxinas endógenas (Falarodi *et al.*, 2021). Em *Rubus* spp., utilizando

estacas com diferentes níveis de lignificação (herbáceas, semilenhosas e lenhosas) a que apresentou melhores resultados relacionados à sobrevivência e enraizamento para estacas foram as herbáceas (Hussain *et al.*, 2017).

Após os cortes dos ramos e formação das estacas, a manutenção da turgidez é esperada, iniciando mudanças fisiológicas que podem fazer parte da formação das raízes adventícias. Um desses processos é o inchaço da base seguido de calogênese.

Quanto às estacas calejadas, destacou-se os tratamentos com inoculação bacteriana *Burkholderia* sp. e *Bacillus* sp. RZ2MS9 com 30%, apesar de não diferirem estatisticamente entre si. Diferentes genótipos de guaranazeiro, dentre eles a cultivar BRS-CG611, foram avaliados com AIB e somente 9,5% apresentaram calogênese (Pinto, 2019).

O calo é composto de células do parênquima, que são formadas pelo centro do novo meristema, formado pelos feixes vasculares próximos ao floema, e a raiz aparece através do floema (Hartman *et al.*, 2018). Portanto, a formação de raízes adventícias e calosidades são processos independentes, e a razão pela qual ocorrem simultaneamente é que ambos envolvem o processo de divisão celular e dependem de condições ambientais favoráveis.

A calogênese pode ser um indicativo de enraizamento, porém é um processo independente e não necessariamente vai acarretar no enraizamento (Véras, 2018). Em algumas espécies vegetais, os calos podem ser precursores da formação de raízes adventícias, em outras, o mecanismo de formação dessa estrutura pode ser independente e não levar ao aparecimento de raízes (Mendonça *et al.*, 2018).

A calogênese foi observada em estacas de *Dovyalis* sp. na qual, estacas que apresentaram calos não houve a formação de raízes adventícias, podendo ser encaixada dentre as espécies onde os calos não são precursores da formação de raízes adventícias (Galassi, 2022). Na avaliação do enraizamento de estacas de fruteiras nativas do cerrado (*Annona crassiflora*, *Dipteryx alata*, *Eugenia dysenterica*, *Hancornia speciosa* e *Carvocar brasiliense*) foi observado que a rizogênese de algumas espécies como *E. dysenterica* é lenta, levando 120 dias para a formação de calos e primórdios de raízes e *D. alata* chegando até 180 dias. O experimento foi conduzido até completar 120 dias, o que não permitiu confirmar que os calos formados até o momento da avaliação, fossem precursores da rizogênese (Pereira *et al.*, 2018).

Quanto à análise das modificações fenotípicas na biomassa vegetal das estacas expressa por meio do número de raízes por estacas, volume de raízes, massa fresca das raízes e massa seca das raízes, o fator inoculação bacteriana não foi significativo para as características avaliadas (Figura 3). Uma das explicações para o comportamento diferencial dos inóculos bacterianos aos já relatados em diferentes culturas agrícolas, seriam fatores relacionados ao

ambiente, constituição genética da cultivar testada, ou até mesmo o modo de aplicação das bactérias.



Figura 3. Efeito fenotípico sobre a arquitetura de raízes de guaranazeiro da cultivar BRS-CG611: (A) Planta sem inoculação bacteriana (Cr); (B) Planta inoculada com a rizobactéria *Bacillus* sp. RZ2MS9; e (C) Planta inoculada com *Burkholderia* sp. (B1)

O método de inoculação é um fator que pode interferir no desenvolvimento vegetal (Souza *et al.*, 2015; Lopes *et al.*, 2021). O sucesso da inoculação microbiana depende do método de inoculação, densidade de inóculo, capacidade de colonizar a raiz, multiplicação e distribuição na rizosfera, antagonismo microbiano, estado fisiológico e composição dos exsudatos radiculares da planta (Lopes *et al.*, 2021); além do pH, temperatura e umidade do solo (Romeiro, 2007; Gautam, 2021; Posada *et al.*, 2021).

Nesse caso, existe uma hipótese em função da aplicação dos inóculos bacterianos, uma vez que para formação das estacas o corte dos ramos libera uma secreção leitosa chamada de látex. Essa secreção é liberada por algumas plantas após a ocorrência de uma lesão, cuja função principal é a de defesa contra o ataque de patógenos.

Em contato com o ar, essa secreção sofre oxidação e, ao cobrir o tecido vegetal danificado, auxilia na cicatrização tecidual da planta (Konno *et al.*, 2011). Desta forma, existe a possibilidade do látex secretado ter selado a base da estaca, impermeabilizando-a e dificultando a capacidade de colonização e multiplicação bacteriana, interferindo no seu potencial de desenvolver o crescimento do guaranazeiro.

### 5.3 ENSAIOS “IN VIVO” PARA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL EM SEMENTES DE GUARANAZEIRO

O teste de Kruskal-Wallis revelou que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos de bacterização de sementes de guaranazeiro com inoculação de *Bacillus* sp. RZ2MS9 e *Burkholderia* sp. B1 nas concentrações de  $1 \times 10^8$  e  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> e o controle (sem inoculação bacteriana) para a promoção do crescimento vegetal (Tabela 3).

Tabela 3. Teste de Kruskal-Wallis para análise da promoção do crescimento vegetal em sementes de guaranazeiro inoculadas com as bactérias *Bacillus* sp. RZ2MS9 e *Burkholderia* sp. nas concentrações de  $1 \times 10^8$  e  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> e um controle (sem inoculação bacteriana)

Parâmetro	Mediana	Valor-p
Germinação (%)	55	0,7199 ns
Número de folhas	2	0,3254 ns
Volume das raízes (mL)	0,200	0,3684 ns
Número de raízes	1,000	0,7085 ns
Comprimento das raízes (cm)	7,488	0,1006 ns
Massa fresca das raízes (g)	0,079	0,0779 ns
Massa seca das raízes (g)	0,026	0,5631 ns
Altura (cm)	8,575	0,8671 ns
Massa fresca da parte aérea (g)	0,422	0,4142 ns
Massa seca da parte aérea (g)	0,107	0,4464 ns

Nota: ns = não significativo para  $P \leq 0,05$

A microbiolização das sementes possibilita aumento do vigor da semente e, conseqüentemente, o vigor de plântulas e, ainda, promove emergência mais rápida, devido a produção de fitormônios (auxinas, giberelinas e citocininas) (Junges *et al.*, 2016; Ibanhes Neto *et al.*, 2021).

Em estudo sobre a inoculação de *Bacillus* sp. e *Burkholderia* sp. aplicados a sementes de tomate, foi observado incremento de 18,06% em relação ao controle não inoculado (Tripti *et al.*, 2017). A inoculação com *B. gladioli* e *B. subtilis* em tomate, promoveu aumento da altura, massa fresca e seca de raiz, e parte aérea das plantas comparadas ao controle sem inoculação (Kumar *et al.*, 2020).

*Bacillus subtilis* e *B. seminalis* inoculados em sementes de tomate cereja comum promoveram o aumento da germinação e do índice de velocidade de emergência (Pereira,

2022). Destacando mais uma vez o potencial que os microrganismos dos gêneros *Bacillus* e *Burkholderia* possuem de promover o crescimento vegetal.

Apesar da literatura descrever o grande potencial dessas bactérias em promover o desenvolvimento de diversas culturas de forma efetiva, o poder germinativo das sementes de guaranazeiro foi semelhante aos já descritos. Pode ser caracterizado como lento e desuniforme, iniciando aos 71 dias, e demonstrando que a velocidade de germinação das sementes não foi afetada pela microbiolização, não havendo desta forma diferença significativa entre os tratamentos.

Aos 120 dias o experimento foi avaliado e haviam sementes que ainda estavam germinando, permanecendo estas no substrato com areia. Sementes de guaranazeiro podem levar de 60 a 80 dias para germinar, podendo se prolongar por até 180 dias (Calzavara, 1979). Um dos fatores que pode influenciar nesse processo é o tipo de substrato utilizado, neste sentido, foi destacado que o tempo de germinação pode variar de 90 a 150 dias quando as sementes são semeadas em substrato de areia, e 40 a 70 dias em substrato de serragem (Cardoso, 1944).

Para as variáveis biométricas avaliadas nesse estudo, independente dos tratamentos, e das concentrações empregadas, não houve interação significativa entre os tratamentos, e nem entre os parâmetros avaliados. Apesar da inoculação de *Bacillus* sp. e *B. ambifaria* em sementes de guaranazeiro das cultivares BRS-Amazonas e BRS-Maués foi observado que independente da interação as rizobactérias não apresentaram efeito benéfico sobre as variáveis matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz, matéria seca total, diâmetro da raiz e área foliar (Gama, 2015). Resultado similar foi observado ao inocular *B. ambifaria* em sementes de guaranazeiro das cultivares BRS-Amazonas e BRS-Maués, pois para todas as variáveis analisadas as médias foram inferiores ao tratamento controle; entretanto, houve diferença significativa para o fator inoculação bacteriana sobre as cultivares, onde a cultivar BRS-Amazonas se sobressaiu quanto ao número de folhas, comprimento da raiz e área foliar, sendo inferior apenas em relação à altura da planta, quando comparada a BRS-Maués (Pinto, 2015).

A inoculação de 26 estirpes de bactérias, dentre elas *Bacillus* sp., *Brevibacillus* sp., *Paenibacillus* sp., *Enterobacter* sp., *Rhizobium* sp. e *Bradyrhizobium* sp. em feijão caupi, não apresentaram resultado semelhante ou superior ao do controle quanto à produção de matéria seca da parte aérea, da raiz e total (Costa *et al.*, 2013). A avaliação de diferentes doses de um produto à base de *B. amyloliquefaciens* não apresentou influência significativa na promoção do crescimento de mudas de cafeeiro quando comparadas com a testemunha (Manoel *et al.*, 2022).

Os microrganismos podem ser utilizados em consórcio. Dezoito cepas de *Bacillus* sp. formaram um consórcio para promover o crescimento de pimentão e tomate, os dados obtidos com 7 e 14 dias para o tomateiro não foram estatisticamente significativos, evidenciando que as mudas de tomate precisaram da reinoculação para obter incremento em relação ao tratamento controle. Enquanto para o pimentão, os melhores tratamentos foram aos 7 dias com incremento da clorofila b, (14 dias) número de folhas e (28 dias) com área foliar e diâmetro do caule, demonstrando que os consórcios podem aumentar a produtividade vegetal de forma sustentável (Jambeiro; Santos, 2021).

Desta forma acredita-se que as sementes de guaranazeiro necessitavam passar por um processo de reinoculação ou até mesmo serem consorciadas para obtenção de incrementos na biomassa vegetal. Após 90 dias da semeadura, plantas de guaranazeiro foram retiradas da bandeja e novamente inoculadas com os isolados bacterianos por meio de imersão do sistema radicular. No entanto, o isolado não promoveu o crescimento das mudas, mas aumentaram os teores de carboidratos e nutrientes e diminuíram os teores de prolina que corresponde a uma boa adaptação das mudas a estresses bióticos e abióticos (Gama, 2015).

O estresse causado pela interferência no processo de colonização das sementes pelas bactérias também é um fator preponderante que pode afetar a emergência, a formação de matéria seca da parte aérea e radicular (Peixoto Neto *et al.*, 2002).

Outra hipótese seria em função da composição mineral do solo que pode ser limitante na competição entre bactérias, podendo resultar em ausência de colonização radicular. Além de que os microrganismos inoculados nem sempre são capazes de se mover do local de inoculação para se estabelecerem efetivamente na rizosfera, e um dos aspectos responsáveis por essa ineficiência seria as condições ambientais (Sottero *et al.*, 2006) o que pode explicar o fato das bactérias testadas não promoverem a germinação do guaranazeiro.

#### 5.4 ENSAIOS “IN VIVO” PARA O CONTROLE BIOLÓGICO

O teste de Kruskal-Wallis revelou que houve diferença estatística significativa entre os tratamentos conforme os tempos de inoculação da bactéria *Burkholderia* sp. antecedendo a inoculação do fitopatógeno e os controles. As mudas de guaranazeiro não apresentaram os sintomas característicos da antracnose quando realizada a bacterização a partir de 24h antes da chegada do patógeno, resultando em eficiência no controle biológico. Isto porque, os tratamentos que consistiram em bacterização nos tempos 24, 48 e 72h antes da chegada do

fitopatógeno e o controle negativo não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram dos tratamentos referentes à 0h e o controle positivo (Tabela 4).

Tabela 4. Teste de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn para análise da porcentagem da severidade da doença em mudas de guaranazeiro BRS-Amazonas submetidas a quatro tempos de inoculação da bactéria *Burkholderia* sp. antecedendo a inoculação do fitopatógeno e um controle positivo e um negativo

Tratamentos	Severidade da doença (%)
Microbiolização 0h antes da inoculação do fitopatógeno	10 a
Microbiolização 24h antes da inoculação do fitopatógeno	0 b
Microbiolização 48h antes da inoculação do fitopatógeno	0 b
Microbiolização 72h antes da inoculação do fitopatógeno	0 b
Controle negativo (apenas água)	0 b
Controle positivo (apenas fitopatógeno)	18,33 a

Nota: Medianas seguidas de letras diferentes não diferem entre si

No que tange à supressão da doença causada por *Burkholderia* sp. contra o *C. fruticola* em mudas de guaranazeiro da cultivar BRS-Amazonas, a eficiência de certas bactérias endofíticas em controlar alguns fitopatógenos pode variar de acordo com o momento de aplicação do agente de biocontrole. Desta forma, o agente de biocontrole apresentou boa efetividade em suprimir o aparecimento da doença nas folhas de guaranazeiro nos tempos de 72, 48 e 24h antes da inoculação do fitopatógeno, pois as mudas não apresentaram sintomas, no entanto, no tempo 0h, ele conseguiu reduzir a severidade da doença em relação ao controle positivo (Figura 4).



Figura 2. Folhas de guaranazeiro da BRS-Amazonas após o experimento (A) Controle positivo – mudas tratadas apenas com o fitopatógeno *Colletotrichum fruticola*; (B) e (C) Mudas tratadas com *Burkholderia* sp. (B1) + o fitopatógeno *C. fruticola* no tempo 0h

Uma das hipóteses que justifica a supressão do fitopatógeno, foi a colonização prévia da bactéria nos tecidos da planta hospedeira, propiciando seu estabelecimento e diminuindo a capacidade de instalação do fitopatógeno. A bactéria sendo aplicada de forma antecedente ao fitopatógeno, funcionaria como imunizante, prevenindo a planta da infecção.

A *Burkholderia* é um gênero que compreende cerca de 120 espécies descritas, essas bactérias Gram-negativas abrigam uma variedade de vias catabólicas. Muitas espécies dentro desse gênero são capazes de colonizar plantas e animais, tanto de forma benéfica quanto patogênica.

Espécies capazes de promover o crescimento vegetal, isoladas de ambientes naturais foram recentemente agrupadas a esse gênero, e possuem significativo potencial de controle biológico. Elas são amplamente reconhecidas como bactérias que exibem notável divergência de nichos ecológicos, ocorrendo comumente no solo, água, plantas, fungos, animais e humanos. São extremamente versáteis, podendo tolerar e degradar uma variedade de compostos (aromáticos, monoaromáticos, aromáticos policíclicos e heterocíclicos) (Morya, 2020; Scoffone, 2021).

Muitas espécies do complexo *B. cepacia* produzem metabólitos antifúngicos como pirrolnitrina, fenazina, cepacina, cepaciamida, cepacidina (xilocandina), pseudanas (quinolinonas), lipopeptídeos, rizoxina e sideróforos (Parke; Gurian-Sherman, 2001; Quan *et al.*, 2006). Diferentes espécies protegem plantas de fungos fitopatogênicos (Janisiewicz; Roitman, 1988; Huang; Wong, 1998) e inclusive já foram o princípio ativo de produtos comercializados para biocontrole, como o Deny®, Blue Circle® e Intercept® (Mendes *et al.*, 2007).

Uma linhagem de *Burkholderia* sp. isolada de solo no estado de Santa Catarina com capacidade de produzir sideróforos e fitormônios e ser antagonista do fungo *C. gloeosporioides* apresentou habilidade de retardar os sintomas da doença causada por este fungo em plantas de maçã em ensaios em estufa (Passos *et al.*, 2014).

Sandani *et al.* (2019) avaliaram a eficácia de cepas de *Burkholderia* (*B. rinojensis* cepa 1, *B. arboris*, *B. gladioli*, *B. rinojensis* cepa 2) contra *C. truncatum*, causador da antracnose em pimenta malagueta. O estudo *in vivo* demonstrou que as sementes tratadas com os antagonistas inibiram significativamente a incidência de colonização de sementes ( $p < 0,05$ ) pelo patógeno em comparação com o controle inoculado e não tratado com *C. truncatum*. Os antagonistas bacterianos testados mostraram efeito negativo na fixação de esporos na superfície da folha da pimenta malagueta, confirmando a teoria de Nicholson e Epestein (1991): a adesão de esporos

de fungos à superfície da planta é um pré-requisito essencial para uma infecção bem sucedida pelos fungos fitopatogênicos.

A cepa *Burkholderia* sp. SSG foi avaliada contra 21 patógenos, incluindo seis bactérias, nove fungos e seis espécies de *Phytophthora* utilizando ensaios de cultura dupla e contra doze doenças em planta sob ambiente controlado. A SSG suprimiu todas as espécies de fungos e *Phytophthora*, e cinco das seis bactérias Gram-negativas em dupla cultura. A SSG apresentou controle mais consistente para a ferrugem bacteriana do gerânio causada por *Xanthomonas campestris* (41 a 58%), e à mancha foliar do amor-perfeito por *C. fructicola* (30 a 32%) em todos os três períodos de tratamento, desde um dia antes da inoculação até três dias após a inoculação. Dessa forma, é considerado antagonista de amplo espectro, e essa característica pode ser atribuída à biossíntese de antibióticos, enzimas líticas e produtos inseticidas, interferência física e química e competição com patógenos ou indução de resistência sistêmica (Kong *et al.*, 2020).

Wang *et al.* (2023) testaram a cepa *B. gladioli* na supressão *in vivo* do fitopatógeno *Botrytis cinerea* em plantas de *Nicotiana benthamiana* com cinco semanas de idade. A inoculação do caldo fermentado da bactéria foi realizada 12h antes da inoculação do fungo. Os resultados mostraram que *B. gladioli* reduziu a severidade do mofo cinzento, permanecendo algumas folhas sem sintomas em relação ao controle. Este estudo confirmou que a bactéria poderia produzir compostos orgânicos voláteis para inibir o crescimento fúngico.

Espécies de *Burkholderia* demonstram uma função antagônica no controle de doenças em plantas e na promoção de crescimento, produzindo metabólitos secundários bioativos ou enzimas ativas. Como microrganismos benéficos, elas têm a capacidade de desencadear a indução de resistência sistêmica nas plantas e induzir resistência sistêmica adquirida para melhorar a capacidade de defesa da resistência das plantas (Park; Ryu, 2021; Zehra *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2022).

## 6 CONCLUSÃO

A promoção de crescimento da cultura do guaranazeiro em função da inoculação bacteriana, apesar de não apresentar resultados tão expressivos, em decorrência de fatores como: constituição genética, estação do ano, oxidação dos propágulos e modo de inoculação das bactérias, ainda assim, demonstrou que a rizobactéria *Bacillus* sp. RZ2MS9 quando inoculada nas estacas de guaranazeiro da cultivar BRS-CG611, contribui para reduzir a perda do material propagativo em campo. Corroborando com os efeitos positivos apontados em outras culturas como soja, milho e tomateiro.

A inoculação bacteriana nas sementes de guaraná, não promoveu aumento no crescimento das mudas de guaranazeiro, não havendo interação significativa entre os tratamentos, e nem entre os parâmetros avaliados. Considera-se, a possibilidade de ajuste de metodologia, realizando um processo de escarificação antes das sementes serem submetidas aos tratamentos, visto que, existe a possibilidade de dormência morfológica nas sementes de guaraná, além da mudança do substrato, uma vez que ele pode influenciar no aumento da germinação e velocidade de emergência das sementes. Outras possibilidades, seriam fazer consórcios com outras linhagens bacterianas, como forma de se obter incremento na biomassa vegetal das mudas.

A bactéria endofítica *Burkholderia* sp. se mostrou eficiente quanto ao seu uso no biocontrole da antracnose do guaranazeiro quando inoculada antes do fitopatógeno *C. fructicola*, suprimindo o aparecimento da doença. No entanto, apesar de vários estudos apontarem que esse gênero possui significativo potencial de controle biológico, devido sua capacidade de produzir uma ampla variedade de antifúngicos e sideróforos, além de induzir a resistência sistêmica para melhorar a capacidade de defesa das plantas, diferentes espécies desse gênero fazem parte do complexo *B. cepaciae*, que podem atuar como patógenos oportunistas em seres humanos. Tornando a identificação dessa linhagem um passo crucial no desenvolvimento de bioinoculantes para o controle da antracnose em diversas culturas frutíferas, dentre elas, o guaranazeiro.

## 8 REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, Y.; YANG, M.; ZHANG, M. *et al.* Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by *Paenibacillus polymyxa* Sx3. **Letters in Applied Microbiology**, v. 68, p. 423-429, 2019.
- ADESEMOYE, A.O.; KLOEPPER, J.W. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, p. 1-12, 2009.
- ALFENAS, A.C; MAFIA, R.G. Métodos em Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa. 2007, 382p.
- AFZAL, I.; SHINWARI, Z.K.; SIKANDAR, S. *et al.* Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiology Research**, v. 221, p. 36-49, 2019.
- ALBERTINO, S.M.F. **Adubação, níveis crescentes de irradiância nas plantas matrizes e uso do AIB nas estacas para o enraizamento de cultivares de guaranazeiro [*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke]**. 2011. 95f. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2011.
- ALBERTINO, S.M.F.; NASCIMENTO FILHO, F.J.; SILVA, J.F. *et al.* Enraizamento de estacas de cultivares de guaranazeiro com adubação de plantas matrizes. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1449-1454, 2012.
- ALOO, B.N.; MAKUMBA, B.A.; MBEGA, E.R. The potential of *Bacilli* rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability. **Microbiological Research**, v. 219, p. 26-39, 2019.
- ALORI, E.T.; BABALOLA, O.O. Microbial inoculants for improving crop quality and human health in Africa. **Frontiers Microbiology**, v. 9, p. 1-12, 2018.
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia. v. 1: Princípios e conceitos. 4 ed., São Paulo: Agronômica Ceres. 2011, 704p.
- ANDRADE, L.A.; SANTOS, C.H.B.; FREZARIN, E.T. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1088, 2023.
- ÂNGELO, P.C.S; MORAES, L.A.C.; SOUSA, N.R. *et al.* Indução de *Calli* em explantes de guaranazeiro visando a embriogênese somática. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 16, n. 1-4, p. 133-137, 2010.
- ANTUNES, P.B. **Análise comparativa das frações polpa, casca, semente e pó comercial do guaraná (*Paullinia cupana*): caracterização química e atividade antioxidante *in vitro***. 2011. 114f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana Aplicada), Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, 2011.

ARAVIND, R.; EAPEN, S.J.; KUMAR, A. *et al.* Screening of endophytic bacteria and evaluation of selected isolates for suppression of burrowing nematode (*Radopholus similis thorne*) using three varieties of black pepper (*Piper nigrum* L.). **Crop Protection**, v. 29, p. 318-324, 2010.

ARRUDA, M.R.; PEREIRA, J.C.R.; MOREIRA, A. Enraizamento de estacas herbáceas de clones de guaranazeiro em diferentes substratos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 236-241, 2007.

ATROCH, A.L.; CRAVO, M.S.; SANTOS, J.A. Enraizamento de clones de guaranazeiro tratados com ácido indol-3-butírico (AIB). **Revista de Ciências Agrárias**, n. 47, p. 103-111, 2007.

ATROCH, A.L. **Avaliação de progênies de meios irmãos de guaranazeiro [*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke] utilizando caracteres morfoagronômicos**. 2009. 72f. Tese (Doutorado em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2009.

ATROCH, A.L.; CORDEIRO, E.R. As soluções sustentáveis que vêm dos trópicos: desenvolver sem desmatar por um novo pacto global do alimento. 1. Ed. Instituto Fórum do Futuro. 2022. 428p.

AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: GANGULI, B.N.; DESMHHMUKH, S.K. (Org.). **Fungi: multifaceted microbes**. p. 189-207, 2007.

BADILLA, Y.; XAVIER, A.; MURILLO, O. *et al.* Eficiência do AIB no enraizamento de miniestacas de clones de Teca (*Tectona grandis* Linn F.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 40, n. 3, p. 477-485, 2016.

BALDOTTO, L.E.B. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar Vitória durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 349-360, 2010.

BARNAWAL, D.; SINGH, R.; SINGH, R.P. Role of plant growth promoting rhizobacteria in drought tolerance. **Food Security and Environmental Management**, p. 107-128, 2019.

BATISTA, B.D. **Promoção de crescimento em milho (*Zea mays* L.) por rizobactérias associadas à cultura do guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)**. 2012. 129f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2012.

BATISTA, B.D. **Promoção de Crescimento Vegetal por *Bacillus* sp. RZ2MS9: dos genes ao campo**. 2017. 108f. Tese (Doutorado em Ciências - Área de Concentração: Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2017.

BATISTA, B.D.; LACAVAL, P.T.; FERRARI, A. *et al.* Screening of tropically derived, multi-trait plant growth- promoting rhizobacteria and evaluation of corn and soybean colonization ability. **Microbiological Research**, v. 206, p. 33-42, 2018.

BEZERRA, C.S. **Caracterização enzimática de *Colletotrichum* spp. isolados de *Paullinia cupana* Kunth. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke.** 2017. 103f. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, 2017.

BHATTACHARYYA, P.N.; JHA, D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1327-1350, 2012.

BHATTACHARYYA, C.; BANERJEE, S.; ACHARYA, U. *et al.* Evaluation of plant growth promotion properties and induction of antioxidative defense mechanism by tea rhizobacteria of Darjeeling, India. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 15536, 2020.

BONETT, L.P.; WESSLING, C.R.; GAMELO, F.P. *et al.* Óleo de *Baccharis dracunculifolia* DC. e seu efeito *in vitro* sobre *Colletotrichum gloeosporioides* coletados em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Cultivando o Saber**, v. 3, n. 4, p. 24-36, 2010.

BONETT, L.P.; MULLER, G.M.; WESSLING, C.R. *et al.* Extrato etanólico de representantes de cinco famílias de plantas e óleo essencial da família Asteraceae sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* coletados de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 3, p. 116-125, 2012.

BOTIN, A.A.; CARVALHO, A. Reguladores de crescimento na produção de mudas florestais. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 13, n. 1, p. 83-96, 2015.

BOTTINI, R.; CASSÁN, F.; PICCOLI, P. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 65, p. 497-503, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. Agrotóxicos na Ótica do Sistema Único de Saúde: relatório nacional de vigilância em saúde de populações expostas a agrotóxicos. Brasília: MS, 2016. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio\\_nacional\\_vigilancia\\_populacoes\\_expostas\\_agrotoxicos.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio_nacional_vigilancia_populacoes_expostas_agrotoxicos.pdf)>. Acesso em 25 jun de 2023.

BULHÕES, C.C.; BNALDO, S.M; SANTOS, B.T. *et al.* Produtos alternativos no controle de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), cladosporiose (*Cladosporium herbarum*) e bacteriose (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*) em maracujazeiro no Norte do Mato Grosso. **Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, v. 7, n. 1, p. 12-19, 2012.

CALZAVARA, B.B.G., 1979. Orientação cultural do guaranazeiro. Belém: FCAP, 53p. (Informe Técnico, 2).

CAMAILLE, M.; FABRE, N.; CLEMENT, C. *et al.* Advances in wheat physiology in response to drought and the role of plant growth promoting rhizobacteria to trigger drought tolerance. **Microorganisms**, v. 9, n. 4, p. 687, 2021.

CANNON, P.F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P.R. *et al.* *Colletotrichum* current status and future directions. **Studies in Mycology**, v. 73, n. 1, p. 181-213, 2012.

- CARDOSO, W., 1944. Sementeiras em serragem. Secção de Fomento Agrícola do Estado do Pará, v. 3, n. 2, p. 27-33.
- CARVALHO, J.E.U.; FRAZÃO, D.A.C.; FIGUEIREDO, F.J.C. Conservação e viabilidade de sementes de guaraná *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. Belém :Embrapa-CPATU, 1982. 12p. (Circular técnica, 35).
- CASAS, L.L. ***Colletotrichum siamense* Como Estratégia de Controle Biológico da Antracnose em Guaranazeiro.** 2021. 104f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte) – Universidade Federal do Amazonas.
- CASSEL, J.L.; ROTHER, G.M.; PIMENTA, B.D. *et al.* Auxin action on soybean plants. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 3, p. 4628-4643, 2021.
- CESA-LUNA, C.; BAEZ, A.; QUINTERO-HERNÁNDEZ, V. *et al.* The importance of antimicrobial compounds produced by beneficial bacteria on the biocontrol of phytopathogens. **Acta Biológica Colombiana**, v. 25, n. 1, p. 140-154, 2020.
- CHIARINI, L.; BEVIVINO, A.M.; DALMASTRI, C. *et al.* *Burkholderia cepacia* complex species: Health hazards and biotechnological potential. **Trends In Microbiology**, v. 14, p. 277-286, 2006.
- COENYE, T.; VANDAMME, P. Diversity and significance of *Burkholderia* species occupying diverse ecological niches. **Environmental Microbiology**, v. 9, p. 719-729, 2003.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, Guaraná - Análise Mensal julho 2017. Disponível em: [www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br). Acesso em: 10 junho 2022.
- COSTA NETO, P.Q. **Caracterização molecular de fungos endofíticos e patogênicos *Colletotrichum* spp. isolados do guaranazeiro [*Paullinia cupana* var. *sorbilis* H.B.K. (Mart.) Ducke].** 2009. 100f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2009.
- COSTA, E.M. **Potencial de promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi em solos do Sudoeste piauiense.** 2013. 149f. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- CRAVO, M.S. Programa de pesquisa com a cultura do guaraná da Embrapa Amazônia Ocidental. In: Reunião técnica da cultura do guaraná, Manaus, 2000. **Embrapa Amazônia Ocidental**. Documentos. p. 16-42, 2001.
- DAMM, U.; SATO, T.; ALIZADEH, A. *et al.* The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. **Studies in Mycology**, v. 92, p. 1-46, 2018.
- DEAN, R.; VAN-KAN, J.A.L.; PRETORIUS, Z.A. *et al.* The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012.
- FAGAN, E.B.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. *et al.* Fisiologia vegetal: reguladores vegetais. São Paulo: Andrei, 2015. 300p.

FERNANDES, T.P.; NIETSCHEE, S.; COSTA, M.R. *et al.* Potential use of endophytic bacteria to promote the plant growth of micropropagated banana cultivar Prata Anã. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, p. 4915-1919, 2013.

FISCHER, I.H.; LOURENÇO, S.A.; MARTINS, M.C. *et al.* Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da podridão do colo do maracujazeiro causada por *Nectria haematococca*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 250-258. 2005.

FLORENTINO, L.A.; REZENDE, A.V.; MIRANDA, C.C.B. *et al.* Potassium solubilization in phonolite rock by diazotrophic bacteria. **Comunicata Scientiae**, v. 8, n. 1, p. 17-23, 2017.

FRANZON, R.C.; GONÇALVES, R.S.; ANTUNES, L.E.C. *et al.* Propagação vegetativa de genótipos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) do Sul do Brasil por enxertia de garfagem. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 262-267, 2010.

FRONZA D.; HAMANN J.J. Viveiros e propagação de mudas. Santa Maria: UFSM, Colégio Politécnico: Rede e-TecBrasil, 2015.

GALASSI, J.V. **Propagação assexuada e sexuada, em função de diferentes épocas, concentrações de auxinas, substratos e períodos de fermentação**. 2022. 57f. Dissertação (Pós-Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2022.

GAMA, L.A. **Inoculação de rizobactérias em sementes e plântulas para produção de mudas de guaranazeiro**. 2015. 68f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015.

GAUTAM, B. Microbiological quality assessment (including antibiogram and threat assessment) of bottled water. **Food Science & Nutrition**, v. 9, n. 4, p. 1980-1988, 2021.

GLICK, B.R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications New York: Hindawi Publishing Corporation. **Scientifica**, p. 1-15, 2012.

GOMES, I.C. **Avaliação da atividade anti-inflamatória in vitro do guaraná em pó de uso comercial (*Paullinia cupana*)**. 2021. 58f. Monografia (Graduação em Nutrição) - Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto, 2021.

GONTIJO, T.C.A.; RAMOS, J.D.; MENDONÇA, V. *et al.* Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 290-292, 2003.

HARTMANN, H.T. *et al.* Plant propagation: principles and practices. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.; DAVIES, F. *et al.* Plant propagation: principles and practices. 8th ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 928p.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES, F.T. *et al.* Plant propagation: principles and practices. Ninth edition ed. NY, NY: Pearson, 2018.

HUANG, Y.; WONG, P.T.W. Effect of *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* and soil type on the control of crown rot in wheat. **Plant Soil**, v. 203, p. 103-108, 1998.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. – (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n.325).

HUSSAIN, I.; ROBERTO, S.R.; COLOMBO, R.C. *et al.* Cutting types collected at different seasons on Blackberry multiplication. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 3, 2017.

IBANHES NETO, H.F.; SILVA, A.C.; SUMIDA, C.H. *et al.* Physiological potential of green bean seeds treated with *Bacillus subtilis*. **Journal of Seed Science**, vol. 43, p. 1-12, 2021.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Agro 2021. Disponível em: <https://censoagro2021.ibge.gov.br>. Acesso em: 10 junho 2023.

IMADA, E.L.; SANTOS, A.A.P.R.; OLIVEIRA, A.L.M. *et al.* Indole-3-acetic acid production via the indole-3-pyruvate pathway by plant growth promoter *Rhizobium tropici* CIAT 899 is strongly inhibited by ammonium. **Research in Microbiology**, v. 168, n. 3, p. 283-292, 2017.

JAMBEIRO, I.C.A.; SANTOS, A.F.J. Utilização de *Bacillus* sp. para promoção de crescimento vegetal de *Solanum Lycopersicum* e *Capsicum annum*. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v. 2, n. 2, p. 87, 2021.

JANISIEWICZ, W.J.; ROITMAN, J. Biological control of blue mold and gray mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. **Phytopathology**, v. 78, p. 1697-1700, 1988.

JUNGES, E.; MUNIZ, M.F.B.; BASTOS, B.O. *et al.* Biopriming in bean seeds. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B - Soil and Plant Science**, v. 66, n. 3, p. 207-214, 2016.

JUNIOR L.F.R. **Performance de fungos entomopatogênicos no controle das principais pragas do milho em condições de cerrado**. 2020. 53f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade de Rio Verde, 2020.

KONG, P.; RICHARDSON, P.; HONG, C. *Burkholderia* sp. SSG is a broad-spectrum antagonist against plant diseases caused by diverse pathogens. **Biological Control**, v. 151, p. 1-7, 2020.

KONNO, K. Plant latex and other exudates as plant defense systems: roles of various defense chemicals and proteins contained therein. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1510-1530, 2011.

KUMAR, P.; AERON, A.; SHAW, N. *et al.* Seed bio-priming with tri-species consortia of phosphate solubilizing rhizobacteria (PSR) and its effect on plant growth promotion. **Heliyon**, v. 6, n. 12, p. 1-8, 2020.

LACAIVA, P.T.; AZEVEDO, J.L. Endophytic bacteria: A biotechnological potential in agrobiological system. **Bacteria in Agrobiological: Crop Productivity**, p. 1-44, 2013.

- LANE, D.J. 16S/23S rRNA Sequencing. *In*: STACKEBRANDT, E. and WOODFELLO, M., Eds., *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematic*, John Wiley and Sons, New York, 115-175, 1991.
- LI, S.; JIANG, J.; HO, S.H. *et al.* Bimetallic nitrogen-doped porous carbon derived from ZIF-L&FeTPP@ZIF-8 as electrocatalysis and application for antibiotic wastewater treatment. **Separation Purification Technology**, v. 276, 2021.
- LOPES, M.J.S.; SANTIAGO, B.S.; SILVA, I.N.B. *et al.* Biotecnologia microbiana: inoculação, mecanismos de ação e benefícios às plantas. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. 1-13, 2021.
- LUDWIG-MÜLLER, J. Bacteria and fungi controlling plant growth by manipulating auxin: Balance between development and defense. **Journal of Plant Physiology**, v. 172, p. 4–12, 2015.
- MACHADO, K.N.; FREITAS, A.A.; CUNHA, L.H. *et al.* A rapid simultaneous determination of methylxanthines and proanthocyanidins in Brazilian guarana (*Paullinia cupana* Kunth). **Food Chemistry**, v. 239, p. 180-88, 2018.
- MAJHENIC, L.; SKERGET, M.; ZELIKO, K. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1258-1268, 2007.
- MALFANOVA, N.; LUGTENBERG, B.J.J.; BERG, G. Bacterial endophytes: Who and where, and what are they doing there. **Institute of Environmental Biotechnology**, v. 1, p. 393-404, 2013.
- MANOEL, M.T.; PRIMO, C.C.; RIBEIRO, I.M.V. *et al.* Uso de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 na promoção de crescimento em mudas de cafeeiro. 11º Simpósio de Pós-Graduação de IFSULDEMINAS, p. 1-4, 2022.
- MARAG, P.S.; SUMAN, A. Growth stage and tissue specific colonization of endophytic bacteria having plant growth promoting traits in hybrid and composite maize (*Zea mays* L.). **Microbiological Research**, v. 214, p. 101-113, 2018.
- MARIOSIA, T.N.; MELLONI, E.G.P.; MELLONI, R. *et al.* Rizobactérias e desenvolvimento de mudas a partir de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europeae* L.). **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, n. 4, p. 302-306, 2017.
- MARQUES, L.L.M.; FERREIRA, E.D.F.; PAULA, M.N. *et al.* *Paullinia cupana*: a multipurpose plant – a review. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 29, p. 77-110, 2019.
- MARTÍNEZ-VIVEROS, O.; JORQUERA, M.A.; CROWLEY, D.E. *et al.* Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, n. 3, p. 293-319, 2010.
- MELNICK, R.L.; ZIDACK, N.K.; BAILEY, B.A. *et al.* Bacterial endophytes: *Bacillus* spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. **Biological Control**, v. 46, p. 46-56, 2008.

- MELNICK, R.L.; SUARÉZ, C.; BAILEY, B.A. *et al.* Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases. **Biological Control**, v. 57, p. 236-245, 2011.
- MENDES, R.; PIZZIRANI-KLEINER, A.A.; ARAUJO, W.L. *et al.* Diversity of cultivated endophytic bacteria from sugarcane: Genetic and biochemical characterization of *Burkholderia cepacia* complex isolates. **Applied Environmental Microbiology**, v. 73, p. 7259-7267, 2007.
- MENDONÇA, V.; FREITAS, W.E.S.; DANTAS, L.L.G.R. *et al.* Propagação de frutíferas. Mossoró (RN): Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) - Departamento de Ciências Vegetais, 2014, 35p.
- MENDONÇA, L.P.; BATISTA, J.N.; MAGALHÃES, W.B. *et al.* Ácido-indol-3-butírico e época de coleta influenciando no enraizamento de *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 12, n. 2, p. 176-184, 2018.
- MIRANDA, C.S.; CHALFUN, N.N.J.; HOFFMANN, A. *et al.* Enxertia recíproca e AIB como fatores indutores do enraizamento de estacas lenhosas dos porta-enxertos de pessegueiro ‘Okinawa’ e umezeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 4, p. 778-784, 2004.
- MIRANDA, M.V.; METZNER, B.S. *Paullinia cupana*: Revisão da matéria médica. **Revista de Homeopatia**, v. 73, p. 1-17, 2010.
- MONDENEZI, R.M. **Propagação por estaquia de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban. (Pau de Balsa)**. 2019. 85f. Dissertação (Mestrado em ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2019.
- MOHITE, B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 13, n. 3, p. 638-649, 2013.
- MORYA, R.; SALVACHÚA, D.; THAKUR, I.S. *Burkholderia*: an untapped but promising bacterial genus for the conversion of aromatic compounds. **Trends in Biotechnology**, v. 38, n. 9, p. 963-975, 2020.
- MOTA, A.J.; BACK-BRITO, G.N.; NOBREGA, F.G. A practical and rapid microplate method for yeast genomic DNA extraction. In: **Mycoses**. Commerce Place, 350 Main ST, Malden 02148, MA USA: Wiley-Blackwell Publishing, INC, p. 94-94, 2009.
- MUNIZ, A.W.; WOLF, C.L.; CORDEIRO, E.R. *et al.* A cultura do guaranazeiro no estado do Amazonas. **Jornal da Fruta**, p. 12, 2011.
- NASCIMENTO, A.P. **Potencial biotecnológico de bactérias endofíticas de *Himatanthus succuba***. 2017. 91f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017.
- NATIONAL ORGANIC STANDARDS BOARD (NOSB). Results from the Spring 2013 meeting of the National Organic Standards Board. Beyond Pesticides. Disponível em: <<https://www.beyondpesticides.org>>. Acesso em: 15 jun de 2023.

- NAVARRO, L.; DUNOYER, P.; JAY, F. *et al.* A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. **Science**, v. 312, p. 436-439, 2006.
- NEWTON, A.C.; GRAVOUIL, C.; FOUNTAINE, J.M. Managing the ecology of foliar pathogens: ecological tolerance in crops. **Annals of Applied Biology**, v. 157, p. 343-359, 2010.
- NICHOLSON, R.L.; EPESTEIN, L. Adhesion of fungi to the plant surface: Prerequisite for pathogenesis: Fungal spore and disease initiation in plants and animals. In G. T. Cole, & H.C. Hoch (Eds.), (p. 2–23). New York: Plenum Press, 1991.
- ODOH, C.K. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a bioprotectant bioinoculant for sustainable agrobiolgy. A review. **International Journal of Advanced Research in Biological Sciences**, v. 4, n. 5, p. 123-142, 2017.
- OLIVEIRA, L.S.; BRONDANI, G.E.; BATAGIN-PIOTTO, K.D. *et al.* Micropropagation of *Eucalyptus cloeziana* mature trees. **Australian Forestry**, v. 78, n. 4, p. 219-231, 2015.
- OLIVEIRA, T.A.S.; DUARTE, E.A.A.; SILVA, R.M. *et al.* Biocontrole de doenças pós colheita de frutas. **Revisão anual de Patologia e Plantas**, v. 23, p. 293-325, 2015.
- OLIVEIRA, N.P.; RIBEIRO, S.A.F.; SOUZA, M.M. Controle de contaminação e oxidação no cultivo *in vitro* de oliveira (*Olea europaea* L.) cv. “Koroneiki”. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. 1-10, 2021.
- PAHARI, A.; MISHRA, B.B. Antibiosis of siderophore producing bacterial isolates against phytopathogens and their effect on growth of okra. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. v. 6, n. 8, p. 1925-1929, 2017.
- PAQUE, S.; WEIJERS, D. Q&A: Auxin: the plant molecule that influences almost anything. **BMC Biology**, v. 14, n. 67, p. 1-5, 2016.
- PARK, Y.S.; RYU, C.M. Compreendendo o sistema de rede social da planta: Evite-microbiota deletéria, mas chamada de benéfica. **Revista Internacional de Ciências Moleculares**, v. 22, n. 7, p. 3319, 2021.
- PARKE, J.L.; GURIAN-SHERMAN, D. Diversity of the *Burkholderia cepacia* complex and implications for risk assessment of biological control strains. **Annual Review of Phytopathol**, v. 39, p. 225-258, 2001.
- PASSOS, J.F.M.; COSTA, P.B.; COSTA, M.D. *et al.* Cultivable bacteria isolated from apple trees cultivated under different crop systems: Diversity and antagonistic activity against *Colletotrichum gloeosporioides*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 37, p. 560–572, 2014.
- PATTEN, C.L.; GLICK, B.R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal Microbiological**, v. 42, n. 3, p. 207-220, 1996.
- PATTEN, C.L.; GLICK, B.R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 8, p. 3795-3801, 2002.

PEIXOTO, C.P. Curso de fisiologia vegetal. Apostila de Aulas (Fisiologia Vegetal) – Centro de Ciências agrárias, Ambientais e Biológicas. Cruz das Almas, Bahia. 2011. 177p.

PEIXOTO NETO, P.A.S.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Microorganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 29, p. 62-76, 2002.

PEREIRA, J.C.R. Cultura do guaranazeiro no Amazonas. 4. ed., Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2005. 40p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Sistemas de Produção, 2).

PEREIRA, J.C.R.; ARAÚJO, J.C.A. Escala diagramática para quantificar a antracnose de guaranazeiro. Comunicado Técnico 70. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2009.

PEREIRA, E.J. **Germinação e crescimento inicial de tomate Cereja comum inoculado com *Bacillus subtilis* e *Burkholderia seminalis***. 2022. 28f. TCC (Graduação em Agronomia) - Instituto Federal Goiano – Campos Ceres, 2022.

PINTO, K.G.D. Indução do enraizamento do guaranazeiro por rizobactéria promotora de crescimento. Relatório Final de Iniciação Científica/ PIB – A/0075/2014, 2015.

PINTO, K.G.D. **Doses de AIB no enraizamento de estacas de guaranazeiro**. 2019. 53f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.

POSADA, A.; MEJÍA, D.; POLANCO-ECHEVERRY, D. *et al.* Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990- 2019. **Revista de Investigación Agraria y ambiental**, v. 12, n. 2, p. 161-178, 2021.

POSTMA, J.; STEVENS, L.H.; WIEGERS, G.L. *et al.* Biological control of *Pythium aphanidermatum* in cucumber with a combined application of *Lysobacter enzymogenes* strain 3.1T8 and chitosan. **Biological Control**, v. 48, p. 301-309, 2009.

PRADO JUNIOR, G.T.; MELO, C.P.; HEEMANN, R. *et al.* Determinação de taninos e cafeína de extratos de sementes de guaraná, *Paullinia cupana* Kunth sapindaceae, obtidos com diferentes graduações alcoólicas. **Anais do EVINCI – UniBrasil**, Curitiba, v. 3, n. 1, p. 245-245, 2017.

QUAN, C.S.; ZHENG, W.; LIU, Q. *et al.* Isolation and characterization of a novel *Burkholderia cepacia* with strong antifungal activity against *Rhizoctonia solani*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 72, p. 1276-1284, 2006.

R CORE TEAM (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

RAHMAN, S.F.; SINGH, E.; PIETERSE, C.M. *et al.* Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. **Plant Science**, v. 267, p. 102-111, 2018.

RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LI, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 10-18, 2019.

RANI, L.; THAPA, K.; KANOJIA, N. *et al.* An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 283, p. 124657, 2021.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *et al.* Raven: Biologia vegetal. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 856p. ISBN 9788527723626.

RIOS, S.E.M.C.; PEREIRA, M.C.; SANTOS, L.S. *et al.* Concentrações de ácido indolbutírico, comprimento e época de coleta de estacas, na propagação de umbuzeiro. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 52-57, 2012.

RODRIGUES, P.S.L. **Caracterização molecular e de promoção de crescimento de plantas por bactérias diazotróficas associadas a frutíferas tropicais**. 2016. 127f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2016.

ROMEIRO, R.S. Controle biológico de doenças de plantas: procedimentos. UFV. 2007.

ROSA, G.G.DA.; ZANANDREA, I.; MAYER, N.A. Efeito do genótipo no enraizamento e aclimação de estacas semilenhosas de porta enxertos de pessegueiro. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 16, p. 449-455, 2017.

RUEDELL, C.M.; ALMEIDA, M.R.; SCHWAMBACH, J. *et al.* Pre and post-severance effects of light quality on carbohydrate dynamics and microcutting adventitious rooting of two *Eucalyptus* species of contrasting recalcitrance. **Plant Growth Regulation**, v. 69, p. 235–245, 2013.

SALDAÑA, M.D.A.; ZETZL, C.; MOHAMED, R.S. *et al.* Extraction of methylxanthines from guarana seeds, mate leaves, and cocoa beans using supercritical carbon dioxide and ethanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4820-4826, 2002.

SANDANI, H.B.P.; RANATHUNGE, N.P.; LAKSHMAN, P.L.N. *et al.* Biocontrol potential of five *Burkholderia* and *Pseudomonas* strains against *Colletotrichum truncatum* infecting chilli pepper. **Biocontrol Science and Technology**, v. 29, p. 727-745, 2019.

SANTOS FILHO, H.P.S.; OLIVEIRA, A.A.R. Doenças causadas por fungos, oomicetos e bactérias. In: A cultura do mamoeiro. 1º Ed. Brasília: Embrapa. cap. 9, p. 237-275, 2021.

SANTOS, A.R.B.; SIMEÃO, M.; BARROS, P.S. *et al.* Seleção de subamostras de feijão-fava para resistência à antracnose. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 9, n. 3, p. 268-278, 2015.

SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M.C. *et al.* Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92–99, 2016.

SAVARY, S.; WILLOCQUET, L.; PETHYBRIDGE, S.J. *et al.* The global burden of pathogens and pests on major food crops. **Nature ecology & evolution**, v. 3, n. 3, p. 430–439, 2019.

SCHÄFER, E.L. **Avaliação de microrganismos promotores de crescimento e proteção na cultura soja (*Glycine max*)**. 2017. 40f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia,

Departamento de Estudos Agrários da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí, Ijuí, 2017.

SCHIMPL, F.C.; SILVA, J.F.; GONÇALVES, J.F.C. *et al.* Guarana: revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 1, p. 14-31, 2013.

SCHMIDT, F. O guaraná, sua cultura e indústria. Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, 1941.

SCOFFONE, V.C.; TRESPIDI, G.; BARBIERI, G. *et al.* Methodological tools to study species of the genus *Burkholderia*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, p. 1-16, 2021.

SHAO, J.; XU, Z.; ZHANG, N. *et al.* Contribution of indole-3-acetic acid in the plant growth promotion by the rhizospheric strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, p. 321-330, 2015.

SHARMA, S.; KUMAR, V.; TRIPATHI, R.B. Isolation of phosphate solubilizing microorganisms (PSMs) from soil. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 1, n. 2, p. 90-95, 2011.

SHIOMI, H.F.; MELO, I.S.; MINHONI, M.T.A. Avaliação de bactérias endofíticas para o controle biológico da mancha foliar de *Exserohilum turcicum* em milho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 1-4, 2015.

SILVA, M.R.L.; SILVA, G.M.; NUNES, M.P. *et al.* Análise morfológica de *Colletotrichum* sp. estabelecidos de lesões da antracnose em cafeeiro. X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, p. 1-6, 2015.

SILVA, W.G.; ROVELLINI, P.; FUSARI, P. *et al.* Guaraná - *Paullinia cupana*, (H.B.K): Estudo da oxidação das formas em pó e em bastões defumados. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 14, n. 2, p. 117-123, 2015.

SILVA, T.F.; MELLONI, R.; MELLONI, E.G.P. *et al.* Bactérias diazotróficas não simbióticas e enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.). **Ciência Florestal**, v. 27, n. 1, p. 61-71, 2017.

SILVA, D.B.L. **Sistema Produtivo da Banana**. 2018. 26f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Gestão do Agronegócio) – Faculdade Planaltina, 2018.

SILVA, A.S.L. *et al.* Contribuições do melhoramento genético da soja. In: CASTRO, L.H.I. Soja: estratégia e sustentabilidade produtiva. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2021. Cap. 6. p. 228-241. (Científica).

SINGH, J.S.; PANDEY, V.C., SINGH, D.P. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 140, p. 339-353, 2011.

SOTTERO, A.N. **Colonização radicular e promoção de crescimento vegetal por rizobactérias**. 2003, 47f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2006.

SOUMARE, A.; DIEDHIOU, A.G.; THUITA, M. *et al.* Exploiting biological nitrogen fixation: A route towards a sustainable agriculture. **Plants**, v. 9, p. 1011, 2020.

SOUSA, S.A.; ALVES, S.F.; PAULA, J.A.M. *et al.* Determinação de taninos e metilxantinas no guaraná em pó (*Paullinia cupana* Kunth, Sapindaceae) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, 866-870, 2010.

SOUZA, A.L. **Análise proteômica de semente e pericarpo de guaraná em diferentes estádios de maturação**. 2010. 140f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2010.

SOUZA, R.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L.M.P. Plant growth promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, v. 38, p. 401-419, 2015.

SOUZA, R.D.; MENDONÇA, E.A.F.; SOARES, M.A. Antagonistic activity to pathogenic microorganisms by endophytic bacteria isolated from *Echinodorus scaber* Rataj. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 229-232, 2015.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Ed. 2. Instituto Plantarum. Nova Odessa, 2008.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Review**, v. 31, p. 425-448, 2007.

STUEPP, C.A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; WENDLING, I. Leaf presence and indolebutyric acid on cuttings rooting of dragon tree. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 181-193, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M. *et al.* Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858p.

TORRES, E.A.F.S.; PINAFFI-LANGLEY, A.C.C.; FIGUEIRA, M.S. *et al.* Effects of the consumption of guarana on human health: A narrative review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, p. 272-295, 2021.

TOSTA, M.S.; OLIVEIRA, C.V.F.; FREITAS, R.M.O. *et al.* Ácido indolbutírico na propagação vegetativa de cajaraneira (*Spondias* sp.). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 2727-2740, 2012.

TRICAUD, S.; PINTON, F.; PEREIRA, H.S. Saberes e práticas locais dos produtores de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis*) do médio Amazonas: duas organizações locais frente à inovação. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v. 11, n. 1, p. 33-53, 2016.

TRIPTI; KUMAR, A.; USMANI, Z. *et al.* Biochar and flyash inoculated with plant growth promoting rhizobacteria act as potential biofertilizer for luxuriant growth and yield of tomato plant. **Journal of Environmental Management**, v. 190, p. 20–27, 2017.

TROPICOS®. 2012. Missouri Botanical Garden electronic databases. Disponível em: [<http://www.tropicos.org>], acessado em: 14/06/2019.

TSAVKELOVA, E.A.; KLIMOVA, S.L.; CHERDYNTSEVA, T.A. *et al.* Hormones and hormone-like substances of microorganisms: A review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 42, p. 229–235, 2006.

VENTURA, J.A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J.S. Manejo de doenças do mamoeiro. In: MARTINS, D.S.; COSTA, A.F.S. (Eds). A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória, p. 229-307, 2003.

VÉRAS, M.L.; ANDRADE, R.; FIGUEREDO, L.F.D. *et al.* Uso de reguladores vegetais na propagação via estaquia de umbu-cajazeira. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 3, p. 161-170, 2018.

VIEIRA, E.L.; SOUZA, G.S.; SANTOS, A.R. *et al.* Manual de Fisiologia Vegetal. São Luis: EDUFMA, 2010. 230p.

WEBER, O.; BALDANI, V.L.D.; TEIXEIRA, K.R.S. *et al.* Isolation and characterization of diazotrophic bacteria from banana and pineapple plants. **Plant and Soil**, v. 210, p. 103-113, 1999.

WEBER, O.B.; CORREIA, D.; SILVEIRA, M.R.S. *et al.* Efeito da bactéria diazotrófica em mudas micropropagadas de abacaxizeiros Cayenne Champac em diferentes substratos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 689-696, 2003.

WANG, D.; LUO, W.Z.; ZHANG, D.D. *et al.* Insights into the Biocontrol Function of *Burkholderia gladioli* Strain against *Botrytis cinerea*. **Microbiology Spectrum**, v. 11, p. 1-19, 2023.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. Silvicultura clonal - princípios e técnicas. 2. ed. Viçosa: UFV, 2009. 272p.

YUAN, Q.B.; GUO, M.T.; YANG, J. Fate of antibiotic resistant bacteria and genes during wastewater chlorination: Implication for antibiotic resistance control. **Journal Pone**, v. 10, n. 3, p. 1-11, 2015.

ZAKHAROVA, E.A.; SHCHERBAKOV, A.A.; BRUDNIK, V.V. *et al.* Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*: insights from quantum chemistry. **European Journal of Biochemistry**, v. 259, n. 3, p. 572-576, 1999.

ZANDI, P.; BASU, S.K. Role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) as biofertilizers in stabilizing agricultural ecosystems. **Sustainable Development and Biodiversity**, v. 9, p. 71-77, 2016.

ZEM, L.M.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; RADOMSKI, M.I. *et al.* Rooting of semi-hardwood stem cuttings from current year shoots of *Drymis brasiliensis*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 12, p. 2129-2134, 2016.

ZEHRA, A.; RAYTEKAR, N.A; MEENA, M. *et al.* Efficiency of microbial bio-agents as elicitors in plant defense mechanism under biotic stress: A review. **Current Research in Microbial Science**, v. 2, n. 1, p. 1-14, 2021.

ZGADZAJ, R.; GARRIDO-OBTER, R.; JENSEN, D.B. *et al.* Root nodule symbiosis in *Lotus japonicus* drives the establishment of distinctive rhizosphere, root, and nodule bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, p. E7996–E8005, 2016.

ZHU, L.; HUANG, J.; LU, X. *et al.* Development of systemic plant resistance by beneficial rhizobacteria: Recognition, initiation, elicitation and regulation. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1-16, 2022.

## APÊNDICE

Estratégias de propagação do guaranazeiro: Uma revisão

Artigo publicado na *Revista Brazilian Journal of Biology*

Submissão: 25 de junho de 2023

Aceito: 20 de novembro de 2023

Nascimento, A.P., Costa Neto, P.Q., Almeida, L.N., Vieira, L.F.S., Matos Júnior, W.A., Ferreira, C.C., Bezerra, C.S., Casas L.L., Atroch, A.L., Pereira, J.O. Guarana propagation strategies: a review. *Brazilian Journal of Biology*, vol. 83, e275940, pp. 1-11, 2023. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.275940>.

## Estratégias de propagação do guaranazeiro: Uma revisão

A.P. Nascimento<sup>a</sup>, L. N. Almeida<sup>b</sup>, L. F. S. Vieira<sup>b</sup>, W. A. Matos Júnior<sup>b</sup>, C. C. Ferreira<sup>b</sup>,  
C. S. Bezerra<sup>b</sup>, L. L. Casas<sup>b</sup>, P. Q. Costa-Neto<sup>b</sup>, A. L. Atroch<sup>c</sup>, J. O. Pereira<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Manaus, AM, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Faculdade de Ciências Agrárias, Laboratório de Princípios Bioativos de Origem Microbiana, Manaus, AM, Brasil

<sup>c</sup> Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, Brasil

### Resumo

O guaranazeiro [*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke] é uma espécie de grande importância econômica e social no Brasil, pois é o único produtor comercial de guaraná no mundo. O método de propagação vegetativa indicado para a cultura é a estaquia que visa produtividade, tolerância e uniformidade das cultivares clonais, isso porque a reprodução por sementes possui lenta germinação e alta variabilidade genética, o que nas variedades tradicionais é um fator indesejado. Fatores genéticos podem interferir na capacidade de enraizamento da cultura. Estudos buscam alternativas que possam melhorar essa condição e potencializar o sistema produtivo. Uso de reguladores de crescimento, microrganismos promotores do crescimento vegetal, variação de substratos e adubações, tem sido estratégias utilizadas. Ensaio preliminares sobre a taxa de enraizamento caulinar e germinação de sementes com uso de fitormônio exógenos não demonstraram efeitos expressivos em relação à não aplicação desses indutores. O uso de rizobactérias, apresenta-se como atividade promissora em muitas culturas, ainda não foi demonstrado na cultura do guaraná. Por outro lado, a influência de diferentes substratos sobre o enraizamento, já demonstrou resultados significativos em função da taxa de enraizamento. A adubação das plantas matrizes conforme recomendação do sistema de produção para a cultura, comprovadamente é um procedimento eficiente. Constata-se que ainda são escassos estudos voltados à melhoria da propagação do guaranazeiro, demonstrando que novos protocolos precisam ser explorados, ou que os protocolos já utilizados sejam revistos sob outra perspectiva.

**Palavras-chave:** – *Paullinia cupana* – Estaquia – Enraizamento – Indutores de crescimento

### Introdução

Algumas espécies apresentam condições que limitam a propagação das sementes, por apresentarem dormência, por serem recalcitrantes, com pouca capacidade de germinação, com pouca uniformidade de germinação e baixo crescimento da planta (Moura, 2022). Sendo a estaquia um método alternativo de propagação, cujo resultado depende de fatores endógenos e/ou exógenos que influenciam o método, como estado fisiológico da planta matriz, espécies,

proporção dos ramos, tipos e doses de hormônios e condições ambientais como luz, temperatura e umidade (Souza et al., 2020).

O guaranazeiro pode ser propagado através de duas vias: sexuada (sementes) e assexuada (estaquia) (Atroch et al., 2007). A produção de mudas por sementes não é recomendada, devido à grande variabilidade genética, produzindo plantas desuniformes de produtividade variável, se o material genético não for melhorado. Já na propagação assexuada as plantas são obtidas a partir de um propágulo retirado da planta matriz, constituído apenas por células somáticas, permitindo a manutenção das características da planta matriz (Hartmann et al., 2002; Pereira, 2005).

As variáveis que interferem no enraizamento de estacas são diversas, e seus efeitos podem ocorrer isoladamente ou em interação com outros. Todos esses fatores devem ser estudados, visto que a simples modificação de uma ou mais condições pode permitir a propagação vegetativa de espécies de difícil enraizamento, como em algumas variedades do guaranazeiro (Pinto, 2019). Estudos apontam que apesar da seleção de matrizes para produção de mudas de alta qualidade, as cultivares de guaranazeiro possuem diferentes capacidades de enraizamento. Atroch et al. (2007), retratou que existe forte componente genético com relação à capacidade e/ou habilidade para o enraizamento entre as diferentes cultivares de guaranazeiro, o que pode inviabilizar a multiplicação de determinado material em larga escala, mesmo que tenha bom potencial produtivo.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa é a instituição responsável pela conservação dos recursos genéticos do guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) no Brasil e, por meio da seleção de plantas matrizes desenvolveu cultivares com potencial produtivo e resistência à antracnose (Escobar, 1986; Nascimento Filho, 2003; Atroch, 2009), doença causada pelo fungo *Colletotrichum guaranicola* o qual pode chegar a destruir até 80% das áreas cultivadas (Muniz et al., 2011). A Embrapa recomenda a técnica de

propagação vegetativa por meio do enraizamento de estacas, visando produção de mudas em larga escala com intervalos curtos de tempo, que proporciona cultivos homogêneos em produtividade e qualidade, precocidade e tolerância a fitopatógenos (Pereira, 2005; Hartmann et al., 2018).

Esta revisão teve como objetivo fazer levantamento sobre as diferentes estratégias empregadas até hoje visando a melhoria do sistema de produção da cultura do guaranazeiro.

## **O guaranazeiro**

O guaranazeiro é nativo da Amazônia, cujo fruto é o guaraná. Pertence à família Sapindaceae, com cerca de 140 gêneros e 2.000 espécies distribuídas em três subfamílias (Buerki et al., 2012). É uma espécie vegetal arbustiva e trepadeira, dos quais 27 gêneros e 419 espécies ocorrem no Brasil (Somner et al., 2014).

O gênero *Paullinia* possui aproximadamente 200 espécies, está restrito à essa região com poucas exceções na América tropical e subtropical. A espécie *P. cupana* possui duas variedades botânicas, a variedade *sorbilis* encontrada somente no Brasil, e por isso conhecida como guaraná brasileiro, e a *P. cupana* var. *typica*, o guaraná encontrado na Venezuela e Colômbia (Schimpl et al., 2013; Tricaud; Pinton; Pereira, 2016).

Conhecido como guaraná da Amazônia, guaraná, uarana ou narana, é um fruto esférico, preto brilhante, em forma de cápsula com um a três folhetos contendo apenas uma semente. Quando maduro, apresenta principalmente cascas vermelhas e laranjas, se abrindo parcialmente para revelar as sementes. O pericarpo é marrom-escuro e parcialmente coberto por uma substância branca (arilo) e é utilizado para a dispersão do fruto (Kuskoski et al., 2005; Schimpl et al., 2013).

O desenvolvimento do guaraná está relacionado com o regime de precipitação no estado do Amazonas, tendo em vista que o plantio do guaranazeiro ocorre no período chuvoso (janeiro a março) e o florescimento no período seco (julho a setembro), com frutificação dois ou três meses depois (outubro a dezembro), dependendo da maturação do fruto, já que o guaranazeiro apresenta frutificação desuniforme (Embrapa, 1998; Santos et al., 2021).

As condições edafoclimáticas para a cultura são quentes e úmidas, com temperatura média anual entre 23 e 28 °C, umidade relativa de 80% e precipitação de 1.500 a 3.000 mm/ano. Os solos devem ser profundos e bem drenados, sem pedras, e o terreno pode ser plano (drenado) ou inclinado (Pereira, 2005).

O guaranazeiro foi domesticado pelos povos indígenas Sateré-Mawé entre os rios Madeira e Tapajós, na fronteira dos estados do Amazonas e Pará (Pereira, 1954). Transformaram uma trepadeira silvestre em arbusto cultivado, criando o complexo processo de beneficiamento do guaraná (Lorenz, 1992). É uma planta alógama, polinizada principalmente por abelhas e com alta variabilidade genética. A variedade *sorbilis* se distingue das demais espécies do gênero *Paullinia* por apresentar características morfológicas e genéticas, que atualmente sabemos serem causadas pela poliploidia da espécie, contendo  $2n=210$  cromossomos, enquanto as outras espécies do mesmo gênero apresentaram  $2n=24$  (Freitas et al., 2007).

A guaranicultura tem importância econômica e social no Brasil, já que é o único produtor de guaraná no mundo em termos comerciais. A produção atende às necessidades nacionais e internacionais. É cultivada nos estados do Amazonas, Acre, Pará, Rondônia, Mato Grosso e Bahia para fins comerciais (Atroch e Nascimento Filho, 2018) devido seu alto potencial, em função de suas características medicinais com propriedades estimulantes, afrodisíacas e cicatrizantes (Marques et al., 2016).

O guaraná tornou-se uma importante matéria-prima, sendo responsável por cerca de 70% da fabricação de refrigerantes e bebidas energéticas (Suframa, 2013; Machado et al., 2018). Constitui-se um fruto com altos teores de cafeína, amplamente utilizado na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia e, principalmente, na indústria de bebidas, onde o extrato concentrado é responsável pela cor, aroma e sabor dos refrigerantes (Schimpl et al., 2013; Marques et al., 2019).

As sementes podem ser comercializadas de quatro formas diferentes: guaraná em rama (grão torrado); guaraná em bastão (pasta do grão torrado, triturado, pilado e misturado com água em forma de bastão); guaraná em pó (grão torrado e moído); xaropes e essências, sendo esta, a forma mais disponível no mercado (Majhenic; Skerget; Zeliko et al., 2007).

### **Propagação vegetativa**

A propagação vegetativa é utilizada para obter uma planta geneticamente idêntica à planta mãe. A via assexuada consiste na utilização de parte de segmentos de uma planta, e se baseia na premissa da indução do enraizamento adventício, no qual, pretende-se obter a formação de um novo indivíduo idêntico à planta de origem (Lafetá et al., 2016), além de conservar as características genéticas da planta-mãe (matriz), permite a obtenção de muitas mudas a partir de uma única planta, em menor tempo, quando comparado com a reprodução sexuada (Bernardo et al., 2020).

As vantagens vão desde a obtenção de muitas plantas a partir de uma única planta matriz, materiais de propagação melhorados capazes de resistirem a doenças e maior taxa de sobrevivência no campo. O tempo para formação de mudas é menor (sete meses), o início da produção antecipado (dois anos após plantio definitivo), há rápida estabilidade da produção

(três anos) e a produtividade relativamente alta (1,5 Kg sementes secas.planta<sup>-1</sup>) que também são consideradas vantagens (Atroch e Nascimento Filho, 2005).

As plantas podem ser classificadas conforme sua capacidade de enraizamento em três grupos: 1. Plantas de fácil enraizamento: os tecidos vegetais possuem substâncias endógenas necessárias à iniciação radicular e não é necessária a aplicação de auxinas exógenas para que as estacas formem raízes adventícias; 2. Plantas moderadamente fáceis de enraizamento: os tecidos vegetais possuem cofatores necessários, mas não possuem auxinas suficientes, sendo necessária a aplicação de auxinas exógenas para que as estacas tenham sucesso na formação de raízes adventícias; 3. Plantas de difícil enraizamento: os tecidos vegetais não possuem um ou mais cofatores, independentemente da quantidade de auxinas endógenas, desta forma, somente a aplicação de substâncias exógenas não é suficiente para o enraizamento das estacas (Hartmann et al., 2002).

A propagação do guaranazeiro por estaquia, ainda atende as recomendações da Embrapa. As estacas devem ser confeccionadas a partir de plantas matrizes, com bom vigor vegetativo, de ramos novos, não lenhosos e folhas expandidas. Cortadas em bisel e contendo um par de folíolos cortados ao meio. O substrato utilizado para produção de mudas, é uma combinação de terriço e areia, na proporção de 4:1 (v/v), com acréscimo de superfosfato simples por metro cúbico (Pereira, 2005).

As estacas devem ser mantidas sob condições de casa de vegetação de sete a nove meses, com sombreamento de 50%, nebulização feita através de balança de evaporação, para que a água seja distribuída de maneira uniforme na superfície dos meios folíolos. A adubação deve ser feita diretamente no substrato, a cada 30 dias, com uma mistura de 200 g de ureia e 200 g de cloreto de potássio, diluídos em água e preparada antes do uso (Pereira, 2005).

Para que haja a formação de raízes adventícias em uma estaca, após o corte na base da estaca, por meio de uma reação histológica de cicatrização das células exteriores, forma-se uma

placa necrosada, a qual é selada com um material de cortiça (suberina). Esta placa evita a dessecação e a entrada de patógenos na estaca. As células vivas que estão por detrás desta placa começam a se dividir, e uma camada de células do parênquima forma uma massa irregular chamada de “calo” (Hartmann et al., 2002). Este tecido é pouco diferenciado, sendo originado do câmbio vascular, do córtex ou da medula, cuja formação representa o início do processo de regeneração (Fachinello et al., 2005).

As células que se tornam meristemáticas e começaram a se dividir por mitose, presentes na vizinhança do câmbio vascular e floema, dão início à formação das raízes adventícias. A formação dessas raízes dá-se em duas fases, sendo a primeira de iniciação, caracterizada pela divisão celular e, em seguida, vem a fase de diferenciação das células num primórdio radicular, que resulta no crescimento da raiz adventícia (Fachinello et al., 2005).

O sucesso da estaquia depende de fatores endógenos e/ou exógenos, que interferem no método. Por exemplo, o estado fisiológico da planta-mãe, a cultivar, a porção do corte do ramo, substrato, facilidade de enraizamento, tipo e concentrações de reguladores de crescimento, e condições ambientais, como luz, temperatura e umidade (Rios et al., 2012; Stuepp et al., 2015; Souza et al. 2020), além dos devidos cuidados fitossanitários, como a limpeza das tesouras de poda e eliminação de materiais com sintomas de doenças e pragas (Broch et al., 2021).

A estaquia é considerada uma técnica de grande viabilidade econômica para o estabelecimento de plantios clonais, visto que plantas inicialmente bem desenvolvida e de rápido estabelecimento podem reduzir custos e maximizar o sistema produtivo, além dos indivíduos propagados vegetativamente também serem capazes de produzir precocemente e mostrarem maior sobrevivência no estabelecimento inicial (Silva et al., 2018).

### **Propagação por semente**

A reprodução sexuada (germinação da semente) é o principal método de reprodução em plantas superiores e o único método disponível para algumas espécies. É considerada a forma mais segura, pois produz plantas mais vigorosas, com sistema radicular rico e profundo e, portanto, com maior longevidade (Fachinello et al., 2005).

A propagação do guaranazeiro por sementes não tem sido muito recomendada, já que apresenta fecundação cruzada (alógama) (principalmente por abelhas) que induz o aparecimento de indivíduos segregantes, ou em função da autofecundação (Gondim, 1978; Escobar et al., 1984).

O guaraná possui sementes recalcitrantes que rapidamente perdem sua viabilidade. Ademais, esse tipo de propagação resulta em alta variabilidade nas características qualitativas e quantitativas, diversidade de tamanho, forma e coloração das folhas, frutos e sementes, (150 g de semente seca.planta<sup>-1</sup>), variações de resistência a doenças e baixo índice de sobrevivência no campo (Atroch et al., 2007; Albertino et al., 2012).

Para aproveitar suas características, as sementes precisam ser germinadas após a colheita, porém, sua germinação só inicia a partir de sessenta dias após a estratificação, podendo levar até noventa dias para o início do processo. Desta forma as mudas irão crescer até estarem prontas para o plantio, o que ocorre, doze meses após a germinação inicial, precisando estar vigorosas para suportar o transplante para sacos e o plantio no local definitivo (Carvalho et al., 1982).

Com relação às características de germinação, a literatura é bastante contraditória. As sementes apresentam poder germinativo bastante lento e desuniforme, levando de 60 a 80 dias para germinar de acordo com Calzavara (1979), podendo se prolongar por até 180 dias contribuindo para baixa produção de mudas, já que ocorre elevado descarte de plântulas a serem repicadas e mudas em diferentes estágios de desenvolvimento nos viveiros (Frazão et al., 1981). Cardoso (1944) citou que o tempo de germinação também pode variar em função

do substrato, relatando que o tempo de germinação é de 90 a 150 dias quando as sementes são semeadas em substrato de areia, e de 40 a 70 dias em substrato de serragem.

Carvalho et al. (1980) ao avaliarem a germinação de semente de guaranazeiro provenientes de diferentes épocas do ano, verificaram que a germinação e o vigor das sementes não foram afetados pelas épocas de colheita, já que apresentaram alto poder germinativo, quando semeadas imediatamente após a colheita, iniciando sua germinação aos 67 dias de semeadura e terminando aos 177 dias.

O prolongado período para a semente iniciar sua germinação pode ser em função do guaranazeiro não apresentar radícula externamente diferenciada, exigindo certo tempo para que se processe a diferenciação dessa estrutura (Milanez, 1958).

Várias tentativas de padronização do plantio fazendo uso de sementes de guaranazeiro já foram realizadas como forma de se obter uma germinação rápida e uniforme, como uso de sementes de diferentes colheitas, diferentes tamanhos, e submetidas a tratamentos térmicos e químicos. No entanto, nenhum dos métodos se mostrou eficiente na produção de mudas (Conceição et al., 1999).

No final de 2021, a Embrapa, lançou a primeira cultivar de guaranazeiro a ser reproduzida por sementes chamada de BRS-Noçoquém. O desenvolvimento dessa cultivar busca diminuir a propagação da cultura por cultivares clonais, indicando que a propagação vegetativa é considerada um método dispendioso para o produtor, pois exige mais cuidados. Apesar de todas os atributos (resistência à antracnose, alta produtividade e alta variabilidade genética) o tempo para formação das mudas ainda continua sendo lento, doze meses (Souza, 2021).

### **Propagação vegetativa tratadas com ácido indol-3-butírico (AIB)**

Estacas lenhosas podem manifestar dificuldade para enraizar, já que estão distantes da zona de produção de promotores de enraizamento e dessa maneira podem apresentar baixos níveis de auxina endógena (Cardoso, 2022).

No que se refere a fitormônios ou reguladores vegetais, destacam-se as auxinas, giberelinas, citocininas e inibidores de crescimento. Eles são compostos orgânicos que atuam em baixas concentrações como mensageiros químicos que interagem em sítios específicos com proteínas receptoras ligadas a rotas de transdução de sinais. Em plantas, os hormônios ajudam na obtenção de habilidades em resposta a fatores como a luz ou estresses presentes no ambiente em que o vegetal se encontra. Geralmente, esses hormônios são sintetizados em um órgão específico do vegetal, e atuam em outros tecidos adjacentes regulando o desenvolvimento vegetal (Taiz e Zeiger, 2013; Sivasakthi et al., 2014).

A auxina utilizada com maior frequência e primeiro hormônio vegetal a ser descoberto, foi identificado como ácido indol-3-acético (AIA), é o fitormônio mais estudado e sintetizado de forma natural. No entanto existem as auxinas sintéticas como o ácido indol-3-butírico (AIB) e ácido naftaleno acético (ANA) que vêm sendo utilizadas comercialmente na agricultura há mais de 50 anos para diversos fins como, abscisão de frutos e folhas, promoção do florescimento, indução de frutos partenocárpicos e enraizamento de estacas para propagação vegetativa (Taiz e Zeiger, 2013). Esses compostos sintéticos, que não são produzidos pelas plantas, são aplicados exogenamente e podem produzir efeitos similares aos grupos de hormônios vegetais (Vieira et al., 2010).

Segundo Fachinello et al. (2005) estudos afirmaram que o AIB pode ativar a iniciação radicular, promover a formação de raízes em estacas, estimular o aumento no número e na qualidade do sistema radicular, de modo a uniformizar o enraizamento das plântulas.

A utilização de AIB na estaquia tem sido considerada prática fundamental para o enraizamento, pois é considerado fotoestável, de ação localizada e pouco sensível à degradação

biológica, responsável pelos mecanismos de expansão das células, sendo uma classe sintetizada a partir do triptofano, cuja característica se relaciona à capacidade de indução do alongamento das células (Câmara et al., 2017).

Um fator que pode influenciar na formação de raízes adventícias em estacas é a concentração do regulador de crescimento utilizada (Almeida et al., 2007), sendo de extrema importância a utilização correta das concentrações de fitorreguladores a serem aplicados na base das estacas (Dias et al., 2012).

Rodrigues e Lucchesi (1987), avaliando a propagação vegetativa de estacas de guaranazeiro induzidas (capeadas) e com AIB a 50 ppm, demonstraram que as estacas induzidas obtiveram um percentual de enraizamento de 91,70% quando comparadas às estacas tratadas com AIB, que a porcentagem caiu 30%, no entanto, apesar de apresentarem menor percentual de enraizamento, quando as estacas induzidas foram tratadas com AIB, as mesmas apresentaram maior número de raízes.

Rios (1995) avaliou a propagação assexuada de estacas herbáceas de guaranazeiro, com aplicação de diferentes níveis de concentração de ácido indol-3-butírico (AIB) (0, 2000, 4000, 6000 e 8000 ppm) em três variedades denominadas CS1, CS2 e CP1. Os resultados demonstraram uma resposta positiva na concentração de 4000 ppm apresentando maior percentual de número de estacas com calos e número de estacas com raízes. Na concentração de 6000 ppm demonstrou nível adequado para a formação de maior número de raízes por estaca, bem como melhor desenvolvimento longitudinal das raízes. Já a concentração de 8000 ppm se mostrou tóxica para as três variedades. Também foi observado diferentes respostas entre as variedades de guaranazeiros, sendo a variedade CS1 a que apresentou os maiores níveis de resposta, superando CP1 e CS2, que foram menos sensíveis aos tratamentos com AIB.

Garcia, Filho e Silva (1999) em circulares técnicas recomendaram a aplicação de AIB de guaranazeiro por duas vias: seca (pó) ou via líquida. Por via seca a dosagem era de 6000

ppm enquanto que por via líquida era de 4000 ppm. No entanto, através de atualização do sistema produtivo para cultura do guaranazeiro, Pereira (2005) diminui a concentração do fitormônio para 2000 ppm, sendo agora seu tratamento feito apenas por via seca com auxílio de talco inerte.

Atroch et al. (2007) avaliaram o desempenho do enraizamento de 11 clones de guaranazeiro através de várias concentrações do ácido AIB (0, 2000, 4000, 6000, 8000 e 10000 ppm), e observaram que existe variabilidade genética quanto ao percentual de enraizamento, e que os clones se comportaram da mesma forma, independentemente do nível de AIB utilizado, estabelecendo que a interação entre os clones e as doses de AIB não foram significativas, sendo esses clones agrupados em classes (CMU619 e BRS-Amazonas – classe 1 (fácil enraizamento); BRS-CG611, CIR196, BRS-CG608, CMU723 e CMU375 – classe 2 (enraizamento mediano); CMU606, BRS-CG505 e CMA514 – classe 3 (difícil enraizamento); CIR203 – classe 4 (péssimo enraizamento). Também foi possível afirmar que os clones não responderam ao aumento da dosagem de AIB, e que clones de fácil enraizamento não necessitam fazer uso do fitormônio.

Segundo Albertino (2012) avaliando o enraizamento de estacas de guaranazeiro com e sem adição exógena de AIB, foi constatado que independente da cultivar, obteve-se maior percentual de estacas enraizadas, estacas com calo, e menor índice de mortalidade, das estacas sem o AIB.

Pinto (2019) em seu estudo propôs estimar a capacidade de enraizamento de estacas herbáceas de três cultivares de guaranazeiro (BRS-Amazonas, BRS-CG372 e BRS-CG611), submetidas à cinco concentrações de AIB (0, 1000, 2000, 3000 e 4000 ppm). A cultivar BRS-Amazonas apresentou potencial de enraizamento (75%) com a mais alta concentração do fitormônio (4000 ppm), enquanto a BRS-CG372 apresentou bom índice de enraizamento (60%) sem uso de AIB, podendo o fitormônio ter expressado certa toxicidade, tendo em vista que a

maior dose ocasionou redução na sua porcentagem de enraizamento. No entanto, apresentou resultados promissores quanto à qualidade do sistema radicular, já que quando submetida as doses de AIB, as variáveis biométricas como comprimento, volume da raiz e massa seca da raiz, aumentaram de forma significativa.

Lemos (2020) avaliou o efeito de soluções enraizadoras, entre elas o AIB em 15 clones de guaranazeiro e uma cultivar, na concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup>, e mais uma vez foi demonstrado que o uso de reguladores não influencia no enraizamento das estacas, somente favorece a melhoria da qualidade do sistema radicular das estacas, se destacando as variáveis como: volume, massa fresca e massa seca de raízes, gerando resultados expressivos.

O AIB é considerado um dos reguladores menos tóxico às plantas (Hartmann et al., 2002), favorecendo o enraizamento em muitas espécies. Porém, como descrito acima, os trabalhos relacionados com a cultura do guaranazeiro obtiveram resultados não muito promissores com sua utilização ou com o aumento de sua concentração.

### **Propagação por sementes tratadas com ácido giberélico (GA3) e citocinas**

O ácido giberélico estimula o fracionamento de reservas das sementes, liberando e direcionando energia para locais de desenvolvimento do embrião. Com isso, há o estímulo do alongamento e da divisão celular, provocando o rompimento do tegumento pela raiz, acelerando a velocidade de emergência das sementes com uniformidade (Stenzel et al., 2003; Silva et al., 2014). Já as citocinas podem levar à divisão celular e ativar o crescimento do embrião, levando à germinação (Miransari e Smith, 2014).

De acordo com Atroch et al. (2020) ao avaliar a germinação e o vigor de plântulas de guaranazeiro fazendo uso de diferentes concentrações de reguladores de crescimento como giberelina e citocina BAP (0,0 mg/L (testemunha), 10 mg/L, 15 mg/L e 20 mg/L), constataram

que o uso de giberelina teve efeito na germinação e aumento do vigor das plântulas de acordo com as variáveis: média de germinação, altura e número de folhas por plântula, em comparação aos tratamentos com BAP. Apresentou ainda resultados semelhantes aos observados na propagação vegetativa fazendo uso do AIB, em função do aumento das dosagens dos reguladores, demonstrando efeito inibitório em relação a testemunha. A hipótese apresentada para esse efeito, foi a possibilidade de as sementes apresentarem dormência morfológica ou morfofisiológica, o que direciona a novos estudos.

### **Propagação por sementes induzidas por rizobactérias promotoras do crescimento vegetal**

Rizobactérias formam um vasto grupo de microrganismos rizosféricos que habitam o solo e que circundam as raízes, atraídos pelos exsudados radiculares (Ahemad e Kibret, 2014). Esses microrganismos atuam na promoção de crescimento das plantas, sendo chamadas de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV) ou rizobactérias multifuncionais, podendo ser de diferentes gêneros, utilizadas de forma isolada (inoculação) ou combinada (coinoculação) e contribuindo beneficemente para o desenvolvimento de uma ou mais espécies vegetais, através de diferentes mecanismos de ação (Compant et al., 2005; Freitas, 2007).

Segundo Gray e Smith (2005), as rizobactérias podem ser classificadas em intracelulares e extracelulares. As intracelulares vivem dentro de células radiculares, em estruturas nodulares especializadas, destacando aquelas que fixam nitrogênio simbioticamente em plantas leguminosas, como bactérias dos gêneros *Bradyrhizobium* e *Rhizobium* (Bhattacharyya e Jha, 2012). As extracelulares habitam a rizosfera ou os espaços entre as células do córtex da raiz, abrangendo as rizobactérias de vida livre e as endofíticas, com destaque para os gêneros *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp., *Pseudomonas* sp. e *Serratia* sp.

A promoção do crescimento vegetal advinda do uso de insumos biológicos está diretamente relacionada à produção e à exsudação de fitormônios, como as auxinas, que ao interagirem com as plantas são capazes de promover o crescimento e o alongamento celular, refletindo no crescimento do sistema radicular e da parte aérea da planta (Paulino et al., 2018).

As modificações ocorridas em virtude dessa associação resultam em melhorias na absorção de água, sais minerais e tolerância a estresses abióticos (Araújo et al., 2020; Aboelmagd, 2021), além da indução de resistência a patógenos (Atakan e Ozkaya, 2021). A utilização nas culturas de interesse pode ser benéfica, principalmente sob condições em que o solo se encontra com fertilidade baixa. Isso porque, a partir da síntese de hormônios vegetais o crescimento radicular aumenta, o que permite maior exploração por água e nutrientes, assim como mecanismos diretos ligados a maior disponibilização de nitrogênio, fósforo e potássio (Hungria et al., 2016).

Outro benefício bastante conhecido oriundo do uso de microrganismos é o controle de doenças de plantas. Os mecanismos que ajudam a explicar é o processo de antibiose, no qual são produzidos metabólitos com propriedades fungicidas, antibióticas e os nematicidas, sendo estes capazes de degradar a membrana celular do patógeno, causando sua morte (Ferreira, 2019). Além desses, há o parasitismo, o processo de competição, a predação e a indução de resistência (Wu et al., 2015; Ferreira, 2019).

O aumento da biomassa radicular é um fator benéfico para a planta em processos de aclimatização e enraizamento, diminuindo assim perdas nesses processos. O uso de rizobactérias com essa finalidade já foi relatado por diversos autores, pelo aumento da biomassa radicular e maior área de absorção de nutrientes (Ovando-Medina et al., 2007).

Ao avaliar a inoculação de rizobactérias como *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria* sobre o desenvolvimento de mudas de guaranazeiro propagadas por sementes, observou que independentemente do tipo de interação, as rizobactérias não apresentaram efeitos benéficos

sobre as variáveis analisadas como (matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz, matéria seca total, diâmetro da raiz e área foliar) (Gama, 2015).

A cepa do gênero *Bacillus* sp. descrita como RZ2MS9, utilizada no trabalho de Gama (2015), foi previamente isolada da rizosfera de plantas de guaranazeiro amazônico, e mostrou potencial como promotora de crescimento de culturas de interesse comercial como milho e soja, sendo a produção de AIA apontada pelo efeito promotor de crescimento (Batista, 2012, 2018).

O grupo de bactérias do gênero *Bacillus* sp. se destaca como promotor de crescimento, tendo sido observado seus mecanismos de ação através da rápida germinação das sementes, emergência de plântulas até o crescimento/desenvolvimento das plantas, o que fez com que a planta atingisse o estágio adulto mais rapidamente, permanecendo menos tempo no campo e favorecendo o escape contra pragas e doenças (Ribeiro; Sei; Leite, 2011).

Apesar dos efeitos benéficos de rizobactérias como do gênero *Bacillus* sp. descritos e relatados em algumas pesquisas, ainda se constata grande variabilidade de respostas com o uso da inoculação e coinoculação de microrganismos multifuncionais, ou seja, alguns resultados mostram à promoção e outros a inibição do crescimento vegetal (Silva et al., 2022).

### **Propagação vegetativa por influência de diferentes substratos**

Entre os fatores que influenciam na formação de raízes em estacas, está o substrato e o potencial genético de enraizamento (Fachinello et al., 1995). O substrato de cultivo implica em um fator preponderante no desenvolvimento e maior vigor de mudas, principalmente, quando incorpora características físicas e químicas adequadas à produção (Silva et al., 2017; Marques et al., 2019).

A qualidade do substrato está relacionada com a presença de características como a ausência de patógenos, nutrientes essenciais, textura, estrutura e pH adequado, retenção hídrica, porosidade, água disponível, salinidade e composição da matéria orgânica (Silva et al., 2022).

Segundo Klein et al. (2012) e Xavier et al. (2013) o substrato exerce funções como sustentação no momento de formação das raízes adventícias, além de manter sua base úmida, escura, e arejada para acontecer a rizogênese, provendo mudas com características superiores.

Em viveiros, o uso de substrato pobre em nutrientes, ou nutricionalmente desequilibrado, é comum, causando baixa qualidade das mudas, comprometendo seu desempenho no campo, tornando necessário o uso de adubação mineral, principalmente de macronutrientes, que são requeridos em maior quantidade pelas plantas (Silva et al., 2015).

Não é fácil achar um produto que tenha todas as condições necessárias de cultivo para diferentes espécies, inclusive as espécies florestais (Siqueira et al., 2018). Os melhores ganhos em relação a produção de mudas e/ou enraizamento de estacas foram alcançados com o uso de substratos formados por restos vegetais ou compostos orgânicos (Mourão Filho et al., 1998; Salvador e Moreira, 1999; Bezerra; Rosa, 2002).

Ao utilizar resíduos orgânicos para compor os substratos, esses resíduos como matéria-prima pode resultar em benefício econômico, além de reduzir os insumos químicos e aumentar à disponibilidade de nutrientes às plantas (Ferreira et al., 2015). Antigamente a formulação de substratos era o próprio solo, combinado com esterco bovino, principalmente para produção de mudas em sacos plásticos (Trazzi et al., 2012). Todavia, com o avanço da tecnologia e de pesquisas na produção de mudas, surgiram outros tipos de constituintes alternativos, que passaram a ser amplamente empregados, como a casca de arroz, fibra de coco, casca de café, vermiculita, turfas, bagaço da cana-de-açúcar, subprodutos agroindustriais, dentre outros (Kratz et al., 2016).

Rodrigues e Lucchesi (1987) ao avaliarem o enraizamento do guaranazeiro fizeram uso de substrato contendo apenas areia lavada, esterilizada com brometo de metila. Hartmann et al. (2002) afirmaram que o substrato adequado, é aquele que favorece o enraizamento, devendo conter espaços suficientes que permitam que as trocas gasosas aconteçam, tendo em vista que a maior disponibilidade de oxigênio na base das estacas melhora a atividade celular durante o processo de formação de calos e conseqüentemente na emissão de raízes. A areia nesse sentido é composta de partículas minerais inertes com baixa retenção de água (Wendling, 2002), alta densidade, drenagem rápida e eficiente, conferindo aeração ideal (Kämpf, 2000). Visto que o guaranazeiro precisa receber continuamente água em poucas quantidades durante o enraizamento, e que de forma alguma as estacas devem ficar encharcadas, o uso de areia compondo o substrato se justifica.

A Embrapa através do Sistema de Produção para o guaraná (1998), propôs uso de um substrato composto da mistura de terriço da mata e areia, na proporção de 4:1, além da suplementação em um metro cúbico da mistura, com adição de 1 Kg de superfosfato simples.

Após sete anos, o Sistema de Produção para o guaraná foi atualizado, e a recomendação vigente de substrato até os dias atuais é formado da mistura de terriço da mata e areia, na proporção de 4:1, além da suplementação em um metro cúbico da mistura, com adição de 3 Kg de superfosfato simples (Pereira et al., 2005). O aumento da suplementação se justifica já que o fósforo frequentemente limita o desenvolvimento das plantas; além dessa adubação possuir outros elementos como cálcio que estimula o desenvolvimento das raízes e o enxofre que participa ativamente da formação de moléculas orgânicas como aminoácidos, proteínas e enzimas que estão envolvidas no ciclo de vida vegetal. Segundo Wendling et al. (2002) geralmente, quanto maior a quantidade de matéria orgânica no substrato, menor é a drenagem do mesmo e maior é a sua capacidade de retenção de água.

Visto que o percentual de enraizamento de várias cultivares ainda é relativamente baixo, Arruda et al. (2007) buscaram avaliar o percentual de enraizamento de 12 clones de guaranazeiros em três substratos diferentes. Os substratos testados foram uma mistura com base em volume de 50% de solo + 50% de esterco de galinha (v/v); 50% de esterco de galinha + 50% de carvão moído passado em peneira de 10 mm (v/v) e substrato comercial para hortaliças (Plantmax®). De maneira geral, considerando a média de todos os clones, o substrato comercial e o esterco de aves com carvão proporcionaram os melhores resultados 55,9 e 49,3% de pegamento entre os clones, respectivamente. O substrato formado por solo e esterco de aves se mostrou pouco eficiente, pois resultou em um substrato denso, que retia muita água e impossibilitava a oxigenação dos tecidos responsáveis pelo desenvolvimento do sistema radicular.

Sendo assim, a seleção de substratos que possam prevenir a desidratação da base da estaca, e que possuam espaços que facilitem o fornecimento de oxigênio (Sommer et al., 2022) é essencial para a formação de mudas, tendo em vista que uma baixa oxigenação causa a paralisação do crescimento das raízes (Wendling et al., 2002).

### **Propagação vegetativa com influência de adubação**

O jardim clonal, onde são cultivadas as plantas matrizes, é um componente importante da estrutura de empreendimentos rurais destinados a produção de mudas de espécies lenhosas. Normalmente, essas áreas são compostas por plantas matrizes selecionadas conforme características de interesse como produtividade, resistência a doenças, déficit hídrico e, tem como objetivo, a produção de propágulos vegetativos, para a produção de mudas (Carvalho e Silva, 2012).

Entre as etapas de produção de mudas que interferem diretamente no crescimento das plantas, mesmo quando em condições de campo, está a adubação (Rosário et al., 2022).

A retirada sequencial de partes vegetativas para a produção de estacas é responsável pela exportação de nutrientes essenciais à planta, sendo, portanto, necessária a reposição desses nutrientes (Bazoni et al., 2020). O manejo nutricional das plantas do jardim clonal, deve ser realizado de forma a suprir as necessidades fisiológicas para que haja crescimento e desenvolvimento das matrizes e produção de propágulos (Kolln, 2020).

O vigor da planta matriz, aliada à uma nutrição equilibrada, poderá induzir positivamente na rizogênese das estacas, definindo a concentração de carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos, auxinas, compostos fenólicos, entre outras substâncias promotoras do enraizamento (López-Bucio et al., 2002; Cunha et al., 2009).

Cunha et al. (2009) descrevem na tabela 1 as demandas de macro e micronutrientes em *Eucalypto globulos* durante a formação de raízes de espécies lenhosas.

**Tabela 1** - Requerimentos nutricionais durante o processo de enraizamento adventício para eucalipto

<b>Função/Atuação</b>	<b>Nutriente(s) requerido(s)</b>
<b>-----Fase de indução-----</b>	
Síntese de proteínas	N, K, Mg, S, Zn, Mo
Síntese de ácidos nucléicos	N, P, Mg, Zn, B, Mo
Metabolismo de carboidratos	N, P, K, S, Mn, B
Metabolismo de hormônios	N, Ca, Zn, B, Fe, Mn, Cu
Osmorregulação	K
Divisão celular	Ca, B
Metabolismo de peroxidases	Ca, Cu, Fe, Mn, B
Metabolismo de fenóis	Cu, B, Zn
Respiração	N, P, K, S, Mg
<b>-----Fase de formação-----</b>	
Formação da parede celular	Ca, Fe, Cu, B
Lignificação	Cu, Fe, Mn, B
Alongamento celular	Ca, Fe, Mn, Zn, B

Fonte: Cunha et al. (2009).

A adubação do guaranazeiro deve ser realizada em três períodos diferentes ao longo do ano, e em proporções que variam no decorrer dos anos. A recomendação descrita por Pereira et al. (2005) segue na Tabela 2.

**Tabela 2** - Recomendação de adubação para o guaranazeiro no estado do Amazonas.

Idade	Parcelamento	g/planta					
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	Mg	B	Zn
1º Ano*	No plantio 3 meses após o plantio	-	25	-	-	-	-
		8	-	24	5	1	1
Total de adubo ao ano		8	16	24	5	1	1
2º Ano*	1ª aplicação	8	50	-	5		
	2ª aplicação	8	-	24	-	1	1
	3ª aplicação	8	-	24	-		
Total de adubo ao ano		24	50	48	10	1	1
3º Ano*	1ª aplicação	18	50	-	10	-	-
	2ª aplicação	18	-	24	-	1	1
	3ª aplicação	36	-	48	-	-	-
Total de adubo ao ano		72	50	72	10	1	1

1ª aplicação: final do período produtivo, logo após a poda de limpeza (janeiro).

2ª aplicação: logo após a poda de frutificação, lançamento de ramos novos (abril).

3ª aplicação: logo antes do início da floração (maio).

\*Esta adubação deve ser feita sempre até maio, mesmo que não tenha completado os três meses.

Fonte: Pereira et al. (2005).

Como o conhecimento sobre a cultura ainda é de certa forma escasso, e desde 2005 não sofreu atualizações, Albertino et al. (2012) buscaram avaliar o efeito da adubação de plantas matrizes (BRS-Amazonas, BRS-Maués, BRS-Mundurucânia, BRS-CG611, BRS-CG882 e o genótipo CMU381) no enraizamento das estacas de guaranazeiro, seguindo as recomendações descritas por Pereira et al. (2005) para plantas com idade de três anos. Desta forma percebeu-se que a adubação de plantas matrizes de guaranazeiro, comparado a plantas que não receberam adubação, aumentou o percentual de enraizamento e reduziu a mortalidade das estacas, de forma significativa. Na análise conjunta do percentual de estacas enraizadas e mortas, nos dois anos de experimento, os valores de enraizamento foram superiores a 60% nas estacas retiradas de matrizes adubadas.

Esses dados comprovam que a condição nutricional da planta matriz é essencial não somente quanto à aparência de seu vigor vegetativo e do desenvolvimento de brotações, como também quanto à quantidade e concentração dos minerais nos propágulos vegetativos, aumentando significativamente os índices de enraizamento e velocidade da rizogênese (Modenezi, 2019).

Foi verificado também que os parâmetros biométricos aumentaram com a adubação (número, volume e massa de matéria seca das raízes de guaranazeiro). O único parâmetro que não sofreu influência da adubação foi o comprimento das raízes. Essas características evidenciam que determinadas cultivares de guaranazeiro são dependentes dos níveis iniciais de nutrientes dentro da porção da estaca onde as raízes são formadas (Albertino et al., 2012).

## **Conclusão**

O método de propagação recomendado nos sistemas de produção para o guaranazeiro é pela técnica de propagação vegetativa.

A propagação via estaquia apesar de promover características relevantes para propagação da cultura, ainda se depara com alguns entraves no que diz respeito ao enraizamento por parte de algumas cultivares clonais. Estudos com abordagens diferentes testaram metodologias que tentaram transpor esse obstáculo. O tratamento das estacas com diferentes concentrações de AIB não revelaram resultados significativos com seu uso ou com aumento de sua concentração. Em determinadas concentrações as diferentes cultivares clonais apresentaram apenas aumento de algumas variáveis biométricas. E o uso de giberelinas e citocinas na germinação e vigor de sementes também não se mostrou eficiente, mesmo a giberelina tendo apresentado diferença significativa em relação a citocina.

Quanto ao uso de rizobactérias em sementes de guaranazeiro apesar de ter apresentado resultados promissores em outras culturas de interesse comercial como milho e a soja, não apresentaram resultados significativos para as variáveis analisadas. O substrato comercial Plantmax®, junto com esterco de aves e carvão proporcionaram os melhores resultados de enraizamento entre os clones. Foi verificado que a adubação das plantas matrizes é essencial para o enraizamento do guaranazeiro, visto que para formação de raízes, as estacas dependem dos nutrientes que estão armazenados na estaca providos da planta matriz.

Observa-se com este levantamento a escassez de trabalhos direcionados à melhoria dos métodos de propagação da cultura do guaranazeiro. Novos protocolos precisam ser estabelecidos para favorecer a germinação das sementes e técnicas de propagação vegetativa. Uma das opções seria explorar o uso de rizobactérias, tanto na germinação de sementes, fazendo uso de diferentes concentrações da cultura, como a inoculação da cultura na base da estaca, favorecendo sua entrada, tendo em vista que ela produz AIA, o mesmo fitormônio usando pela planta, estimulando dessa forma a produção de raízes adventícias.

Recomenda-se que sejam realizados mais estudos referentes à utilização de diferentes substratos em contraste aos recomendados pela Embrapa, de modo que possam interferir na produção de sementes com melhores reservas, o que irá influenciar no percentual de germinação e confecção de estacas. Estudos que se aprofundem na composição química e física dos substratos, levando em consideração que a maior parte da produção é realizada por pequenos grupos familiares, dar atenção a matérias primas mais utilizadas por estes, para que assim se obtenha um substrato de qualidade, onde apresente-se economicamente viável, disponível na região, ausente de patógenos e com nutrientes adequados para o crescimento das mudas.

## **Agradecimentos**

Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM 002/2018 - UNIVERSAL AMAZONAS).

## Referências

- ABOELMAGD, H.E., 2021. Efficacy of some bio-agents, chemical inducers and fungicides in controlling tomato root rot disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Annals of Agricultural Science*, vol. 59, no. 2, pp. 197-210.
- ALBERTINO, S.M.F., NASCIMENTO FILHO, F.J., SILVA, J.F., ATROCH, A.L., LIMA GALVÃO, A.K., 2012. Enraizamento de estacas de cultivares de guaranazeiro com adubação de plantas matrizes. *Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 47, pp. 1449-1454.
- AHEMAD, M. and KIBRET, M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, vol. 26, no. 1, pp. 1-20.
- ALMEIDA, F.D., XAVIER, A., DIAS, J.M.M., PAIVA, H.N., 2007. Eficiência das auxinas (AIB e ANA) no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. *Revista Árvore*, vol. 3, pp. 455-463.
- ARAÚJO, V.C., ROSSATI, K.F., XAVIER, L.V., OLIVEIRA, V.A., CARMO, G.J.S., ASSIS, G.A., MENDES, G.O., 2020. Enhanced growth in nursery of coffee seedlings inoculated with the rhizosphere fungus *Aspergillus niger* for field transplantation. *Rhizosphere*, vol. 15, no. 100236, pp 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100236>.
- ARRUDA, M.R., PEREIRA, J.C.R., MOREIRA, A., 2007. Enraizamento de estacas herbáceas de clones de guaranazeiro em diferentes substratos. *Ciência e Agrotecnologia*, vol. 31, no. 1, pp. 236-241.
- ATAKAN, A. and OZKAYA, H.O., 2021. Induced resistance to *Fusarium* wilt in carnation with mixture of mycorrhizal fungi. *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 30, no. 4 A, pp. 4217-4227.
- ATROCH, A.L. and NASCIMENTO FILHO, F.J., 2005. Classificação do coeficiente de variação na cultura do guaranazeiro. *Revista de Ciências Agrárias*, no. 43, pp. 43-48.
- ATROCH, A.L., CRAVO, M.S., SANTOS, J.A., 2007. Enraizamento de clones de guaranazeiro tratados com ácido Indol-3-Butírico (AIB). *Revista de Ciências Agrárias*, no. 47, pp. 103-111.
- ATROCH, A.L., 2009. *Avaliação e seleção de progênies de meios irmãos de guaranazeiro (Paullinia cupana var. sorbilis (Mart.) Ducke) utilizando caracteres morfoagronômicos*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA, 72p. Tese de Doutorado em Genética.

ATROCH, A.L. and NASCIMENTO FILHO, F.J., 2018. Guaraná - *Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. *Exotic Fruits*, pp. 225-236. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00029-0>.

ATROCH, E.M.A.C., CAVALCANTE, V.M.V., ATROCH, A.L., NASCIMENTO FILHO, F.J., 2020. Reguladores de crescimento na germinação de sementes e vigor de plântulas de guaranazeiro. *Biodiversidade*, vol. 19, no. 1, pp. 40-49.

BATISTA, B.D., 2012. *Promoção de crescimento em milho (Zea mays L.) por rizobactérias associadas à cultura do guaranazeiro (Paullinia cupana var. sorbilis)*. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 129p. Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas.

BATISTA, B.D., 2017. *Promoção de Crescimento Vegetal por Bacillus sp. RZ2MS9: dos genes ao campo*. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 108p. Tese de Doutorado em Ciências - Área de Concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

BAZONI, P.A., ESPINDULA, M.C., ARAÚJO, L.F., VASCONCELOS, J.M., CAMPANHARO, M., 2020. Production of cuttings and nutrient export by *Coffea canefora* in different periods in the Southwestern Amazon. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 24, no. 3, pp. 162-169. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v24n3p162-169>.

BERNARDO, B.E.C., SATO, A.J., ZONETTI, P.C., 2020. Propagação por estaquia de erva-baleeira (*Cordia verbanacea* DC.). *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, vol. 13, no. 3, pp. 947-957. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2020v13n3p947-957>.

BEZERRA, F.C. and ROSA, M.F., 2002. *Utilização do pó da casca de coco-verde como substrato para produção de mudas de alface*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, pp. 4. (Documentos, 71).

BHATTACHARYYA, P.N. and JHA, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 28, no. 4, pp. 1327-1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>.

BROCH, J.L., SCHOFFEL, A., BÜHRING, J.A., GENZ, W.F., CAMERA, J.N., KOEFENDER, J., 2021. Extrato aquoso de tiririca na estaquia de guaco (*Mikania glomerata*). *Holos*, vol. 4, e9513, pp. 1-9. <https://doi.org/10.15628/holos.2021.9513>.

BUERKI, S., FOREST, F., CALLMANDER, M.W., LOWRY II, P.P., DEVEY, D.S., MUNZINGER, J., 2012. Phylogenetic inference of New Caledonian lineages of Sapindaceae: Molecular evidence requires a reassessment of generic circumscriptions. *Taxon*, vol. 61, no. 1, pp. 109-119. <https://doi.org/10.1002/tax.611008>.

CALZAVARA, B.B.G., 1979. *Orientação cultural do guaranazeiro*. Belém: FCAP, 53p. (Informe Técnico, 2).

CÂMARA, F.M.M., PEREIRA, G.A., MENDONÇA, V., PEREIRA, E.C., SILVA, F.S.O., OLIVEIRA, L.M., CARDOSO, R., 2017. Tipos de estacas e concentrações de ácido indol-

butírico (AIB) na propagação de amora (*Morus nigra*). *Revista de la Facultad de Agronomía*, vol. 116, no. 2, pp. 187-191.

CARDOSO, W., 1944. Sementeiras em serragem. *Secção de Fomento Agrícola do Estado do Pará*, vol. 3, no. 2, pp. 27-33.

CARDOSO, A.S., 2022. *Diferentes substratos e tipos de estacas no enraizamento de Ixora coccinea L. 'Compacta'*. Itacoatiara: Universidade Federal do Amazonas, 19p. Trabalho de Conclusão do Curso de Agronomia.

CARVALHO, J.E.U., FIGUEIREDO, F.J.C., FRAZÃO, D.A.C., KATO, A.K., 1980. *Germinação de sementes de guaraná provenientes de diferentes épocas de colheita*. Belém: EMBRAPA – CPATU, pp. 13 (Boletim de Pesquisa, 17).

CARVALHO, J.E.U., FRAZÃO, D.A.C., FIGUERÊDO, F.J.C., OLIVEIRA, R.P., 1982. *Conservação da viabilidade de sementes de guaraná (Paullinia cupana var. sorbilis (Mart.) Ducke)*. Belém: Embrapa CPATU, pp. 12 (Embrapa CPATU. Circular Técnica, 35).

CARVALHO, J.M.F.C. and SILVA, M.M.A., 2012. *Plantas matrizes na propagação vegetativa*. Campina Grande: Embrapa Algodão, Documentos, no. 242, pp. 36.

COMPANT, S., DUFFY, B., NOWAK, J., CLÉMENT, C., BARKA, E.A., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 71, no. 9, pp. 4951-4959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>.

CONCEIÇÃO, C.C.C., MOTA, M.G.C., KATO, A.K., 1999. Estimativas de parâmetros genéticos para germinação de sementes de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke). *Revista de Ciências Agrárias*, no. 32, pp. 47-53.

CUNHA, A.C.M.C.M., PAIVA, H.N., LEITE, H.G., BARROS, N.F., LEITE, F.P., 2009. Influência do estado nutricional de minicepas no enraizamento de miniestacas de eucalipto. *Revista Árvore*, vol. 33, no. 4, pp. 607-615. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622009000400003>.

DIAS, J.R.M., SILVA, E.D.A., GONÇALVES, G.S., SILVA, J.F., SOUZA, E.F.M., FERREIRA, E., STACHIW, R., 2012. Enraizamento de estacas de cafeeiro imersas em extrato aquoso de tiririca. *Coffee Science*, vol. 7, no. 3, pp. 259-266.

EMBRAPA. 1998. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental (Manaus – AM). Sistema de Produção para Guaraná. Manaus, pp. 34p (Embrapa – CPAA. Documentos, 13).

ESCOBAR, J.R., CORRÊA, M.P.F., AGUILERA, F.J.P., 1984. Estruturas florais, floração e técnicas para a polinização controlada do guaranzeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 19, no. 5, pp. 615-622.

ESCOBAR, J.R., 1986. Relatório de atividade de pesquisa, convênio IICA/EMBRAPA/UEPAE de Manaus 1981-86. Manaus: IICA/EMBRAPA, pp. 117.

FACHINELLO, J.C., HOFFMANN, A., NACHTIGAL, J.C., KERSTEN, E., FORTES, G.R.L., 1995. *Propagação de plantas frutíferas de clima temperado*. Pelotas: UFPEL-Ed. Universitária, pp. 178.

FACHINELLO, J.C., HOFFMANN, A., NACHTIGAL, J.C., 2005. *Propagação de plantas frutíferas*. Brasília: Embrapa, pp. 221.

FERREIRA, A.B., ALVARENGA, S.H.F., SÃO JOSÉ, J.F.B., 2015. Qualidade de frutas e hortaliças orgânicas comercializadas em feiras livres. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, vol. 74, no. 4, pp. 410-419. <https://doi.org/10.53393/rial.2015.v74.33494>.

FERREIRA, T.C., 2019. Biocontrole de patógenos de solo e promoção de crescimento vegetal promovidos por *Bacillus* spp. em milho. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural*, vol. 15, pp. 337-356.

FRAZÃO, D.A.C., FIGUERÊDO, F.J.C., CORRÊA, M.P.F., OLIVEIRA, R.P., POPINIGIS, F., 1981. *Tamanho da semente de guaraná e sua influência na emergência e no vigor*. Belém: Embrapa CPATU, pp. 15 (Embrapa CPATU. Circular Técnica, 20).

FREITAS, S.S., 2007. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: SILVEIRA, A.P.D., FREITAS, S.S. *Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental*. 1. ed. Campinas: Instituto Agrônomo, pp. 1-20.

FREITAS, D.B., CARVALHO, C.R., NASCIMENTO FILHO, F.J., ASTOLFI-FILHO, S., 2007. Karyotype with 210 chromosomes in guaraná (*Paullinia cupana* “Sorbilis”). *Journal of Plant Research*, vol. 120, pp. 399-404.

GAMA, L.A., 2015. *Inoculação de rizobactérias em sementes e plântulas para produção de mudas de guaranazeiro*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 68p. Dissertação de Mestrado em Agronomia Tropical.

GARCIA, T.B., NASCIMENTO FILHO, F.J., SILVA, S.E.L., 1999. *Propagação vegetativa do guaranazeiro (Paullinia cupana var. sorbilis)*. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, pp. 20 (Circular Técnica, 4).

GONDIM, C.J.E., 1978. *Alguns aspectos da biologia reprodutiva do guaraná*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)/ Fundação Universidade do Amazonas, 87p. Dissertação de Mestrado.

GRAY, E.J. and SMITH, D.L., 2005. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil biology and biochemistry*, vol. 37, no. 3, pp. 395-412.

HARTMANN, H.T., KESTER, D.E., DAVIES JR, F.T., GENEVE, R.L., 2002. *Propagação de plantas: princípios e práticas*. 7 ed. New Jersey: Prentice Hall, 880p.

HARTMANN, H., MOURA, C.F., ANDEREGG, W.R., RUEHR, N.K., SALMON, Y., ALLEN, C.D., ARNDT, S.K., BRESHEARS, D.D., DAVI, H., GALBRAITH, D., RUTHROF, K.X., WUNDER, J., ADAMS, H.D., BLOEMEN, J., CAILLERET, M., COBB, R., GESSLER, A., GRAMS, T.E., JANSEN, S., KAUTZ, M., LLORET, F., O'BRIEN, M., 2018. Research

frontiers for improving our understanding of drought-induced tree and forest mortality. *New Phytologist*, vol. 218, no. 1, pp. 15-28. <https://doi.org/10.1111/nph.15048>.

HUNGRIA, M., NOGUEIRA, M.A., ARAUJO, R.S., 2016. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: an environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol. 221, pp. 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.024>

KÄMPF, A.N., 2000. Substrato. In: KÄMPF, A.N. Produção comercial de plantas ornamentais. *Agropecuária*, pp. 45-73.

KLEIN, C. and AGNE, S.A.A., 2012. Fósforo: De nutriente à poluente. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, vol. 8, no. 8, pp. 1713-1721.

KOLLN, A.M., 2020. *Manejo nutricional de plantas matrizes de Coffea canephora destinadas a produção de estacas*. Rondônia: Universidade Federal de Rondônia. 58p. Dissertação de Mestrado Acadêmico em Ciências Ambientais.

KRATZ, D. and WENDLING, I., 2016. Crescimento de mudas de *Eucalyptus camaldulensis* em substratos à base de casca de arroz carbonizada. *Revista Ceres*, vol. 63, pp. 348-354. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201663030011>.

KUSKOSKI, E.M., ROSEANE, F., GARCIA, A.A., TRONCOSO, G.A.M., 2005. Propriedades químicas y farmacológicas del fruto guaraná (*Paullinia cupana*). *Vitae*, vol. 12, no. 2, pp. 45-22.

LAFETÁ, B.O., DE MATOS, M.P., LAGE, P., FERRARO, A.C., PENIDO, T.M.A., 2016. Ácido indol-3-butírico (AIB) no enraizamento de estacas de fedegoso gigante. *Pesquisa Florestal Brasileira*, vol. 36, no. 88, pp. 489-496. <https://doi.org/10.4336/2016.pfb.36.88.1084>.

LEMOS, M.S.S., 2020. *Efeito das soluções enraizadoras AIB, 2,4-D e ANA em estacas de guaranazeiro*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 82p. Dissertação de Mestrado em Agronomia Tropical.

LÓPEZ-BUCIO, J., HERNÁNDEZ-ABREU, E., SÁNCHEZ-CALDERÓN, L., NIETO-JACOBO, M.F., SIMPSON, J., HERRERA-ESTRELLA, L., 2002. Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiology*, vol. 129, pp. 244-256. <https://doi.org/10.1104/pp.010934>.

LORENZ, S.S., 1992. *Sateré-Mawé: Os filhos do guaraná*. ed. São Paulo: Centro de trabalho indigenista (CTI). 160p.

MACHADO, K.N., FREITAS, A.A., CUNHA, L.H., FARACO, A.A.G., PÁDUA, R.M., BRAGA, F.C., VIANNA-SOARES, C.D., CASTILHO, R.O., 2018. A rapid simultaneous determination of methylxanthines and proanthocyanidins in Brazilian guarana (*Paullinia cupana* Kunth). *Food Chemistry*, vol. 239, pp. 180-88. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.089>.

- MAJHENIC, L., SKERGET, M., ZELIKO K., 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, vol. 104, no. 3, pp. 1258-1268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.074>.
- MARQUES, L.L.M., PANIZZON, G.P., AGUIAR, B.P.A., SIMIONATO, A.S., CARDOZO-FILHO, L., ANDRADE, G., OLIVEIRA, A.G., GUEDES, T.A., MELLO, J.C.P., 2016. Guarana (*Paullinia cupana*) seeds: Selective supercritical extraction of phenolic compounds. *Food Chemistry*, vol. 212, pp. 703-711. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.028>.
- MARQUES, L.L.M., FERREIRA, E.D.F., PAULA, M.N., KLEIN, T., MELLO, J.C.P., 2019. *Paullinia cupana*: a multipurpose plant - a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 29, pp. 77-110. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.08.007>.
- MILANEZ, F.R., 1958. *Anatomia do fruto do guaraná*. *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*. 16:57-100.1958.
- MIRANSARI, M. and SMITH, D.L., 2014. Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, vol. 99, pp. 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005>.
- MONDENEZI, R.C., 2019. *Propagação por estaquia de Ochroma pyramidale (cav. Ex lam.) (Pau de Balsa)*. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 85p. Dissertação de Mestrado em Silvicultura e Manejo Florestal.
- MOURA, L.C., 2022. *Propagação vegetativa por estaquia caular de plantas medicinais*. Dourados: Universidade Federal da Grande Dourados. 32p. Trabalho de Conclusão de Curso em Agronomia.
- MOURÃO FILHO, F.A.A., DIAS, C.T.S., SALIBE, A.A., 1998. Efeito da composição do substrato na formação de mudas de laranjeira Pêra. *Scientia Agricola*, vol. 55, no. 1, pp. 35-42. <https://doi.org/10.1590/S0103-90161998000100007>.
- MUNIZ, A.W., WOLFF, C.L., CORDEIRO, E.R., ATROCH, A.L., 2011. A cultura do guaranazeiro no estado do Amazonas. *Jornal da Fruta*, pp. 12.
- NASCIMENTO FILHO, F.J., 2003. *Interação genótipos x ambientes, adaptabilidade, estabilidade e repetibilidade em clones de guaraná (Paullinia cupana var. sorbilis (Mart.) Ducke)*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 182p. Tese Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas.
- OVANDO-MEDINA, I., ADRIANO-ANAYA, L., CHAVEZ-AGUILAR, A., OLIVALLAVEN, A., AYORA-TALAVERA, T., DENDOOVEN, L., GUTIERREZ-MICELI, F., SALVADOR-FIGUEROA, M., 2007. *Ex vitro* survival and early growth of *Alpinia purpurata* plantlets inoculated with *Azotobacter* and *Azospirillum*. *Pakistan Journal Biological Sciences*, vol. 10, no. 19, pp. 3454-3457. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.3454.3457>.
- PAULINO, A.F., SILVA, A.M.S., CRUZ, P.J.R., SILVA, L.D., MARTINS, C.A., ROCHA, L.O., ROCHA, M., SANTOS, M.V., 2018. Propagação vegetativa de *Tithonia diversifolia* com ácido indolbutírico. *Livestock Research for Rural Development*, vol. 30, pp. 1-5.

- PEREIRA, N., 1954. *Os Índios Maués*. ed. Rio de Janeiro: Organização Simões. 174p.
- PEREIRA, J.C.R., 2005. *Cultura do guaranazeiro no Amazonas*. 4 Ed. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 40p.
- PINTO, K.G.D., 2019. *Doses de AIB no enraizamento de estacas de guaranazeiro*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas. 53p. Dissertação de Mestrado em Agronomia Tropical.
- RIBEIRO, R., SEI, F.B., LEITE, M.S., 2011. *Bacillus subtilis: agente de controle biológico e promotor de crescimento em plantas*. Equipe de Pesquisa e Desenvolvimento de Novozymes Turfal, 01.
- RIOS, M.O.D., 1995. *Propagación assexual del guaraná (Paullinia cupana) con aplicación de diferentes concentraciones de ácido indol-3-butírico en estacas herbáceas*. Pucallpa: Universidad Nacional de Ucayali, 89p. Tesis Ingeniero Agronomo.
- RIOS, E.S., PEREIRA, M.C., SANTOS, L.S., SOUZA, T.C., RIBEIRO, V.G., 2012. Concentrações de ácido indolbutírico, comprimento e época de coleta de estacas, na propagação de umbuzeiro. *Revista Caatinga*, vol. 25, no. 1, pp. 52-57.
- RODRIGUES, J.E.L.F. and LUCCHESI, A.A., 1987. Propagação vegetativa do guaranazeiro (*Paullinia cupana* (Mart.) Ducke) através de estacas induzidas (capeadas) e com ácido indolbutírico. *Anais da Escola Superior "Luiz de Queiroz"*, vol. XLIV, pp. 1-20.
- ROSÁRIO, M.P., MATOS, M.L., HAMADA, M.O.S., JARDIM, I.N., 2022. Adubação fosfatada proporciona melhores mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). *Enciclopédia biosfera*, Centro Científico Conhecer, vol. 19, no. 42, pp. 47.
- SALVADOR, J.O. and MOREIRA, A., 1999. Efeito da composição do substrato na formação de mudas de goiabeira. In: *CONGRESSO LATINOAMERICANO DE LA CIENCIA DEL SUELO*, 14, 1999, Pucon. Resúmenes. Temuco: Universidad de La Frontera, pp. 322.
- SANTOS, F.S., SARAIVA, J.M.B., ATROCH, A.L., 2021. Influência da precipitação pluvial na produtividade do guaraná no município de Maués, AM. *Revista da Sociedade Brasileira de Agrometeorologia*, vol. 29, e026787. <http://dx.doi.org/10.31062/agrom.v29.e026787>.
- SCHIMPL, F.C., SILVA, J.F., GONÇALVES, J.F.C., MAZZAFERA, P., 2013. Guarana: revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 150, no. 1, pp.14-31.
- SILVA, T.C.F.S., SILVA, R.C.B., SILVA, J.E.S.B., SANTOS, R.S., ARAGÃO, C.A., DANTAS, B.F., 2014. Germinação de sementes de melancia sob diferentes métodos de tratamento com reguladores vegetais. *Scientia Plena*, vol.10, no.3, pp.1- 15.
- SILVA, E.N.S., MONTANARI, R., PANOSSO, A.R., CORREA, A.R., TOMAZ, P.K., FERRAUDO, A.S., 2015. Variabilidade de atributos físicos e químicos do solo e produção de feijoeiro cultivado em sistema de cultivo mínimo com irrigação. *Revista Brasileira Ciências do Solo*, vol. 39, no. 2, pp. 598-607. <https://doi.org/10.1590/01000683rbc20140429>.

SILVA, M.R.R., BERTOLAIA, M.C., VANZELA, L.S., VAZQUEZ, G.H., 2017. Fosfogesso no crescimento de mudas de mamão. *Cultura Agronômica*, vol. 26, no. 1, pp. 42-52. <http://doi.org/10.32929/2446-8355.2017v26n1p42-52>.

SILVA, J.F., SILVA, T.R., ESCOBAR, I.E.C., FRAIZ, A.C.R., SANTO, J.W.M., NASCIMENTO, T.R., SANTOS, J.M.R., PETERS, S.J.W., MELO, R.F., DEON, D.S., FERNANDES-JUNIOR, P.I., 2018. Screening of plant growth promotion ability among bacteria isolated from field-grown sorghum under different managements in Brazilian drylands. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 34, pp. 1-10. <http://doi.org/10.1007/s11274-018-2568-7>.

SILVA, M.A., NASCENTE, A.S., RESENDE, C.C., FRASCA, L.L.M., FILIPPI, M.C.C., LANNA, A.C., FERREIRA, E.P.B., CRUZ, D.R.C., LACERDA, M.C., FERREIRA, E.A.C., 2022. Rizobactérias multifuncionais: utilização na agricultura. *Research, Society and Development*, vol. 11, no. 4, e3111426971, pp. 1-14. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i4.26971>.

SIQUEIRA, D.P., CARVALHO, G.C.M.W., BARROSO, D.G., MARCIANO, C.R., 2018. Lodo de esgoto tratado na composição de substrato para produção de mudas de *Lafoensia glyptocarpa*. *Revista Floresta*, vol. 48, no. 2, pp. 277-284.

SIVASAKTHI, S., USHARANI, G., SARANRAJ, P., 2014. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African Journal of Agricultural Research*, vol. 16, no. 9, pp. 1265-1277. <http://doi.org/10.5897/AJAR2013.7914>.

SOMNER, G.V., FERRUCCI, M.S., ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P., COELHO, R.L.G., PERDIZ, R., 2014. Sapindaceae. In: *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

SOMMER, L.R., LOY, F.S., OLIVEIRA, B.A.S., ZUGE, P.G.U., COPATTI, A.S., CRUZ, J.G., FROLECH, D.B., NAGEL, J.C., ASSIS, A.M., SCHUCH, M.W., 2022. Substratos no enraizamento *ex vitro* de microestacas de framboeseira. *Research, Society and Development*, vol. 11, no. 12, e475111234938, pp. 1-7. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34938>.

SOUZA, J.L.C., VIEIRA, M.C., SOUZA, E.R.B., GUIMARÃES, R.N., NAVES, R.V., 2020. Estaquia em frutíferas do Cerrado. *Brazilian Journal of Development*, vol. 6, no. 3, pp. 15531-15544. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n3-432>.

SOUZA, S., 2021. Primeira cultivar de guaraná propagada por semente será lançada no Amazonas. EMBRAPA. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/675705/cultivo-do-guaranazeiro-no-amazonas>. Acesso em: 12/03/2023.

STENZEL, N.M.C., MURATA, I.M., NEVES, C.S.V.J., 2003. Superação de dormência em sementes de atemóia e fruta-do-conde. *Revista Brasileira de Fruticultura*, vol. 25, no. 2, pp. 305-308. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452003000200031>

STUEPP, C.A., ZUFFELLATO-RIBAS, K.C., WENDLING, I., 2015. Leaf presence and indolebutyric acid on cuttings rooting of dragon tree. *Comunicata Scientiae*, vol. 6, no. 2, pp. 181-193.

SUFRAMA. Potencialidades estudo de viabilidade econômica: Guaraná. In: *Superintendência da Zona Franca de Manaus – Suframa*. Instituto superior de administração e economia ISAE/Fundação Getúlio Vargas (FGV), Manaus, pp. 1-34, 2013.

TAIZ, L. and ZEIGER, E., 2013. *Fisiologia vegetal*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 954p.

TRAZZI, P.A., CALDEIRA, M.V.W., COLOMBI, R., PERONI, L., GODINHO, T.O., 2012. Estercos de origem animal em substratos para a produção de mudas florestais: Atributos físicos e químicos. *Scientia Forestalis*, vol. 40, no. 96, pp. 455-462.

TRICAUD, S., PINTON, F., PEREIRA, H.S., 2016. Saberes e práticas locais dos produtores de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis*) do médio Amazonas: Duas organizações locais frente à inovação. *Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Humanas*, vol. 11, no. 1, pp. 33-53.

VIEIRA, E.L., SOUZA, G.S., SANTOS, A.R., SILVA, J.S., 2010. *Manual de Fisiologia Vegetal*. São Luís: EDUFMA, 230p.

WENDLING, I., FERRARI, M.P., GROSSI, F., 2002. *Curso intensivo de viveiros e produção de mudas*. Embrapa Florestas, pp. 48. (Embrapa Florestas. Documentos, 79).

XAVIER, A., WENDLING, I., SILVA, R.L., 2013. *Silvicultura clonal: princípios e técnicas*. 2.ed. Viçosa: Ed. UFV, 272p.

WU, L., WU, H.J., QIAO, J., GAO, X., BORRIS, R., 2015. Novel routes for improving biocontrol activity of *Bacillus* based bioinoculants. *Frontiers in Microbiology*, [s. l.], vol. 6, pp. 1-13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01395>.