UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO

POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VITRO E IN VIVO NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO ‘BRS DIAMANTE’ E ‘BRS SOL BAHIA’

Caroline dos Santos

Cruz das Almas – Bahia
2024

POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VITRO E IN VIVO NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO ‘BRS DIAMANTE’ E ‘BRS SOL BAHIA’

Caroline dos Santos
Bacharela em Biologia
Universidade do Recôncavo da Bahia (UFRB), 2020

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza
Coorientadora: Dra. Eva Maria Rodrigues Costa
Coorientador: Dr. Paulo Henrique da Silva

Cruz das Almas – Bahia
2024

FICHA CATALOGRÁFICA

S237p

Santos, Caroline dos.

Potencial da microbiolização *in vitro* e *in vivo* na promoção do crescimento dos híbridos de abacaxizeiro 'Brs Diamante' e 'Brs Sol Bahia' / Caroline dos Santos._ Cruz das Almas, BA, 2024.

104f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Prof. Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza.
Coorientadora: Prof. Dra. Eva Maria Rodrigues Costa.
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Henrique da Silva.

1.Abacaxi – Cultivo. 2.Abacaxi – Propagação in vitro. 3.Bactérias – Reguladores do crescimento – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 634.774

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB. Responsável pela Elaboração Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO

POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VITRO E IN VIVO NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO 'BRS DIAMANTE' E 'BRS SOL BAHIA'

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação
Caroline dos Santos

Aprovada em: 29 de maio de 2024

Documento assinado digitalmente
gov.br
FERNANDA VIDIGAL DUARTE SOUZA
Data: 29/07/2024 15:36:46-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza Embrapa Mandioca e Fruticultura (Orientadora)

Documento assinado digitalmente
gov.br
RAFAELA SIMAO ABRAHAO NOBREGA
Data: 29/07/2024 16:30:50-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dra. Rafaela Simão Abrahão Nóbrega
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (Membro externo)

Documento assinado digitalmente
gov.br
TULLIO RAPHAEL PEREIRA DE PADUA
Data: 29/07/2024 18:33:49-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dr. Tullio Raphael Pereira de Pádua
Embrapa Mandioca e Fruticultura (Membro interno)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, em especial, à minha pequenina Ayla Maria, razão do meu viver.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus pelo dom da minha vida, pois sem ele hoje eu não estaria aqui, muito menos não conseguiria ter chegado onde estou.

Agradeço aos meus pais, José Conceição e Rosineide, e à minha irmã Cailane por me incentivarem sempre e acreditarem que eu sou capaz de realizar todos os meus objetivos, me dando força e coragem para enfrentar todos os obstáculos da vida.

Agradeço ao meu marido Iago Caldas que sempre esteve ao meu lado, me apoiando e pegando no meu pé e me dizendo o quanto eu sou capaz, mesmo nos momentos em que o desespero batia e eu falava que iria desistir. A minha filhinha Ayla Maria por me amar imensamente, te amo meu amor.

Também quero agradecer a todos os meus colegas e amigos que fiz ao logo deste mestrado, de modo especial aos meus amigos Eliane, Danilo e Mirelli por compartilharam dos inúmeros desafios que enfrentamos e pela cooperação mútua.

Agradeço a todos docentes do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, e especialmente à minha professora e orientadora Dra. Fernanda Vidigal e coorientadora Dra. Eva Maria Costa pela paciência, dedicação e atenção que foram essenciais para que este trabalho fosse concluído. A Dr. Paulo Henrique, que sempre esteve disposto a me ajudar e que ao final do meu curso de mestrado acabou se tornando mais um coorientador.

Também quero agradecer a toda equipe de Abacaxi e Banana do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, assim como a Dr. Laércio e ao pessoal do laboratório de Física do Solo, por terem me acolhido e sempre me ajudado quando preciso. E também não posso esquecer-me de seu “Cata” que sempre recorria quando mais precisava.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura por disponibilizar toda a infraestrutura necessária para a realização do meu trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível (CAPES) pela bolsa concedida.

Por fim, sou grata à Universidade Federal do Recôncavo da Bahia pela oportunidade de fazer parte desta instituição e principalmente por está contribuído para realização de mais uma conquista em minha vida.

Meu muito obrigada!

EPÍGRAFE

"Não importa o que aconteça, continue a nadar."

(WALTERS, GRAHAM; PROCURANDO NEMO, 2003)

POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VITRO E IN VIVO NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO ‘BRS DIAMANTE’ E ‘BRS SOL BAHIA’

RESUMO: A micropropagação é uma técnica promissora que permite a produção de mudas de abacaxizeiros de qualidade, em larga escala, em curto período de tempo e espaço físico reduzido. Entretanto, o custo elevado das mudas e o longo período de aclimatização e adaptação ex vitro ainda conferem à técnica um uso limitado. Neste contexto, a utilização de microrganismos benéficos emerge como uma solução potencialmente eficaz para aprimorar a eficiência deste processo e reduzir o tempo necessário para a aclimatização, tornando-o mais economicamente viável. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de crescimento de microrganismos benéficos, em plantas micropropagadas dos híbridos de abacaxizeiro ‘BRS Diamante’ e ‘BRS Sol Bahia’ a partir de diferentes processos de microbiolização. Para tanto, foram utilizadas bactérias da coleção biológica da Embrapa Mandioca e Fruticultura, obtidas de caules e solo de plantas do gênero *Ananas* (BAC25, BAC406, BAC222 e quatro combinações entre elas). Inicialmente, uma parte das plantas micropropagadas dos híbridos ‘BRS Diamante’ e ‘BRS Sol Bahia’ foram inoculadas com os isolados (microbiolização in vitro), e em seguida avaliadas quanto à altura da planta (cm) e número de folhas a cada 15 dias durante três meses. Após esse período, as plantas foram conduzidas para casa de vegetação (aclimatização) e avaliadas por mais 120 dias, considerando parâmetros de crescimento como altura da planta (cm), comprimento e largura da folha “D” (cm), diâmetro da copa (cm) e número de folhas. Em outro experimento, uma parte das plantas micropropagadas dos híbridos passaram primeiro pela fase de aclimatização em casa de vegetação e só depois foram submetidas à inoculação pelas bactérias. Nesse experimento (microbiolização in vivo), as plantas também foram avaliadas quanto aos parâmetros de crescimento citados anteriormente. Após 120 dias, essas plantas foram levadas para canteiro, onde também passaram por avaliações periódicas relacionadas ao seu desenvolvimento vegetativo. Ao final destas avaliações, foram realizadas análises destrutivas do sistema radicular e parte aérea das plantas microbiolizadas (in vitro e in vivo). No experimento onde as plantas foram microbiolizadas in vitro, os mixs duplos foram os mais favoráveis para BRS Sol Bahia, enquanto o mix triplo se destacou para o BRS Diamante. Já durante a aclimatização, o BAC25 promoveu um maior incremento em todas as variáveis analisadas para ambos os híbridos. Quanto às plantas microbiolizadas in vivo, BAC222 e o mix BAC25 + BAC406 promoveram os melhores resultados para BRS Diamante e o BRS Sol Bahia, tanto em casa de vegetação quanto em canteiro. Para as análises destrutivas do sistema radicular e parte área, BAC25 foi o mais promissor na promoção de incremento de ganhos de massa fresca e massa seca da parte aérea e da raiz para os dois híbridos, a partir de mudas microbiolizadas in vitro, enquanto BAC406 foi o mais promissor para todas as variáveis avaliadas para BRS Diamante e BRS Sol Bahia, após as mudas serem submetidas a microbiolização in vivo. Esses achados ressaltam a importância da seleção criteriosa de microrganismos benéficos para otimizar o processo de micropropagação do abacaxi.

Palavras-chave: *Ananas comosus*; Bactérias promotoras de crescimento vegetal; Inoculação; Micropropagação; Aclimatização

POTENTIAL OF IN VITRO AND IN VIVO MICROBIOLIZATION IN PROMOTING THE GROWTH OF PINEAPPLE HYBRIDS ‘BRS DIAMANTE’ AND ‘BRS SOL BAHIA’

ABSTRACT: Micropropagation is a promising technique that allows the production of quality pineapple seedlings, on a large scale, in a short period of time and reduced physical space. However, the high cost of seedlings and the long period of acclimatization and ex vitro adaptation still give the technique a limited use. In this context, the use of beneficial microorganisms emerges as a potentially effective solution to improve the efficiency of this process and reduce the time needed for acclimatization, making it more economically viable. Therefore, this work aimed to evaluate the growth potential of beneficial microorganisms in micropropagated plants of the pineapple hybrids 'BRS Diamante' and 'BRS Sol Bahia' from different microbiolization processes. For this purpose, bacteria from the biological collection of Embrapa Cassava and Fruit Growing, obtained from stems and soil of plants of the genus *Ananas* (BAC25, BAC406, BAC222 and four combinations between them) were used. Initially, a part of the micropropagated plants of the hybrids 'BRS Diamante' and 'BRS Sol Bahia' were inoculated with the isolates (in vitro microbiolization), and then evaluated for plant height (cm) and number of leaves every 15 days for three months. After this period, the plants were taken to a greenhouse (acclimatization) and evaluated for another 120 days, considering growth parameters such as plant height (cm), length and width of leaf "D" (cm), crown diameter (cm) and number of leaves. In another experiment, some of the micropropagated plants of the hybrids first went through the acclimatization phase in a greenhouse and only then were they inoculated by the bacteria. In this experiment (in vivo microbiolization), the plants were also evaluated for the growth parameters mentioned above. After 90 days, these plants were taken to the bed, where they also underwent periodic evaluations related to their vegetative development. At the end of these evaluations, destructive analyses of the root system and shoots of the microbiolized plants (in vitro and in vivo) were performed. In the experiment where the plants were microbiolized in vitro, the double mixes were the most favorable for BRS Sol Bahia, while the triple mix stood out for BRS Diamante. On the other hand, during acclimatization, BAC25 promoted a greater increase in all variables analyzed for both hybrids. As for the in vivo microbiolized plants, BAC222 and the BAC25 + BAC406 mix promoted the best results for BRS Diamante and BRS Sol Bahia, both in the greenhouse and in the flowerbed. For the destructive analyses of the root system and part area, BAC25 was the most promising in promoting increased gains in fresh mass and dry mass of the aerial part and root for the two hybrids, from in vitro microbiolized seedlings, while BAC406 was the most promising for all variables evaluated for BRS Diamante and BRS Sol Bahia, after the seedlings are subjected to in vivo microbiolization. These findings underscore the importance of careful selection of beneficial microorganisms to optimize the pineapple micropropagation process.

Keywords: *Ananas comosus*; Plant growth promoting bacteria; Inoculation; Micropropagation; Acclimatization

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 12
REFERENCIAL TEÓRICO 13
Aspectos gerais do abacaxizeiro 13
Micropropagação do abacaxizeiro 15
Aclimatização de mudas micropropagadas 16
Microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV) 17
REFERÊNCIAS 22
CAPÍTULO 1 28
POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VITRO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO 'BRS DIAMANTE' E 'BRS SOL BAHIA' 28
INTRODUÇÃO 31
MATERIAL E MÉTODOS 33
Material vegetal 33
Obtenção das mudas micropropagadas para microbiolização 33
Obtenção dos isolados bacterianos 34
Microbiolização in vitro 35
Aclimatização das plantas microbiolizadas in vitro 37
Análises estatísticas 37
RESULTADOS 38
Microbiolização in vitro 38
Aclimatização das plantas microbiolizadas in vitro 40
DISCUSSÃO 43
CONCLUSÃO 47
REFERÊNCIAS 48
CAPÍTULO 2 53
POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VIVO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO 'BRS DIAMANTE' E 'BRS SOL BAHIA' 53
INTRODUÇÃO 56
MATERIAL E MÉTODOS 57
Material vegetal 57
Obtenção das mudas micropropagadas para microbiolização em casa de vegetação 57
Obtenção dos isolados bacterianos 58
Microbiolização in vivo (casa de vegetação) 59
Avaliação em canteiro das mudas microbiolizadas 60
Análises estatísticas 61
RESULTADOS 62
Microbiolização in vivo (casa de vegetação) 62
Avaliação em canteiro das mudas microbiolizadas 66
DISCUSSÃO 70
CONCLUSÃO 75
REFERÊNCIAS 76
CAPÍTULO 3 80
EFEITO DE BACTERIAS ENDOFÍTICAS ORIUNDAS DO GÊNERO *Ananas* ssp. NO DESENVOLVIMENTO RADICULAR E PARTE AÉREA DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO MICROBIOLIZADOS IN VITRO E IN VIVO 80
INTRODUÇÃO 83
MATERIAL E MÉTODOS 84

Material vegetal e obtenção das mudas.....84
Análise destrutiva.....85
Digitalização e leitura de raízes.....85
Análises estatísticas.....87
RESULTADOS.....87
Análise destrutiva de plantas microbiolizadas in vitro.....87
Análise destrutiva de plantas microbiolizadas em casa de vegetação.....92
DISCUSSÃO.....96
CONLUSÃO.....100
REFERÊNCIAS.....102

INTRODUÇÃO

O abacaxi é uma das frutas tropicais mais consumidas no mundo e o Brasil se destaca como um dos grandes produtores mundiais, ainda que toda produção seja consumida internamente. O abacaxizeiro é cultivado em praticamente todos os Estados brasileiros, sendo a região norte a maior produtora. A região Nordeste ocupa o segundo lugar na produção de abacaxi, sendo a Bahia o décimo primeiro estado produtor (IBGE, 2022).

Trata-se de uma cultura com elevada importância econômica e social na geração de emprego e renda (GUIMARÃES et al., 2017). Apesar do abacaxi ocupar destaque no cenário agrícola, sua produção pode ser comprometida por diferentes fatores, entre eles a obtenção de mudas em larga escala e de qualidade fitossanitária garantida (REINHARDT et al., 2018).

O método convencional de propagação do abacaxizeiro é realizado a partir de partes vegetativas da planta como rebentões e filhotes, o que geralmente resulta em baixo rendimento de mudas e aumenta o risco de disseminação de doenças. Sendo assim, uma técnica promissora que pode ser uma alternativa para a cultura é a micropropagação, já que permite uma rápida multiplicação em larga escala, com elevado padrão fitossanitário e de homogeneidade genética (SOUZA et al., 2013).

A micropropagação é uma técnica de propagação de plantas, realizada sob condições assépticas e que tem sido amplamente utilizada na produção em larga escala de mudas de espécies de propagação vegetativa, principalmente por manter as características genéticas da planta matriz. A propagação de plantas in vitro pode contribuir para o avanço e a melhoria na produtividade da cultura do abacaxizeiro, já que, a técnica possibilita a obtenção de mudas de qualidade e em larga escala (BALDOTTO et al., 2010; SOUZA et al., 2013).

Entretanto, há uma forte rejeição por parte do setor produtivo para o uso deste tipo de muda, devido, ao longo período de aclimatização, o que resulta no custo elevado das mudas, o que compromete os benefícios da micropropagação (REINHARDT et al., 2018). Assim, o processo de microbiolização, que consiste na inoculação de microrganismos vivos associados à planta, tem se tornado uma estratégia interessante para melhorar

a eficiência da micropropagação e reduzir o tempo de aclimatização das plantas, melhorando a qualidade das mudas e tornando o processo mais viável economicamente (SOUZA et al., 2019; SILVA et al., 2023).

REFERENCIAL TEÓRICO

Aspectos gerais do abacaxizeiro

O abacaxizeiro é uma monocotiledônea, herbácea e perene, pertencente à família Bromeliaceae e ao gênero *Ananas* (REFLORA, 2020), que tem no Brasil o seu provável centro de origem e de diversidade genética (FERREIRA e CABRAL, 1993). Em vista disso, o país possui uma vasta gama de espécies do gênero distribuídas em diversas regiões tanto na forma silvestre quanto cultivada (CRESTANI et al., 2010).

Os frutos de abacaxi possuem qualidades organolépticas altamente desejáveis para o consumo in natura, mas também para uso processado, como geleias, compotas, doces, frutas secas e outros. Além de ser utilizado na alimentação, inúmeras espécies dessa família são utilizadas como plantas ornamentais, para produção de fibras na matéria-prima de tecidos, confecção de cordas, linha e rede de pesca, além da produção de enzimas e metabolitos secundários na indústria de fármacos e cosméticos (LEAL, 1995; BENZING et al., 2000; SOUZA et al., 2018).

Atualmente, o Brasil é considerado o terceiro maior produtor mundial de abacaxi, superado apenas pela Filipinas e Costa Rica (FAO, 2021). Em 2022, o Brasil apresentou uma área colhida com o abacaxi de 64.147 hectares, o que possibilitou a produção de 1.924.410 de frutos, conferindo um rendimento de 24.291 frutos/ha (IBGE, 2022).

O abacaxizeiro é cultivado em praticamente todos os Estados brasileiros, sendo a região norte a maior produtora, com destaque para o estado do Pará. A região Nordeste ocupa o segundo lugar na produção de abacaxi, sendo a Bahia o décimo primeiro estado produtor. O estado da Bahia foi o segundo maior em número de estabelecimentos produtores e entre as cidades baianas, Itaberaba se destaca como uma das maiores produtoras agrícolas da região (IBGE, 2022).

Apesar do Brasil ser um grande produtor de abacaxi, ocupando o terceiro lugar entre os maiores países produtores, a sua produção é comprometida por diversas pragas e doenças, a exemplo do ácaro alaranjado (*Dolichotetranychus floridanus*), a broca do fruto (*Strymon megarus*), a broca do talo (*Castnia invaria volitans*), a fusariose (*Fusarium guttiforme*), a podridão negra (*Thielaviopsis paradoxa*) e o vírus PMWaV (*Pineapple mealybug Wilt-associated* Virus) que causa murcha e é transmitido pela cochonilha *Dysmicoccus brevipes* (SALES et al., 2016; MATOS et al., 2018).

Assim, o Programa de Melhoramento Genético de Abacaxi da Embrapa Mandioca e Fruticultura, vem desenvolvendo novas cultivares resistentes às principais pragas e doenças, com aptidões diferenciadas e novos atributos para o consumo. A Embrapa já lançou três cultivares resistentes à fusariose, o 'BRS Ajubá' (CABRAL e MATOS, 2008), 'BRS Vitória' (VENTURA et al., 2009) e 'BRS Imperial' (CABRAL e MATOS, 2009), desenvolvidos como uma alternativa ao cultivo da variedade Pérola, a variedade mais plantada no Brasil, porém, susceptível à fusariose (SOUZA, 2021). No entanto, nenhuma das cultivares lançadas possuem resistência ao PMWaV (*Pineapple mealybug Wilt-associated* Virus).

Por tratar-se de uma cultura com propagação predominantemente vegetativa, é preciso considerar que as mudas obtidas pela via convencional podem ser um potencial vetor de pragas e doenças, comprometendo os novos plantios, além da taxa de propagação obtida ser muito baixa, considerando que a demanda de mudas para um hectare de abacaxi pode variar de 30.000 a 40.000.

Metodologias alternativas e complementares vêm sendo desenvolvidas a fim de minimizar estes problemas, como a obtenção de mudas por seccionamento de talos, no qual é possível observar através do corte do talo a presença de fusariose e proceder o descarte das plantas infectadas (PÁDUA, 2013; REINHARDT et al., 2018). Outra técnica que pode ser usada para otimizar a produção de mudas sadias é a micropropagação, que permite a obtenção de uma grande quantidade de mudas clonais com estabilidade genética em qualquer período do ano, já que é feita em condições controladas de laboratório. Em combinação com o seccionamento de talo, ambas as tecnologias, podem solucionar a elevada demanda de mudas pelo setor.

Micropropagação do abacaxizeiro

O uso da micropropagação é uma alternativa para a produção de mudas sadias, mais vigorosas, produtivas e isentas de pragas e doenças quando estabelecidas da forma correta. É um método que vem crescendo de modo contínuo nas últimas décadas como forma de atender à grande demanda por material de plantio de qualidade (FREITAS et al., 2011; SOUZA et al., 2013).

A micropropagação convencional do abacaxizeiro pode ser feita por meio do cultivo de ápices caulinares e/ou gemas axilares, que são tratados em ambiente asséptico, introduzidos em meio nutritivo suplementado com fitoreguladores. A citocinina (6-benzilaminopurina - BAP) e a auxina (ácido naftaleno acético - ANA) são os reguladores vegetais mais utilizados e que estimulam a formação de brotações laterais e produção de raízes adventícias (PASQUAL et al., 2008; SOUZA et al., 2013).

Apesar da muda produzida in vitro ser uma alternativa viável para minimizar a transmissão de doenças e ter uma produção em larga escala, as condições de cultivo assépticas para eliminar os microrganismos oportunistas das plantas e evitar contaminações no meio de cultura, reduz sua microflora natural benéfica, tornando-as plantas mais sensíveis a estresses bióticos ou abióticos, ou com redução de vigor (POLLI et al., 2012). Por outro lado, estudos já discutem que a muda que, conceitualmente era considerada axênica (isenta de microrganismos), mantém uma microbiota endofítica independentemente de seu cultivo (ESPOSITO-POLESI, 2011), mas ainda assim, perde uma diversidade significativa de outros microrganismos benéficos.

Outro ponto importante a ser considerado sobre a micropropagação do abacaxizeiro é o longo período de aclimatização, que consequentemente aumenta o custo das mudas obtidas e dificulta sua adoção por cooperativas e produtores. Uma das estratégias que podem ser usadas para melhorar a eficiência da micropropagação e reduzir o tempo de aclimatização de mudas micropropagadas é a microbiolização, ou seja, a inoculação de microrganismos benéficos promotores de crescimento (SOUZA et al., 2019; SILVA et al., 2023) e que adicionalmente podem conferir tolerância às enfermidades de interesse para a cultura.

Aclimatização de mudas micropropagadas

Ao serem retiradas das condições in vitro e transferidas para o substrato, as plantas ficam mais sensíveis às condições climáticas e aptas ao ataque de fitopatógenos. Dessa forma, os benefícios da micropropagação, como o desenvolvimento precoce da planta, ficam comprometidos. A fase de aclimatização é um processo gradual de adaptação das plantas a uma condição ambiental diferente. As microplantas demandam uma elevada condição de umidade para evitar uma desidratação que seria letal, já que suas folhas ainda estão fisiologicamente imaturas e possuem poucos componentes de proteção como cutinas e serinas (SOUZA et al., 2013).

Plantas de abacaxi cultivadas in vitro desenvolvem um sistema foliar com estruturas morfológicas autotróficas durante os dias iniciais de aclimatação ex vitro. Esse processo ajuda as plantas a restaurarem a sua maquinaria fotossintética, permitindo-lhes adaptar-se às condições de baixa umidade relativa dos ambientes ex vitro (VILLALOBOS et al., 2012; GONZÁLEZ et al., 2017).

Villalobos-Olivera et al. (2023) em um estudo com aclimatização de plantas micropropagadas de abacaxi, confirmam que na primeira fase deste processo ex vitro, as plantas de abacaxi mudam de um metabolismo C3 para um metabolismo CAM a fim de se adaptarem ao aumento da temperatura e da intensidade da luz. As plantas registram uma diminuição do conteúdo de água, clorofila a, clorofilas a + b e relação a/b nos primeiros 15 dias e o aumento após 15 dias, e inferem que podem estar relacionados à expressão do metabolismo CAM.

Durante a aclimatização ocorre uma redução no conteúdo de água que pode estar relacionada à perda de vapor d'água devido à incapacidade de funcionamento dos estômatos. O aumento no conteúdo de água após 30 dias pode estar relacionado a uma maior regulação estomática (GOTOH et al., 2019) e visa evitar a perda de água na forma de vapor d'água durante a respiração.

Muitos estudos têm sido realizados com o objetivo de diminuir o período de aclimatização das plantas de abacaxizeiro, utilizando por exemplo reguladores de crescimento (CATUNDA et al., 2008), diferentes substratos no

enraizamento (WEBER et al., 2003; CATUNDA et al., 2008), e inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (MELLO et al., 2002; WEBER et al., 2003; BALDOTTO et al., 2010). Assim, o processo de microbiolização, que consiste na inoculação de microrganismos vivos na planta para o controle de doenças e/ou para promover o crescimento (LUZ, 1996; SOUZA et al., 2019; SOUZA, 2021; SILVA et al., 2023), pode ser uma alternativa viável para melhorar a eficiência da micropropagação, uma vez que reduz o longo período de aclimatização e consequentemente o custo das mudas.

Microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV)

Também conhecidos como promotores de crescimento vegetal, o interesse na utilização desses agentes benéficos tem se tornando cada vez mais comum em práticas agrícolas. Além da promoção de crescimento em plantas, outras vantagens como o aumento da disponibilidade dos nutrientes e a fixação biológica de nitrogênio (ALMEIDA et al., 2009; ABREU-TARAZI et al., 2010; SANTOYO et al., 2016; GUIMARÃES et al., 2017; ROTARU e RISNOVEANU, 2019; OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2020) são atribuídas ao uso desses microrganismos.

Além disso, modificam a disponibilidade e a toxicidade de metais para as plantas (WOOD et al., 2016), protegem as plantas induzindo a produção de fito-hormônios, como os ácidos salicílico e jasmônico (GUTJAHR; PASZKOWSKI, 2009; DAR et al., 2015), e reduzem o efeito do estresse oxidativo (JOCHUM et al., 2019; YOOLONG et al., 2019). Esses microrganismos também estimulam o crescimento das plantas através da liberação de substâncias que induzem a síntese de reguladores vegetais (SBRAVATTI JUNIOR et al., 2013; DOMENICO, 2019; GAVILANES et al., 2020; SAMMAURIA et al., 2020) e atuam como agentes de controle biológico, reduzindo o impacto de fitopatógenos (WHITE, 2018).

Uma análise quantitativa e comparativa da diversidade de microrganismos cultiváveis em solos provenientes de diversas áreas de cultivo do abacaxizeiro, bem como nos tecidos internos de plantas do gênero *Ananas* indicaram haver similaridades nas composições de microrganismos, independentemente da origem geográfica, sugerindo que a cultura do abacaxi

requer essencialmente a mesma composição microbiana (SOUZA et al., 2019). Segundo Esposito-Polesi et al. (2016) existe uma comunidade bacteriana endofitica intracelular complexa em plantas micropropagadas de abacaxizeiro e a estrutura dessas bactérias é alterada de acordo com seus nichos de colonização e períodos de cultivo da planta hospedeira.

Souza (2021), utilizou análises metagenômicas que exploraram a influência de diferentes ambientes na composição e abundância dos microrganismos que compõem o microbioma de plantas do gênero *Ananas*. Os resultados revelaram a identificação de 12 gêneros de bactérias com importância agrícola associadas às plantas. Alguns desses isolados foram capazes de promover o crescimento das mudas de abacaxizeiro, desde o enraizamento in vitro até a aclimatização.

Estudos conduzidos por Silva et al. (2023) complementaram a compreensão dos microrganismos associados ao gênero *Ananas*. O estudo teve como objetivo avaliar o potencial de bactérias provenientes do microbioma de *Ananas* spp. na promoção do crescimento de abacaxizeiros e validar sua aplicação em diferentes etapas de cultivo, incluindo semicampo, cultivo in vitro e casa de vegetação. Os resultados indicaram que BAC25, BAC406 e BAC222, foram eficazes na promoção do crescimento das plantas e no aumento da biomassa em condições de semicampo. O isolado BAC406 se destacou como o mais promissor para o crescimento das mudas de abacaxizeiro in vitro, enquanto o BAC222 mostrou-se como o tratamento mais eficaz para o cultivo in vivo. A partir do sequenciamento com base no gene 16s rRNA observaram que os isolados BAC25 e BAC406 foram relacionados filogeneticamente ao gênero *Enterobacter*, indicando maior similaridade com *Enterobacter hormaechei* subsp. *ohara* e *Enterobacter hormaechei* subsp. *Steigerwaltii* e o isolado BAC222 apresentou maior similaridade com o gênero *Kosakonia*, especialmente com *Kosakonia cowanii*.

Bactérias do gênero *Enterobacter spp.* são encontradas em uma ampla variedade de habitats, como solo e água. Além disso, são endofíticas ou consideradas fitopatógenos para algumas espécies de plantas (ZHU et al., 2011; SINGH et al., 2018), enquanto outras atuam como comensais na microbiota intestinal de animais e humanos (MEZZATESTA, GONA e STEFANI, 2012). Embora algumas espécies do gênero *Enterobacter* sejam

consideradas patogênicas para plantas, outras têm a capacidade de promover o crescimento vegetal por meio da fixação de nitrogênio e produção de fitohormônios como auxina e etileno. Essas bactérias também influenciam no desenvolvimento de raízes e pelos radiculares (DIAS e SANTOS, 2022), solubilizam fósforo do solo, produzem antibióticos, e secretam sideróforos, quitinase, enzimas hidrolíticas e exopolissacarídeos. Numerosas espécies de Enterobacter expressam essas atividades, promovendo o crescimento das plantas e suprimindo patógenos vegetais transmitidos pelo solo (JHA et al., 2011).

Assim como as bactérias do gênero *Enterobacter,* as bactérias do gênero *Kosakonia* também podem ser isoladas de diversas fontes, tais como, solos, água, plantas e animais (PETRZIK; BRÁZDOVÁ e KRAWCZYK, 2021). Algumas espécies de *Kosakonia* são conhecidas pela capacidade de promover o crescimento das plantas através da fixação de nitrogênio, produção de fitohormônios, como o ácido indolacético e solubilização de fosfato (BRADY et al., 2024; BERGER; BALDERMANN e RUPPEL, 2017). Alguns trabalham demonstram que essas bactérias foram capazes de promover a sobrevivência de plantas sob condições de estresse salino e frio (SHAHID et al., 2021; SOUSA et al., 2021), ou estresse causado por metais biodisponíveis (LABANCA et al., 2020). Além disso, essas bactérias podem estimular o crescimento e a biomassa das plantas (MATHIYAZHAGAN et al., 2021) e fornecer atividade antagônica contra fungos patogênicos (MUNAKATA et al., 2021).

Esses estudos reforçam a compreensão da interação complexa entre os microrganismos e as plantas, ressaltando seu papel na promoção de crescimento e controle de doenças. No entanto, ainda há muito o que avançar, não apenas para uma melhor compreensão da relação entre os microrganismos e o abacaxizeiro, mas para a possibilidade de sua aplicação tanto na produção de mudas, quanto no cultivo. São fatores que necessitam de investigação aprofundada e que podem contribuir para o avanço do conhecimento e a aplicabilidade nos sistemas agrícolas diversos.

Em vista disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de crescimento destes isolados bacterianos e suas combinações, para plantas

micropropagadas dos híbridos de abacaxizeiro ‘BRS Diamante’ e ‘BRS Sol Bahia’ a partir de diferentes processos de microbiolização.

Na figura 1 está uma representação esquemática das principais etapas deste trabalho e sua ubiquação em cada capítulo.

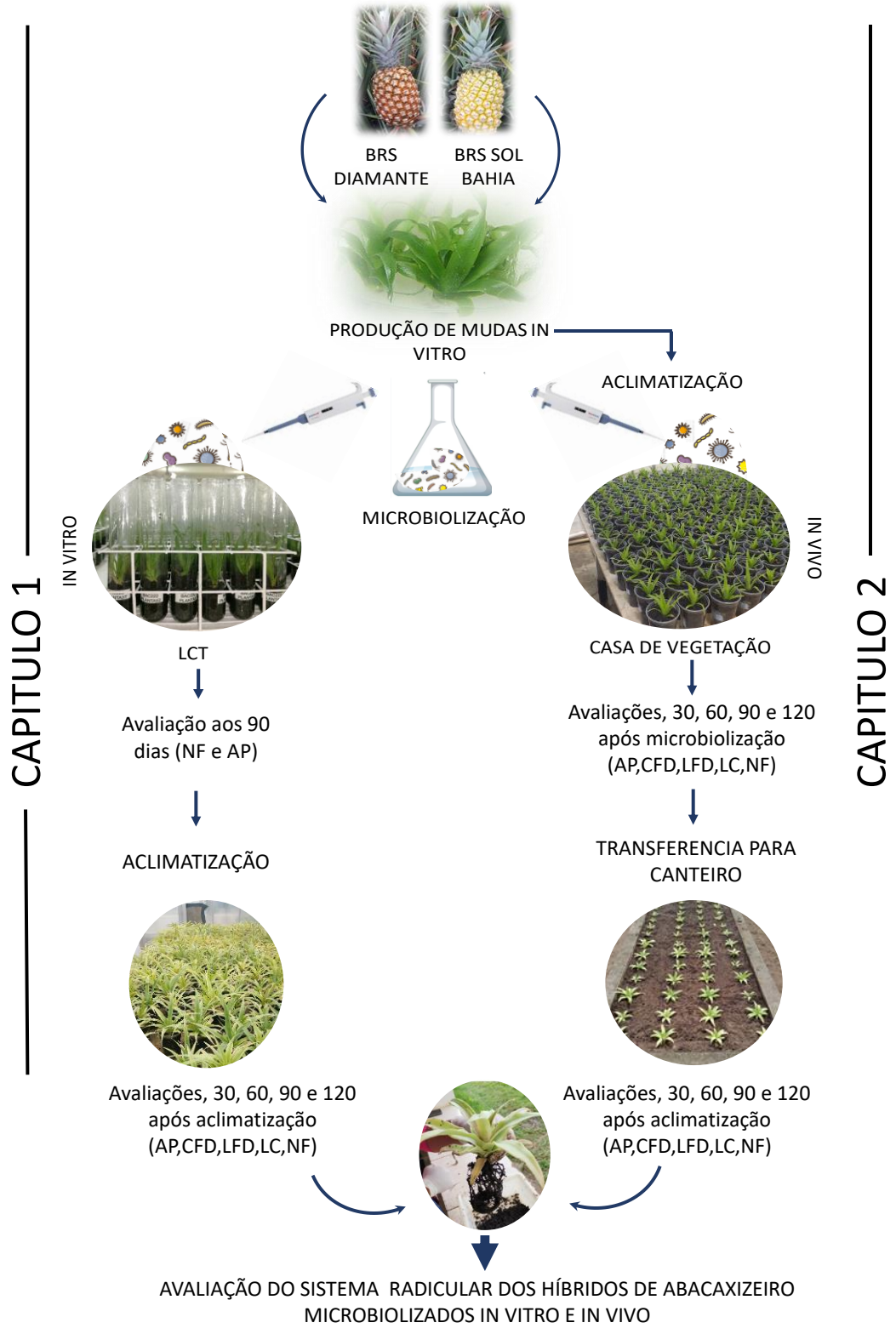


Figura 1. Representação esquemática das principais etapas desenvolvidas deste trabalho em cada capítulo. **LCT** – Laboratório de Cultura de Tecidos; **AP** – Altura da planta (AP); **CFD** – Comprimento da folha D (CFD); **LFD** – Largura da folha D (LFD); **LC** – Largura da copa (LC); **NF** – Número de folhas (NF).

REFERÊNCIAS

ABREU-TARAZI, M. F., NAVARRETE, A. A.; ANDREOTE, F. D.; ALMEIDA, C.V., TSAI, S. M.; ALMEIDA, M. Endophytic bacteria in long-term in vitro cultivated ‘‘axenic’’ pineapple microplants revealed by PCR–DGGE. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 26, p.555-560, 2010.

ALMEIDA, C. V.; ANDREOTE, F. D., YARA, R.; TANAKA, F. A. O.; AZEVEDO, J. L. ALMEIDA, M. Bacteriosomes in axenic plants: endophytes as stable endosymbionts. **Journal of Microbiology Biotechnology**, Seoul, v. 25, p.1757- 1764, 2009.

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. P.; SMITH, R. B. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar vitória durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa**,** v. 34**,** p.349-360, 2010.

BARRETO MIRANDA, Í. S. P.; MIRANDA, A. F. S.; SOUZA, F. V. D.; VANNIER-SANTOS, M. A.; PIROVANI, C. P.; PEPE, I. M.; RODOWANSKI, I. J.; FERREIRA, K. T. de S. E.; SOUZA, L. M. e ASSIS, S. A. de. The biochemical characterization, stabilization studies and the antiproliferative effect of bromelain against B16F10 murine melanoma cells. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 1, p. 1-13. 2017.

BERGER, B.; BALDERMANN, S.; RUPPEL, S. A. bactéria promotora do crescimento das plantas Kosakonia radicincitans melhora o rendimento e a qualidade dos frutos de *Solanum lycopersicum J.* **Ciência. Agrícola Alimentar**, v. 97, p.4865–4871. 2017.

BRADY, C. L.; TRUJILLO, M.; DEDYSH, S.; DEVOS, P.; HEDLUND, B.; KÄMPFER, P.; RAINEY, F.; WHITMAN, W. **Kosakonia**. John Wiley e Filhos. 2024.

CABRAL, J. R. S.; MATOS, A. P. de. ‘Imperial’, a new peneapple cultivar resistant to fusariosis. **Acta Horticulturae**, v. 822, p. 47-50, 2009.

CABRAL, J. R. S.; MATOS, A. P. de. **BRS Ajubá, nova cultivar de abacaxi.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 4 p., 2008.

CATUNDA, P.E.A.; MARINHO, C.S.; GOMES, M.M.A. & CARVALHO, A.J.C. Brassinosteróide e substratos na aclimatização do abacaxizeiro 'Imperial'. **Acta Sci. Agron.**, v. 30, p.345-352, 2008.

CRESTANI, M.; BARBIERI, R. L.; HAWERROTH, F. J.; De CARVALHO, F. I. F.; DE OLIVEIRA, A. C. Das Américas para o Mundo - origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Ciência Rural**. v. 40, n.6, p.1473-1483, 2010.

DAR, T. A.; UDDIN, M.; MASROOR, M.; KHAN, A.; HAKEEM, K. R.; JALEEL, H. Jasmonates counter plant stress: a review. **Environmental and Experimental Botany,** v. 115, p. 49-57, 2015.

DIAS, A. dos S.; SANTOS, C. C. **Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso.** Nova Xavantina, MT: Pantanal, 98p, 2022.

DOMENICO, P. Effective microorganisms for germination and root growth in Kalanchoe daigremontiana. **World Journal of Advanced Research and Reviews**, v. 3 (3), p. 047-053, 2019.

ESPOSITO-POLESI, N.P., de ABREU-TARAZI, M.F., de ALMEIDA, C.V.; TSAI, S.M.; de ALMEIDA, M. Investigation of Endophytic Bacterial Community in Supposedly Axenic Cultures of Pineapple and Orchids with Evidence on Abundant Intracellular Bacteria. **Curr Microbiol,** v. **74**, p. 103–113, 2017.

ESPOSITO-POLESI, N. P. Microrganismos endofíticos e a cultura de tecidos vegetais: quebrando paradigmas. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, p. 533-541, 2011.

FAO - ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. **FAOSTAT**. 2021.

FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. Pineapple germplasm in Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 334, p. 23-26, 1993.

FREITAS, S. J.; CARVALHO, A. J. C.; BERILLI, S. S.; SANTOS, P. C.; MARINHO, C. S. Substratos e osmocote na nutrição e desenvolvimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Vitória. **Revista Brasileira Fruticultura**. Jaboticabal, Volume Especial, E. p. 672-679, 2011.

GAVILANES, F. Z.; ANDRADE, D. S.; SILVA, H. R. S. R.; ZAMORA, R. B. B.; PALACIOS, C. C. A cultura do milho: Nitrogênio e inoculação com bactérias promotoras de crescimento. **Revista Científica Multidisciplinaria**, v. 3, n. 3, p. 17- 26, 2020.

GONZÁLEZ, G.Y.L.; RODRÍGUEZ-ESCRIBA, R.C.; MARTÍNEZ, R.E.I.; PÉREZ, L.S.; BORROTO, Y.L.D.; SÁNCHEZ, R.R. Response of 'MD-2' pineapple plantlets (*Ananas comosus* var. *comosus*) to a controlled release fertilizer during the acclimatization stage. ***Pineapple News***, v. *23*, p. 37–40, 2017.

GOTOH, E.; OIWAMOTO, K.; INOUE, S.I.; SHIMAZAKI, K.-I.; DOI, M. Stomatal response to blue light in crassulacean acid metabolism plants *Kalanchoe pinnata* and *Kalanchoe daigremontiana*. **J. Exp. Bot**, v.70, p.1367–1374, 2019.

GUIMARÃES, V. F; BATTISTUS, A. G.; SOUZA, A. K. P. de; BULEGON, L. G.; OFFEMANN, L. C.; INAGAKI, A. M. Bactérias promotoras de crescimento vegetal: da FBN à regulação hormonal, possibilitando novas aplicações. In: Zambom, M. A.; Kuhn, O. J.; Silva, N. L. S. da.; Stangarlin, J. R.; Nunes, R. V.; Fülber, V. M.; Eyng, C. **Ciências Agrárias: Ética do cuidado, legislação e tecnologia na agropecuária,** p. 192-212, 2017.

GUTJAHR, C.; PASZKOWSKI, U. Weights in the balance: Jasmonic acid and Salicylic acid signaling in root-biotroph interactions. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 7, p. 763-772, 2009.

IBGE. Produção Agrícola Municipal, 2022.

JHA, C. K.; AERON, A.; PETAL, B. V.; MAHESHWARI, D. K.; SARAF, M. Enterobacter: role in plant growth promotion. **Bacteria in agrobiology: Plant growth responses**, p. 159-182, 2011.

JOCHUM, M. D.; MCWILLIAMS, K. L.; BORREGO, E. J.; KOLOMIETS, M. V.; NIU, G.; PIERSON, E. A.; JO, Y. K. Bioprospecting Plant Growth-Promoting Rhizobacteria That Mitigate Drought Stress in Grasses. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 2106, 2019.

LABANCA, E. R. G.; ANDRADE, S. A. L.; KURAMAE, E. E.; SILVEIRA, A. P. D. A modulação do crescimento e do perfil nutricional da cana-de-açúcar sob estresse por alumínio depende das bactérias endofíticas benéficas e da origem das plântulas. **Ecologia Aplicada do Solo**, v. 156, p. 103715, 2020.

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento em plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v.4, p.1-49, 1996.

MATHIYAZHAGAN, N.; MUTHUSAMY, R. ,GAJENDIRAN K.; SURESH K. Evaluation of interaction among indigenous rhizobacteria and Vigna unguiculata on remediation of metal-containing abandoned magnesite mine tailing. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 4, p. 1399-1410, 2021.

MATOS, A. P.*;* PÁDUA, T. R. P. de; OLIVEIRA, F. O de P.; CORDEIRO, Z. J. M.; PEREIRA, R. S. **Sistema orgânico de produção de mudas de abacaxi.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura.11 p. (Circular Técnica, 127), 2018.

MELLO, M.R.F.; MARIANO, R.L.R.; MENEZES, M.; CÂMARA, T.R. & ASSIS, S.M.P. Seleção de bactérias e métodos de bacterização de crescimento em mudas de abacaxizeiro micropropagadas. **Summa Phytopathol**., v. 28, p. 222-228, 2002.

MEZZATESTA, M. L.; GONA, F.; STEFANI, S. *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. **Future Microbiol**, v. 7, n. 7, p. 887–902, 2012.

MUNAKATA Y.; GAVIRA C.; GENESTIER J.; BOURGAUD F.; HEHN A.; SLEZACK-DESCHAUMES S. Composição e comparação funcional da microbiota endofítica da raiz de vetiver originária de diferentes localizações geográficas que mostram atividade antagônica em relação ao *Fusarium graminearum*. **Microbiological Research**, v. 243, p. 126650, 2021.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; MARRA, L. M.; CARVALHO, T. S. de; MOREIRA, F. M. de S. The culture medium volume and the inoculation method should be considered in semi-quantitative screening of calcium phosphate solubilization by bacteria. **Acta Scientiarum**. v. 42, p. e44332, 2020.

PÁDUA, T. R. P. **Tecnologia de produção de mudas de abacaxi.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p.10, 2013.

PASQUAL, M.; SANTOS, F. C.; FIGUEIREDO, M. A.; JUNQUEIRA, K. P.; REZENDE, J. C.; FERREIRA, E. A. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 45- 49, 2008.

PETRZIK, K.; BRÁZDOVÁ, S.; KRAWCZYK, K. Novel Viruses That Lyse Plant and Human Strains of *Kosakonia cowanii*. **Viruses**, v. 13, n.8, p.1418, 2021.

POLLI, A.; NEVES, A. F. das; GALO, F. R.; GAZARINI, J.; RHODEN, S. A.; PAMPHILE, J.A. Aspectos da interação dos microrganismos endofíticos com plantas hospedeiras e sua aplicação no controle biológico de pragas na agricultura. SaBios: **Rev. Saúde e Biol**., v.7, n.2, p.82-89, 2012.

REFLORA. Flora e Funga do Brasil. Ananas comosus (L.) Merril. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB16574. Acesso em: 03 mar. 2024.

REINHARDT, D.H.R.C., BARTHOLOMEW, D.P., SOUZA, F.V.D., de CARVALHO, A. C.P.P., de PÁDUA, T.R.P., Junghans, D.T., de Matos, A.P. Advances in pineapple plant propagation. **Rev. Bras. Frutic**., v. 40, n. 6: (e-302), 2018.

ROTARU, V. I.; RISNOVEANU, L. Interactive effects of plant growth-promoting rhizobacteria and phosphates sources on growth and phosphorus nutrition of soybean under moderate drought. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 47, n. 3, p. 872-880, 2019.

SALES, M. D. C. Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in Pineapple. **Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. Vol. 6, p. 26-31, 2016.

SAMMAURIA, R., KUMAWAT, S., KUMAWAT, P., SINGH, J., JATWA, T. K. Microbial inoculants: potential tool for sustainability of agricultural production systems. **Archives of Microbiology**, v. 202, p. 677-693, 2020.

SANTOYO, G. MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOESQUEDA, MA.DEL C.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92-94, 2016. doi: 10.1016/j.micres.2015.11.008.

SBRAVATTI JÚNIOR, J. A.; AUER, C. G.; PIMENTEL, I. C.; SANTOS, Á. F. DOS; SCHULTZ, B. In vitro selection of endophytes for biological control of Botrytis cinerea in Eucalyptus benthamii. **Floresta**, v. 43, p. 145-151, 2013.

SHAHID, M.; AMEEN, F.; MAHESHWARI, H. S.; AHMED, B; ALNADHARI, S.; KHAN, M. S. A colonização de Vigna radiata por uma bactéria halotolerante Kosakonia sacchari melhora o equilíbrio iônico, os metabólitos estressores, o status antioxidante e o rendimento sob estresse de NaCl. **Ecologia Aplicada do Solo**, v. 158, p. 103809, 2021.

SILVA, P. O. S. da.; SOUZA, C. P. F.; FERREIRA, C. F.; SOUZA, F. V. D.; OLIVEIRA, S. A. S. de. Functional microbiome of *Ananas* spp. as growth-promoting agent in pineapple BRS Imperial. **Scientia Horticulturae**, v. 321, p. 112271, 2023.

SINGH N., K.; BEZDAN, D.; CHECINSKA, S. A. et al. Espécies de *Enterobacter bugandensis* multirresistentes isoladas da Estação Espacial Internacional e análises genômicas comparativas com cepas patogênicas humanas. **BMCMicrobiol**, v. 18, n.175, p. 1-13, 2018.

SOUZA, C. P. F. **Estudo do microbioma associado ao gênero *Ananas*.** 2021. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2021.

SOUSA, E. M. et al. O solo rizosférico do arrozal apresenta bactérias isoláveis capazes de induzir tolerância ao frio nas plantas de arroz. **Revista de Ciência do Solo e Nutrição de Plantas**, v. 3, pág. 1993-2006, 2021.

SOUZA, C. R. S.; BARBOSA, A. C. O.; FERREIRA, C. F.; SOUZA, F. V. D.; ROCHA, L. S.; SOUZA, E. H. de; OLIVEIRA, S. A. S. de. Diversity of microorganisms associated to Ananas spp. from natural environment, cultivated and ex situ conservation areas. **Scientia Horticulturae**, v. 243, p. 544-551, 2019.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHANS, T. G.; SILVA, M. J. **Micropropagação do abacaxizeiro e outras bromeliáceas.** In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. Aspectos práticos da micropropagação de plantas. Brasília: Embrapa, p. 189-215, 2013.

VENTURA, J.A.; CABRAL, J.R.S.; MATOS, A.P.; COSTA, H. 'Vitória': new pineapple cultivar resistant to fusariose. **Acta Horticulturae**, v. 822, p. 51-54, 2009.

VILLALOBO, A.; GONZÁLEZ, J.; SANTOS, R.; RODRÍGUEZ, R. Morpho-physiological changes in pineapple plantlets [*Ananas comosus* (L.) Merr.] during acclimatization. **Ciência Agrotecnol**. v. 36, p. 624–630, 2012.

VILLALOBOS-OLIVERA, A.; LORENZO-FEIJÓ, J. C.; QUINTANA-BERNABÉ, N.; MORA, M. L.; BETTOMI, J. C.; MARTÍNEZ-MOTERO, M. E. Morpho-Anatomical and Physiological Assessments of Cryo-Derived Pineapple Plants (Ananas comosus var. comosus) after Acclimatization. **Horticulturae**, v. 7, p. 841, 2023.

WEBER, O.B.; CORREIA, D.; SILVEIRA, M.R.S.; CRISÓSTOMO, L.A.; OLIVEIRA, E. M. & SÁ, E.G. Efeito da bactéria diazotrófica em mudas micropropagadas de abacaxizeiros Cayenne Champac em diferentes substratos. **Pesq. Agropec. Bras**., v. 38, p.689-696, 2003.

WHITE, J. F.; KINGSLEY, K. L.; ZHANG, Q.; VERMA, R. et al. Review: endophytic microbes and their potential applications in crop management. **Pest Management Science**, v. 75, n. 10, p. 2558-2565, 2019.

WOOD, J. L. ZHANG, C.; MATHEWS, E. R.; TANG, C.; FRANKS, A. E. Microbial community dynamics in the rhizosphere of a cadmium hyper-accumulator. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-10, 2016.

YOOLONG, S.; KRUASUWAN, W.; THANH PHẠM, H. T.; JAEMSAENG, R.; JANTASURIYARAT, C.; THAMCHAIPENET, A. Modulation of salt tolerance in Thai jasmine rice (Oryza sativa L. cv. KDML105) by Streptomyces venezuelae ATCC 10712 expressing ACC deaminase**. Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019.

ZHU, B.; LOU, M. M.; XIE, G. L.; WANG, G. F.; ZHOU, Q.; WANG, F. et al. *Enterobacter mori* sp. nov., associated with bacterial wilt on *Morus alba* L. **Int J Syst Evol Microbiol**, v. 61, n. 11, p. 2769–74, 2011.

CAPÍTULO 1

POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VITRO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO ‘BRS DIAMANTE’ E ‘BRS SOL BAHIA’

POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VITRO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO ‘BRS DIAMANTE’ E ‘BRS SOL BAHIA’

RESUMO: A propagação convencional do abacaxizeiro por meio de brotações laterais, favorece a disseminação de pragas e doenças, além de não atender à alta demanda de mudas por hectares. A micropropagação que consiste na produção de mudas de qualidade, surge como uma alternativa viável, apesar da forte rejeição por parte do setor produtivo, devido ao longo período de aclimatização, que eleva o custo da muda. Estratégias para reduzir o tempo de aclimatização, como o uso de microrganismos benéficos promotores de crescimento, estão sendo estudadas e mostram potencial para promover o crescimento de diferentes variedades. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de promoção de crescimento de microrganismos benéficos associados ao gênero *Ananas* spp. no desenvolvimento de mudas dos híbridos de abacaxizeiro ‘BRS Diamante’ e ‘BRS Sol Bahia’ por meio da microbiolização in vitro. Por tanto, mudas micropropagadas do BRS Diamante e BRS Sol Bahia foram inoculadas in vitro, utilizando três isolados de bactérias (BAC25, BAC222 e BAC406) e quatro combinações entre eles, as quais passaram por avaliação periódicas (15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias), adotando-se as seguintes variáveis: altura da planta (AP) (cm) e número de folhas (NF). Após 90 dias, as plantas foram conduzidas à aclimatização em casa de vegetação, onde foram realizadas avaliações periódicas a cada 30 dias, durante um período de 120 dias, considerando as variáveis: altura da planta (AP) (cm), comprimento da folha D (CFD) (cm), largura da folha D (LFD) (cm), diâmetro da copa (DC) (cm) e número de folhas (NF). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. De acordo com os resultados, foi observado que os três mixs duplos favoreceram os melhores resultados para BRS Sol Bahia enquanto o mix triplo foi o mais eficiente para o BRS Diamante durante a fase in vitro. Além disso, em fase de aclimatização, BAC25 promoveu maior incremento para todas as variáveis analisadas para os dois híbridos.

Palavras-chave: Abacaxi; Micropropagação; Inoculação; Microrganismos benéficos

POTENTIAL OF IN VITRO MICROBIOLIZATION IN PROMOTING THE GROWTH OF PINEAPPLE HYBRIDS 'BRS DIAMANTE' AND 'BRS SOL BAHIA

ABSTRACT: The conventional propagation of pineapple by means of lateral shoots favors the spread of pests and diseases, in addition to not meeting the high demand for seedlings per hectare. Micropropagation, which consists of the production of quality seedlings, emerges as a viable alternative, despite the strong rejection by the productive sector, due to the slow acclimatization time, which increases the cost of the seedling. Strategies to reduce acclimatization time, such as the use of beneficial growth-promoting microorganisms, are being studied and show potential to promote the growth of different varieties. Therefore, this study aimed to evaluate the potential for promoting the growth of beneficial microorganisms associated with the genus *Ananas* spp. in the development of seedlings of pineapple hybrids 'BRS Diamante' and 'BRS Sol Bahia' by means of in vitro microbiolization. Therefore, micropropagated seedlings of BRS Diamante and BRS Sol Bahia were inoculated in vitro, using three isolates of bacteria (BAC25, BAC222 and BAC406) and four combinations between them, which underwent periodic evaluation (15, 30, 45, 60, 75 and 90 days), adopting the following variables: plant height (AP) (cm) and number of leaves (NF). After 90 days, the plants were acclimatized in a greenhouse, where periodic evaluations were carried out every 30 days, for a period of 120 days, considering the following variables: plant height (AP) (cm), leaf length D (CFD) (cm), leaf width D (LFD) (cm), crown diameter (DC) (cm) and number of leaves (NF). The data were submitted to analysis of variance and the means were grouped using the Scott-Knott test at 5% probability. According to the results, it was observed that the three double mixes favored the best results for BRS Sol Bahia while the triple mix was the most efficient for BRS Diamante during the in vitro phase. In addition, in the acclimatization phase, BAC25 promoted a greater increase for all variables analyzed for the two hybrids.

Keywords: Pineapple; Micropropagation; Inoculation; Beneficial microorganisms

INTRODUÇÃO

Com comprovada importância econômica, o abacaxizeiro (Ananas comosus L. Merr) é uma das frutas tropicais mais consumidas no mundo e o Brasil é o terceiro maior produtor mundial, com 1,5 milhões de toneladas de frutos colhidos em cerca de 60 mil hectares (FAO, 2022; IBGE, 2023). Além do seu uso na alimentação, possui outras potencialidades como o uso ornamental (SOUZA et al., 2012) moléculas bioativas para uso em fármacos (GUEDES et al., 2018; MIRANDA et al., 2017) ou como fonte de fibras vegetais de qualidade (SENA NETO et al., 2015).

A forma de propagação do abacaxizeiro é predominantemente assexuada e o método convencional de produção de mudas é a partir de brotações laterais da planta. Além de não atender plenamente a alta demanda por mudas, que pode variar de 30.000 a 40.000 plantas por hectare, as mudas obtidas por esse meio de propagação favorecem a disseminação de pragas e doenças.

Diante desse contexto, a muda micropropagada surge como uma alternativa viável, uma vez que há protocolos bem estabelecidos, conforme descritos por Guerra et al. (1999), Souza et al. (2010) e Souza et al. (2013). Além disso, quando associados ao cultivo de ápices caulinares em tamanhos reduzidos, como estudado por Guerra et al. (2020), esses protocolos demonstram potencial para produzir um grande número de plantas saudáveis, atendendo, assim, a demanda do sistema de produção dessa cultura.

No entanto há uma forte rejeição por parte do setor produtivo para usar este tipo de muda, devido, principalmente, ao custo elevado, já que a fase de aclimatização é longa devido a um crescimento lento da muda (REINHARDT et al., 2018) e ao relato de desordens fisiológicas que afetam o desempenho da planta no campo. Outro fator que contribui para a rejeição de mudas obtidas por micropropagação é a possibilidade de ocorrência de variações somaclonais (SONEJI et al., 2002; ROOSTIKA et al., 2015). Entretanto, novos estudos já demonstraram a estabilidade genética dessas mudas, quando são tomados os devidos cuidados, inclusive produzidas em sistemas de imersão temporária (SCHERER et al., 2015).

Em vista disso vários trabalhos têm focado na redução desse tempo de aclimatização como forma de viabilizar a muda micropropagada de abacaxi (BALDOTTO, et al., 2010; SOUZA et al., 2019; SILVA et al., 2020). Dentre as estratégias que podem ser usadas para reduzir o tempo de aclimatização da muda micropropagada está o uso de microrganismos promotores de crescimento e que vem trazendo resultados promissores para várias culturas, a exemplo da soja, feijão caupi, arroz, milho e eucalipto (MAFIA et al., 2009; CHAGAS et al., 2017; CHAGAS JUNIOR et al., 2021).

Para o abacaxizeiro, estudos anteriores identificaram uma diversidade de microrganismos benéficos associado ao gênero *Ananas* a depender de sua origem e localização na planta (SOUZA et al., 2019), assim como já se avaliou a funcionalidade de alguns destes microrganismos como promotores de crescimento (SOUZA, 2021; SILVA, 2022; SILVA et al., 2023) para as variedades Pérola e Imperial.

Neste estudo, foram utilizados os isolados que obtiveram os melhores resultados por Souza (2021), que avaliou a eficiência de 18 isolados bacterianos na promoção de crescimento de mudas micropropagadas de abacaxi cv. BRS Imperial. Os resultados demonstraram que houve aumento da biomassa das mudas de abacaxizeiro micropropagadas, promovendo incremento no crescimento para todas as variáveis analisadas utilizando os isolados BAC25, BAC406 e BAC222.

O programa de melhoramento da Embrapa Mandioca e Fruticultura está lançando dois novos híbridos, resistentes à fusariose e com características semelhantes ao Pérola, a variedade preferida dos brasileiros. Como uma das ações prévias ao lançamento está a produção de mudas em larga escala por meio da micropropagação.

Diante disso, o objetivo deste estudo é avaliar o potencial de promoção de crescimento de microrganismos benéficos associados ao gênero *Ananas* spp. no desenvolvimento de mudas dos híbridos de abacaxizeiro ‘BRS Diamante’ e ‘BRS Sol Bahia’ por meio da microbiolização in vitro.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em condições de Laboratório (Laboratório de Cultura de Tecidos - LCT e Laboratório de Fitopatologia) e de casa de vegetação, na Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada em Cruz das Almas, Bahia. O município está situado a 12°40'19'' de Latitude Sul e 39°06'22'' de Longitude Oeste a 220 m acima do nível do mar. Segundo a classificação de Köppen (1936), o clima é tropical quente e úmido, Aw a Am, com temperatura média anual de 24,5°C, umidade relativa de 80% e precipitação média de 1.249,7 mm anuais. O solo é classificado em latossolo amarelo distrófico A moderado, textura franco-arenosa.

Material vegetal

Foram utilizados nesse estudo, dois híbridos desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento de Abacaxizeiro da Embrapa Mandioca e Fruticultura: 'BRS Diamante' e 'BRS Sol Bahia', que se destacaram em diferentes ensaios de competição em regiões distintas do Brasil, por apresentarem frutos de tamanho similar ao da cultivar tradicional 'Pérola', porém com elevado teor de açúcares e resistentes à fusariose.

O híbrido 'BRS Diamante' se caracteriza por ser uma planta de porte médio, com folhas mais estreitas que o 'Pérola', porém com alguns espinhos. O híbrido 'BRS Sol Bahia' se caracteriza por ser uma planta de porte alto, com crescimento vegetativo excelente, produção de folhas mais eretas, com espinhos apenas nos bordos do ápice das folhas. Os dois híbridos utilizados contribuem para a diversificação de cultivares no Brasil, que atualmente é dominado pela variedade Pérola.

Obtenção das mudas micropropagadas para microbiolização

Como explante inicial para a multiplicação in vitro, foram utilizadas 40 plantas matrizes livres de vírus, já estabelecidas in vitro, dos híbridos 'BRS Diamante' e 'BRS Sol Bahia'. As plantas in vitro foram subcultivadas para meio de multiplicação MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com 30 g

L^{-1} de sacarose, 0,5 mg L^{-1} de BAP, 0,2 mg L^{-1} de ANA e solidificado com 2,4 g L^{-1} de Phytagel, distribuído em frascos de vidro e autoclavados a uma temperatura de 120 ºC, durante 20 minutos.

Foram realizados quatro subcultivos em intervalos de 45 dias com o objetivo de alcançar o número adequado de plantas para a realização do estudo que foi de 400 plantas para híbrido 'BRS Sol Bahia' e 200 plantas do híbrido 'BRS Diamante'. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 27 ºC ± 1°C, sob fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 30 μE m^{-2} s^{-1}.

Após o 4° subcultivo, os brotos foram transferidos para meio de enraizamento, MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L^{-1} de sacarose, 2,4 g L^{-1} de Phytagel, sem qualquer regulador de crescimento. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento por um período de 45 dias.

Obtenção dos isolados bacterianos

Foram utilizados três isolados bacterianos (BAC25, BAC406 e BAC222) e quatro combinações entre eles (MIX1, MIX2, MIX3 e MIX4), (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos isolados que foram utilizados no trabalho. Cruz das Almas, Bahia, 2024.

	Isolado/MIX	Nicho de ocupação	Identificação ao nível de gênero (BLAST-NCBI)
1	BAC25	Bactérias endofíticas [1]	*Enterobacter hormaechei subsp. steigerwaltii*
2	BAC406	Bactérias endofíticas	*Enterobacter hormaechei subsp. Ohara*
3	BAC222	Bactérias de solo[2]	*Kosakonia cowanii*
4	MIX1 (BAC25 e BAC406)	-	-
5	MIX2 (BAC25 e BAC222)	-	-
6	MIX3 (BAC406 e BAC222)	-	-

7	MIX4 (BAC25 e BAC406 e BAC222)	-	-
-	CONTROLE[3]	-	-

[1]Bactérias isoladas a partir de fragmentos do caule de plantas coletadas em áreas de cultivo de *Ananas comosus*. [2]Bactérias isoladas a partir de solo rizosférico de plantas coletadas em áreas de cultivo de *Ananas comosus*. [3]Plantas não tratadas com microrganismos.

Esses isolados foram incorporados à coleção biológica de microrganismos associados ao gênero *Ananas* spp. do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, onde são mantidos em meio de preservação (meio nutriente líquido + 15% de glicerol). Portanto, os isolados bacterianos passaram pelo processo de reativação e multiplicação, por meio da transferência de 100µL de suspensão de cada isolado, para o meio nutriente líquido (2,5 g de peptona, 0,75 g de extrato de carne, 2,5 g cloreto de sódio, 0,75 g extrato de levedura e água destilada), e logo após, transferidos para mesa de agitação para o crescimento das colônias bacterianas por 24h, à temperatura ambiente.

Após o período de incubação, os isolados foram reunidos em diferentes recipientes e tiveram suas absorbâncias definidas e ajustadas para 0,1 (ʎ=550 nm) que corresponde a 10^8 UFC mL^{-1} (CUNHA et al., 2006; SOUZA, 2011).

Microbiolização in vitro

Após a reativação dos isolados, as plantas enraizadas advindas da micropropagação passaram pelo processo de microbiolização in vitro.

Para a etapa de microbiolização in vitro foram preparados tubos de ensaio, previamente autoclavados. Cada tubo continha 10 g de substrato comercial, que foi autoclavado duas vezes por 30 minutos. Além disso, foram adicionados 4 mL de meio líquido contendo sais e vitaminas de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) sem sacarose, suplementado com BAP 0,20 mg L^{-1}, e que teve seu pH ajustado para 5,7. Após a adição do meio líquido ao substrato, os tubos de ensaio foram vedados com filme plástico PVC e submetidos novamente à autoclavagem a 120 °C por 20 minutos. Após retirados da autoclave e resfriamento do meio, foram adicionados 1 mL de cada suspensão bacteriana em seus devidos tratamentos. O controle foi composto

por plantas não tratadas, com substrato suplementado com o caldo nutriente e o meio líquido.

Após três dias, as mudas dos híbridos ‘BRS Diamante’ e ‘BRS Sol Bahia’ foram introduzidas nos tubos de ensaios e mantidas em sala de crescimento com condições de incubação de 27 ± 1 ºC, sob fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 30 µE m^{-2} s^{-1} (Figura 1).

Os efeitos da microbiolização foram avaliados aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias, adotando-se as seguintes variáveis: altura da planta (AP) (cm) e número de folhas (NF).

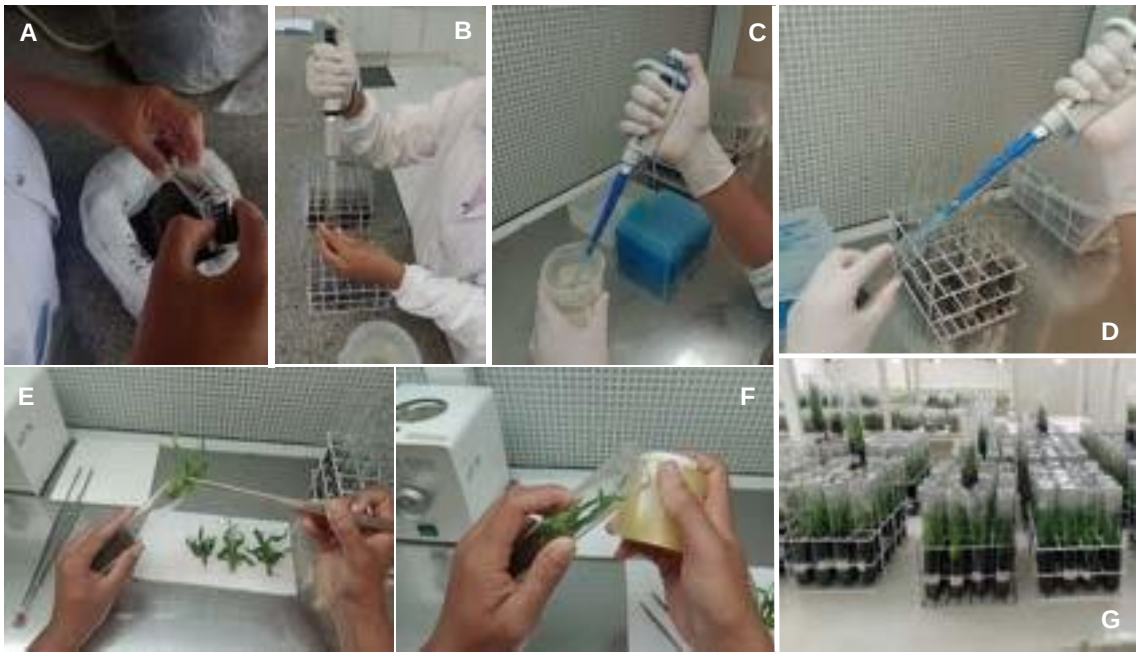


Figura 1. Sequência metodológica da microbiolização in vitro. **A –** Tubos de ensaios sendo enchidos com substrato autoclavados**; B –** Aplicação de MS líquido**; C** e **D –** Aplicação dos isolados no substrato**; E** e **F –** Mudas introduzidas em substratos contendo os isolados e **G –** Cultivo das mudas microbiolizadas in vitro (Fotos: Autoria própria).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 7 tratamentos, mais o controle, composto por plantas não tratadas, com 50 repetições (plantas) por tratamento para o híbrido ‘BRS Sol Bahia’ e 25 repetições para o híbrido ‘BRS Diamante’, onde cada híbrido foi avaliado em experimentos independentes.

Aclimatização das plantas microbiolizadas in vitro

Após o período de 90 dias, as mudas advindas da microbiolização in vitro foram levadas para casa de vegetação, e transferidas para copos plásticos de 300 mL contendo substrato comercial autoclavado, duas vezes por 30 minutos a 120 °C (Figura 2).

Os efeitos da microbiolização foram avaliados a cada 30 dias, durante um período de 120 dias, considerando as seguintes variáveis: altura da planta (AP) (cm), comprimento da folha D (CFD) (cm), largura da folha D (LFD) (cm), diâmetro da copa (DC) (cm) e número de folhas (NF).



Figura 2. Plantas microbiolizadas in vitro, sendo transferidas para substrato comercial autoclavados em casa de vegetação (**A, B, C** e **D**); Efeitos da microbiolização in vitro em plantas dos híbridos 'BRS Diamante' e 'BRS Sol Bahia' após 120 dias da transferência para casa de vegetação (**E** e **F**) (Fotos: Autoria própria).

O delineamento experimental utilizado em casa de vegetação foi inteiramente casualizado, sendo 7 tratamentos com 25 repetições e a testemunha para o híbrido 'BRS Diamante'. No entanto, para o híbrido 'BRS Sol Bahia', o delineamento foi desbalanceado devido a perdas na fase do cultivo in vitro, sendo 7 tratamentos com repetições variáveis (14 - 38) e o controle.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e como os dados coletados não seguiram a normalidade, foram transformados em arc.sen. $\sqrt{(x/100)}$.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises foram efetuadas com o auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS

Microbiolização in vitro

Os resultados com as plantas microbiolizadas in vitro, mostraram uma diferença significativa entre os tratamentos, considerando as duas variáveis avaliadas aos 90 dias.

Na comparação entre os dois híbridos, tanto o número de folhas (NF), quanto a altura das plantas (AP) in vitro, foram significativamente maiores no híbrido BRS Diamante para todos os tratamentos, incluindo o controle. A única exceção foi o mix BAC25 + BAC406 e o mix BAC25 + BAC222 que resultou na mesma altura de planta (AP) para os dois híbridos (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios do número de folhas (NF) e altura das plantas (AP) dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia aos 90 dias, após diferentes tratamentos com isolados bacterianos e suas combinações, in vitro.

Tratamentos com isolados	N° de Folhas (NF)		Altura da Planta (AP)	
	Diam	SB	Diam	SB
Controle	14,76 aC	11,78 bA	5,71 aB	4,60 bC
BAC25	14,20 aC	11,35 bA	6,47 aA	5,71 bA
BAC406	15,63 aB	12,06 bA	6,62 aA	5,23 bB
BAC222	15,38 aB	10,51 bB	6,24 aA	5,26 bB
BAC25 + BAC406	13,31 aD	11,89 bA	5,24 aC	5,54 aA
BAC25 + BAC222	14,50 aC	11,42 bA	6,00 aB	5,77 aA
BAC406 + BAC222	14,27 aC	11,26 bA	5,93 aB	5,32 bB
BAC25 + BAC406 + BAC222	16,50 aA	11,45 bA	6,30 aA	5,12 bB
CV (%)	17,11		18,43	
Média	14,83 a	11,47 b	6,06 a	5,36 b

*Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra minúsculas nas linhas (comparação entre os híbridos); médias seguidas da mesma letra maiúsculas

nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

As avaliações realizadas ao longo do tempo até os 90 dias após a microbiolização confirmam um maior crescimento do BRS Diamante (Figura 3), registrando inclusive uma queda no número de folhas (NF) do BRS Sol Bahia após os 45 dias.

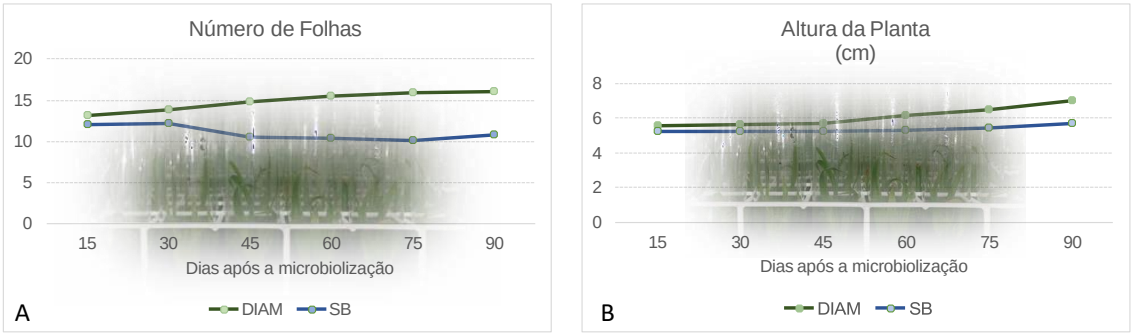


Figura 3. Gráfico representativo dos valores médios das variáveis, Número de Folhas (NF) (A) e Altura da Planta (AP) (B) ao longo de seis avaliações para os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia, após microbiolização in vitro.

Já em relação aos isolados e suas combinações (Figura 4), os melhores resultados para o número de folhas (NF) no BRS Diamante foram obtidos com a utilização do mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222) enquanto para o BRS Sol Bahia as maiores médias foram obtidas com os três mixes duplos e com os isolados BAC406 e BAC222, além do mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222).

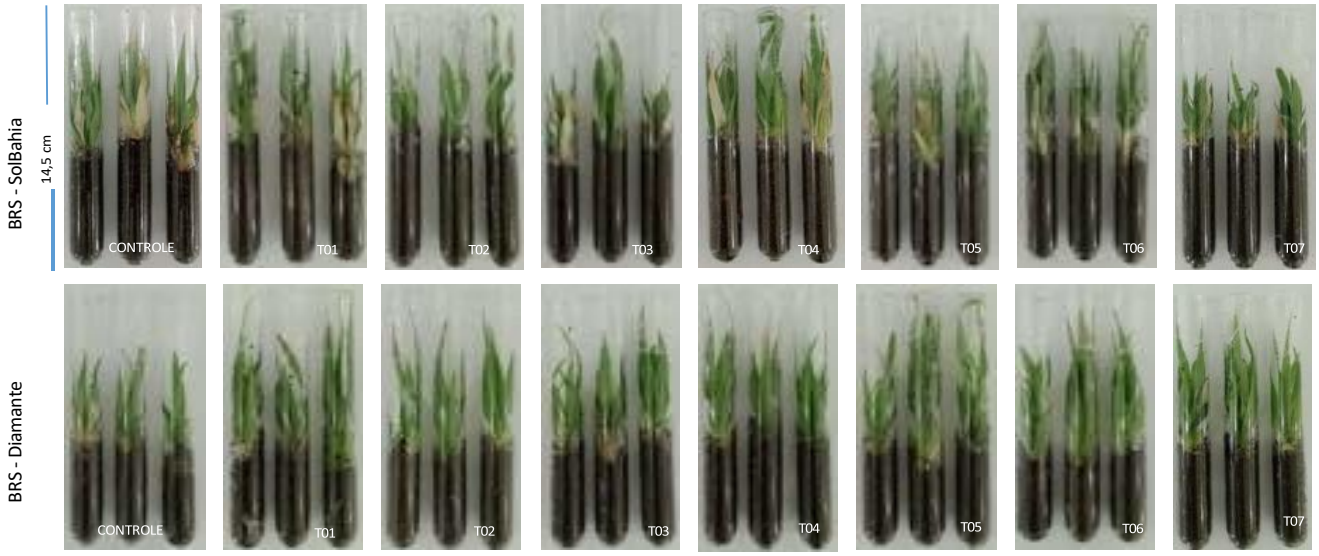


Figura 4. Plantas in vitro dos híbridos BRS Sol Bahia e BRS Diamante após 90 dias de microbiolização com diferentes tratamentos de isolados e suas combinações: T01 (BAC25), T02 (BAC406), T03 (BAC222), T04 (BAC25 + BAC406), T05 (BAC25 + BAC222), T06 (BAC406 + BAC222) e T07 (BAC25 + BAC406 + BAC222).

Para a altura da planta (AP), os isolados BAC25, BAC406, BAC222 e o mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222) promoveram os melhores resultados para o BRS Diamante, enquanto para o BRS Sol Bahia o isolado BAC25 e os dois mixes duplos (BAC25 + BAC406, BAC25 + BAC222) resultaram em plantas de maior altura (Tabela 2).

Aclimatização das plantas microbiolizadas in vitro

De acordo com os resultados obtidos com a aclimatização das plantas microbiolizadas in vitro, houve diferença significativa entre os tratamentos, considerando as variáveis avaliadas aos 120 dias.

Na comparação entre os dois híbridos, o BRS Diamante demonstrou melhores resultados quando comparado ao BRS Sol Bahia para todos os tratamentos, incluindo o controle, para as variáveis analisadas. No entanto, para a variável altura da planta (AP), não houve diferença estatística para os tratamentos BAC25, BAC222 e os três mixs duplos (BAC25 + BAC406, BAC25 + BAC222 e BAC406 + BAC222), resultaram na mesma altura para ambos os híbridos. Da mesma forma, para o comprimento da folha D (CFD), em que os isolados BAC222 e o mix BAC25 + BAC406 não diferiram entre si, apresentando resultados similares para ambos os híbridos (Tabela 3).

Na largura da folha D (LFD), não houve diferença significativa para os isolados BAC25 e o mix BAC406 + BAC222 para ambos os híbridos. Assim como, para o diâmetro da copa (DC), não houve diferença significativa para os tratamentos BAC222 e o mix BAC25 + BAC406 para o BRS Diamante e BRS Sol Bahia. A exceção foi observada na variável n° de folhas, em que o BRS Sol Bahia superou o BRS Diamante para o isolado BAC25 e o mix BAC25 + BAC406 (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia aos 120 dias, após aclimatização de mudas tratadas com diferentes tratamentos com isolados bacterianos e suas combinações.

Tratamentos	Altura (cm)		Comprimento da Folha D (cm)		Largura Folha D (cm)		Diâmetro da Copa (cm)		Nº de Folhas	
	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB
Controle	5,79 aB	4,72 bC	6,22 aB	5,20 bC	1,44 aB	1,37 aB	12,61 aC	10,59 bC	12,62 aC	12,50 aC
BAC25	7,08 aA	6,85 aA	8,21 aA	7,54 bA	1,75 aA	1,77 aA	15,99 aA	14,67 bA	14,54 bA	15,84 aA
BAC406	7,03 aA	5,52 bC	6,65 aB	5,92 bB	1,69 aA	1,37 bB	13,32 aB	11,71 bB	15,46 aA	13,65 bB
BAC222	5,71 aB	5,18 aC	6,24 aB	6,24 aB	1,61 aB	1,39 bB	12,90 aC	12,26 aB	12,88 aC	13,42 aB
BAC25 + BAC406	5,98 aB	5,82 aB	6,45 aB	5,96 aB	1,64 aA	1,50 bB	13,12 aB	12,13 aB	12,78 bC	14,13 aB
BAC25 + BAC222	6,12 aB	5,88 aB	6,72 aB	4,85 bC	1,57 aB	1,41 bB	13,93 aB	10,05 bC	13,83 aB	14,53 aB
BAC406 + BAC222	6,30 aB	5,87 aB	6,05 aB	5,27 bC	1,54 aB	1,42 aB	12,25 aC	10,84 bC	13,66 aB	13,51 aB
BAC25 + BAC406 + BAC222	6,18 aB	5,03 bC	6,26 aB	5,37 bC	1,57 aB	1,25 bB	12,83 aC	10,28 bC	13,56 aB	11,43 bC
QM	24,38	33,62	41,83	62,99	0,81	1,99	119,81	207,61	84,04	143,96
F value	5,188*	7,334*	12,715*	11,959*	3,417*	6,742*	13,904*	12,492*	8,946*	8,634*
CV (%)	14,79		16,08		15,27		14,96		12,91	
Média	6,27 a	5,63 b	6,60 a	5,81 b	1,60 a	1,44 b	13,37 a	11,59 b	13,67 a	13,61 a

* Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra minúsculas nas linhas (comparação entre os híbridos); médias seguidas da mesma letra maiúsculas nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

As avaliações realizadas ao longo do tempo até os 120 dias após aclimatização das mudas microbiolizadas in vitro, confirmam um maior crescimento para os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia (Figura 5), registrando inclusive uma queda no número de folhas (NF) para ambos os híbridos após os 60 dias.

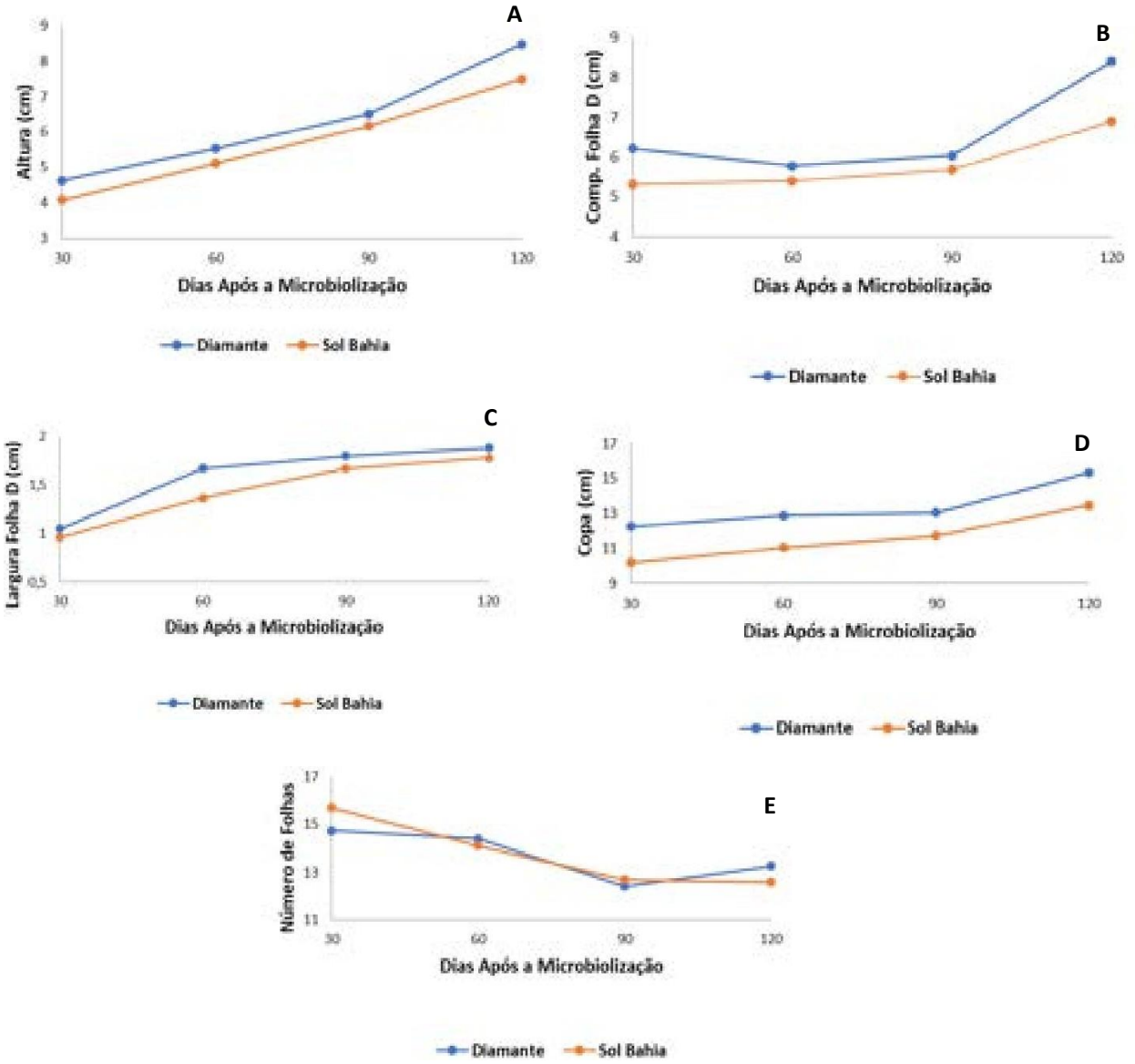


Figura 5. Gráficos representativos dos valores médios das variáveis (A – E) ao longo de quatro avaliações para os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia, após aclimatização das mudas microbiolização in vitro.

Com relação aos isolados e suas combinações (Tabela 3), os melhores resultados para a altura da planta (AP) para o BRS Diamante foram obtidos com a utilização dos isolados BAC25 e BAC406, enquanto para o BRS Sol Bahia as maiores médias foram obtidas apenas com o isolado BAC25.

Para as variáveis comprimento da folha D (CFD) e diâmetro da copa (DC) (Tabela 3), o isolado BAC25 promoveu os melhores resultados tanto para o BRS Diamante quanto para o BRS Sol Bahia.

Os tratamentos compostos pelos isolados BAC25, BAC406 e o mix BAC25 + BAC406, apresentaram os melhores resultados para a variável largura da folha D (LFD) para o BRS Diamante, enquanto para o BRS Sol Bahia apenas o isolado BAC25 promoveu os melhores resultados (Tabela 3). Quanto ao número de folhas (NF), o isolado BAC25 apresentou as maiores médias para ambos os híbridos, além do isolado BAC406 para o BRS Diamante (Tabela 3).

DISCUSSÃO

Os isolados utilizados nesta pesquisa foram escolhidos com base em um trabalho prévio realizado por Silva et al. (2023) com o BRS Imperial, um dos híbridos já lançados pelo Programa de Melhoramento Genético de Abacaxi, resistente à fusariose e de excelentes características organolépticas.

Os tratamentos consistiram dos três isolados bacterianos (BAC25, BAC222 e BAC406), um mix composto dos três (BAC25+ BAC222+BAC406) e um controle. Nenhum dos tratamentos promoveu um aumento na altura da planta (AP), assim como para o número de folhas (NF) apenas BAC406 apresentou um resultado satisfatório em relação ao controle. Além disso, para ambas as variáveis BAC25 mostrou um efeito inibitório.

No presente trabalho, os resultados obtidos com as plantas in vitro deixam evidente uma especificidade dos isolados com o material genético, quando se vê que, apesar de ambos os híbridos (BRS Diamante e BRS Sol Bahia) terem os mesmos parentais, a resposta aos tratamentos são distintas na maioria das vezes.

Nas condições estabelecidas in vitro para o trabalho, os três mixes duplos são melhores para o BRS Sol Bahia, enquanto para o BRS Diamante, o mix triplo favoreceu o número de folhas (NF) e a altura da planta (AP).

As bactérias, BAC25 e BAC406, utilizadas neste estudo apresentam sequência do 16S rDNA similar com espécies pertencentes ao gênero *Enterobacte*r, sendo *Enterobacter hormaechei subsp. oharae* o(s) táxon(s) mais próximo(s). Em análise filogenética, a(s) amostras(s) foi(ram) agrupada(s) com *Enterobacter hormaechei subsp. steigerwaltii* e *Enterobacter hormaechei subsp. ohara*, indicando proximidade com essa(s) espécie(s). A(s) amostras(s) pode(m) ser considerada(s) como pertencente(s) ao gênero *Enterobacter*.

A sequência do 16S rDNA de BAC222 apresentou maior similaridade com espécies pertencentes ao gênero *Kosakonia*, sendo *Kosakonia cowanii* o táxon mais próximo. Na análise filogenética a amostra foi agrupada com *Kosakonia cowanii*, indicando proximidade com essa espécie.

Bactérias do gênero *Enterobacter* são amplamente distribuídas em diversos ambientes e os organismos pertencentes a esse gênero possuem habilidades como fixação de nitrogênio e produção de fitormônios, como auxina e etileno, que contribuem para o desenvolvimento de raízes e pelos radiculares (DIAS e SANTOS, 2022). Esses organismos podem ser encontrados em espécies vegetais de forma endofíticas ou associados à rizosfera (SANTI FERRARA et al., 2012).

Ranawat et al. (2021) observaram que sementes de tomates (*Lycopersicum esculentum*) tratadas com *Enterobacter hormaechei* aumentaram a biomassa e o comprimento dos brotos quando comparadas ao controle, melhorando não apenas o crescimento das plantas, como também modificando a arquitetura das raízes, levando a uma maior produtividade da cultura.

De forma semelhante, pesquisa conduzidas por Jochum et al. (2019) evidenciaram o potencial de promoção de crescimento de *Enterobacter* sp. e *Bacillus* sp. na produção de milho e trigo. No milho, *Enterobacter* sp. exibiu maiores efeitos no comprimento, diâmetro e ramificação da raiz quando comparados com *Bacillus* sp. ou o controle. Enquanto no trigo, este isolado aumentou significativamente a ramificação radicular.

As bactérias do gênero *Kosakonia* são encontradas em uma variedade de ambientes, incluindo solo, plantas e ambientes aquáticos. Algumas espécies de *Kosakonia* foram identificadas como potenciais promotoras de crescimento de plantas, devido à sua capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico e solubilização de fosfato, o que pode beneficiar o desenvolvimento das plantas hospedeiras. No entanto, a espécies *K. cowanii* atua como um patógeno humano facultativo oportunista (BERGER; BALDERMANN; RUPPEL, 2017).

Um estudo realizado por Mathiyazhagan et al. (2022), evidencia potenciais rizobactérias promotoras de crescimento de plantas da rizosfera na cultura do amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Um total de 7 isolados (Ah1 a Ah7) foram enumerados e apresentaram potencial de fixação de nitrogênio. Destacando-se o isolado Ah4 por apresentar maior potencial para atividades promotoras de crescimento vegetal em comparação aos demais isolados. Este isolado foi reconhecido como pertencente ao gênero *Kosakonia* sp. e 61% de correspondência com *K. cowanii* na análise de árvores filogenéticas. Os resultados fisiológicos e biomoleculares indicaram que *Kosakonia* sp. melhorou efetivamente o crescimento, tanto na altura da planta, quanto no comprimento da raiz, no aumento de parte aérea e conteúdo total de carboidratos e proteína total de *A. hypogaea* L. em comparação com o controle.

De maneira semelhante, Kleingesinds et al. (2018), analisaram a influência de *Kosakonia* sp., no crescimento da cana-de-açúcar em alguns parâmetros fisiológicos (biomassa, altura da planta e número de folhas), além disso, também foram determinados a relação C/N e a assimilação de CO_2. Os resultados mostraram que a inoculação com bactérias resultou no aumento da biomassa vegetal, na assimilação de CO_2, no total de C e N nas raízes e no número de folhas. Concluindo, que a inoculação da cana-de-açúcar com *Kosakonia* sp. aumentou a eficiência do metabolismo da planta.

Diversos estudos com diferentes culturas como milho (KREY et al., 2013) banana (QUINTAS-NUNES; ROSSI; NASCIMENTO, 2022), tomate (BERGER; BALDERMANN; RUPPEL, 2017), têm sido realizados com a utilização de *Kosakonia* sp., demonstrando o potencial de promoção de incremento para as culturas em estudos.

Assim, como os resultados obtidos in vitro, a aclimatização das plantas microbiolizadas in vitro deixa claro que cada híbrido responde de maneira

diferente dependendo dos isolados e suas combinações utilizadas. Essa diferença pode estar relacionada às interações entre os microrganismos com os híbridos que podem reagir de diversas formas à microbiolização.

Estudos como o de Fracasso et al. (2020) demonstram que essas bactérias promotoras de crescimento, atuam por meio de mecanismos que promovem o desenvolvimento das plantas, entre esses, destacam-se a capacidade de fixação biológica de nitrogênio, a síntese de aminoácidos e fitormônios, além da melhoria da disponibilidade de nutrientes como o fósforo, por meio de processos de solubilização do fosfato.

Observa-se que durante a fase de aclimatização, houve um maior crescimento para ambos os híbridos até os 120 dias, mostrando que as plantas ainda continuaram respondendo de maneira positiva à microbiolização in vitro. No entanto, também foi observado uma queda no número de folhas (NF) após os 60 dias, sugerindo um período de ajuste ou estresse durante o crescimento das plantas. Essa redução no número de folhas (NF) pode ser atribuída a fatores como condições ambientais desfavoráveis ou processos naturais de desenvolvimento das plantas.

É importante destacar, que durante a aclimatização, a planta passa por estresse hídrico severo, o que pode ocasionar grandes perdas de mudas, fazendo se necessário o controle de fatores, como temperatura, luz, umidade, substrato e nutrientes (DUTRA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013). O uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal pode ser a solução, para auxiliar o crescimento e desenvolvimento da planta sob diferentes estresses bióticos ou abióticos (KUMAR et al., 2018). Esses resultados ressaltam a importância de considerar não apenas o efeito imediato da microbiolização, mas também sua influência ao longo do tempo.

Na fase de aclimatização, foi observado que o tratamento composto pelo isolado BAC25 apresentou melhores resultados para promoção de crescimento tanto do BRS Diamante, quanto do BRS Sol Bahia. O isolado BAC25 promoveu resultados satisfatórios para todas as variáveis avaliadas, principalmente para a altura da planta (AP), comprimento da folha D (CFD) e largura da folha D (LFD).

A folha D deve ser utilizada para avaliações de crescimento e desenvolvimento das plantas, pois é descrita como, sendo a mais importante

do ponto de vista para o manejo da cultura. Esta folha é considerada a mais jovem entre as folhas adultas e a mais ativa fisiologicamente entre todas. Além de ser utilizada para diagnose foliar, também pode ser usada para análise do crescimento e estado nutricional da planta (CUNHA e CABRAL, 1999; PY, 1969; REINHARDT e CUNHA, 1999). Trabalhos que avaliam a promoção do crescimento das plantas (SOUZA et al., 2019; SILVA et al., 2023) utilizam como um dos caracteres avaliados a folha D, tanto o comprimento quanto a largura.

Além do isolado BAC25, o tratamento composto pelo isolado BAC406 também proporcionou resultados positivos para variáveis altura, largura da folha D (LFD) e número de folhas (NF) para o BRS Diamante.

Esses resultados indicam que, para cada ambiente, os híbridos exibiram características distintas em resposta aos diferentes isolados. Enquanto os mixs foram mais eficazes durante a fase in vitro da microbiolização, os isolados BAC25 e BAC406 mostraram maior incremento durante a etapa de aclimatização, tanto para o BRS Diamante quanto para o BRS Sol Bahia.

Portanto, esses resultados reforçam a importância de realizar estudos específicos para cada variedade e condição de cultivo, a fim de identificar as combinações de microrganismos mais adequadas para otimizar o crescimento e o desenvolvimento dessa cultura.

CONCLUSÃO

- Na fase in vitro, os tratamentos compostos pelos três mixs duplos favoreceram os melhores resultados para BRS Sol Bahia enquanto o tratamento composto pelo mix triplo foi o mais eficiente para o BRS Diamante;
- O tratamento BAC25 promoveu maior incremento para todas as variáveis analisadas para os dois híbridos na fase de aclimatização;
- O tratamento BAC406 apresentou resposta positiva para o BRS Diamante durante fase de aclimatização.

REFERÊNCIAS

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. P.; SMITH, R. B. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar vitória durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa**,** v. 34**,** p.349-360, 2010.

BERGER, B.; BALDERMANN, S.; RUPPEL, S. A. bactéria promotora do crescimento das plantas Kosakonia radicincitans melhora o rendimento e a qualidade dos frutos de *Solanum lycopersicum J.* **Ciência. Agrícola Alimentar**, v. 97, p.4865–4871, 2017.

CHAGAS Junior, A. F.; BORBAS, E.; MARTINS, A.; SOUZA, M. C.; GOMES, F. L.; OLIVEIRA, R. S. de; CHAGAS, L. F. B. Bacillus sp. como promotor de crescimento em soja Bacillus sp. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 44, n. 2, 2021.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS Junior, A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R. Trichoderma na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**. v.4, n.3, p. 97-102, 2017.

CUNHA, G. A. P.; CABRAL, J. R. S. de. Taxonomia, Espécies, Cultivares e Morfologia. In: CUNHA, G. A. P. da; CABRAL, J. R. S; SOUZA, L. F. da S. (Org.). O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia. 1ª ed. Brasília: Embrapa. p. 17-51, 1999.

CUNHA, J. de F.; PICOLI, E. A. de T.; ALFENAS, A. C.; GONCALVES, R. C. Efeito in vitro de antibióticos e rizobactérias no controle de bactérias fitopatogênicas ao Eucalyptus spp. **R. Árvore**, Viçosa-MG, v.30, n.6, p.871-876, 2006.

DIAS, A. dos S.; SANTOS, C. C. **Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso.** Nova Xavantina, MT: Pantanal, 98p, 2022.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 58, p. 49-59, 2009.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FAO. FAOSTAT, 2022. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC . Acesso em 18 de jun. de 2023.

FRACASSO, A.; TELÒ, L.; LANFRANCO, L.; BONFANTE, P.; AMADUCCI, S. Physiological beneficial effect of Rhizophagus intraradices inoculation on tomato plant yield under water deficit conditions. **Agronomy**, v. 10, p.1-21, 2020.

GUEDES, J. A. C.; FILHO, E. de G. A.; Rodrigues, T. H. S.; Maria Francilene Souza Silva, M. F. S.; Souza, F. V. D.; Silva, L. M. A. e; Alves, R. E.; Kirley Marques Canuto,K. M.; Brito,E. S. de; Pessoa, C. do Ó; Nascimento, R. F.; Zocolo, G. J. Metabolic profile and cytotoxicity of non-polar extracts of pineapple leaves and chemometric analysis of different pineapple cultivars. **Industrial crops and products**, v. 124, p. 466–474, 2018.

GUERRA, M. P.; DAL VESCO, L. L.; PESCADOR, R.; SCHUELTER, A. R.; NODARI, R. O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília v.34, n.9, 1999.

GUERRA, P.A., de SOUZA, E.H., de ANDRADE, E.C. et al. Comparison of shoot tip culture and cryotherapy for eradication of ampeloviruses associated with Pineapple mealybug wilt in wild varieties. **In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant**, v. 56, p. 903–910, 2020.

IBGE. **Brazilian Institute of Geography and Statistics Municipal agricultural production (in Portuguese).** Disponível em: https://sidra. ibge.gov.br/Tabela/1612#resultado. Acesso em 18 de jun. de 2023.

JOCHUM, M. D.; MCWILLIAMS, K. L.; BORREGO, E. J.; KOLOMIETS, M. V.; NIU, G.; PIERSON, E. A.; JO, Y. K. Bioprospecting Plant Growth-Promoting Rhizobacteria That Mitigate Drought Stress in Grasses. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 2106, 2019.

KLEINGESINDS, C. K.; DE SANTI FERRARA, F. I.; FLOH, E. I. S.; AIDAR, M. P. M.; BARBOSA, H. R. Promoção do crescimento da cana-de-açúcar por *Kosakonia* sp. ICB117 uma bactéria endofítica e diazotrófica. **Afr. J. Microbiol. Res**, v. *12*, p. 105–114, 2018.

KOPPEN, W. Das geographische system der climate. In: KOPPEN W.; GEIGER, R, (Ed,) **Handbuch der klimatologie**, v. 1, Gebrfider Borntraeger: Berlin, Germany, 1936.

KREY, T.; BAUM, C.; RUPPEL, S.; SEYDEL, M.; EICHLER-LÖBERMANN, B. Fontes orgânicas e inorgânicas de P interagindo com bactérias da rizosfera aplicadas e seus efeitos no crescimento e fornecimento de P do milho. **Comunicações em ciência do solo e análise de plantas**, v. 22, p. 3205-3215, 2013.

KUMAR, A.; VERMA, J. P. Does plant—Microbe interaction confer stress tolerance in plants: A review**. Microbiological Research**, v. 207, p. 41-52, 2018.

MAFIA, R.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, E. M.; BINOTI, D. H. B.; MAFIA, G. M. V.; MOUNTEER, A. H. Root colonization and interaction among growth promoting rhizobacteria isolates and eucalypts species. **Revista Árvore**, v. 33, n. 1, p. 1-9, 2009.

MATHIYAZHAGAN N.; ARIVALAGAN, P..; SELVARAJ, D.; NGUYEN, T. L. C.; OMAIMA, N.; SULAIMAM, A. A.; YING, M. Influência de *Kosakonia* sp. sobre o crescimento de *Arachis hypogaea* L. em solo árido. **Agronomia***,* v.12, n. 8, p.1801, 2022.

MIRANDA, Í. S. P. B.; MIRANDA, A. F. S.; SOUZA, F. V. D.; VANNIER-SANTOS, M. A.; PIROVANI, C. P.; PEPE, I. M.; RODOWANSKI, I. J.; FERREIRA, K. T. de S. E.; SOUZA, L. M. e ASSIS, S. A. de. The biochemical characterization, stabilization studies and the antiproliferative effect of bromelain against B16F10 murine melanoma cells. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 1, p. 1-13, 2017.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum,** v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.

PY, C. **La piña tropical**. Barcelona: Blume. p. 278, 1969.

QUINTAS-NUNES, F.; ROSSI, M. J.; NASCIMENTO, F. X. Insights genômicos sobre o estilo de vida associado às plantas de Kosakonia radicincitans MUSA4, uma bactéria diazotrófica promotora do crescimento de plantas. **Microbiologia Sistemática e Aplicada**, v. 45, n. 2, p. 126303, 2022.

RANAWAT, B., BACHANI, P., SINGH, A., MISHRA, S. *Enterobacter hormaechei* como bactéria promotora do crescimento de plantas para melhoria em *Lycopersicum esculentum* . **Curr Microbiol**, v. 78, p. 1208–1217, 2021.

REINHARDT, D.H.R.C., BARTHOLOMEW, D.P., SOUZA, F.V.D., de CARVALHO, A. C.P.P., de Pádua, T.R.P., Junghans, D.T., de Matos, A.P. Advances in pineapple plant propagation. **Rev. Bras. Frutic**., v. 40, n. 6: (e-302), 2018.

REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. Métodos de propagação. In: CUNHA, G. A. P.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. F. S. (Eds.). **O abacaxizeiro**: cultivo, agroindústria e economia. Brasília: Embrapa-SPI, p. 105-138, 1999.

ROOSTIKA, I.; KHUMAIDA, N.; ARDIE, S.W. RAPD Analysis to Detect Somaclonal Variation of Pineapple In Vitro Cultures during Micropropagation. **BIOTROPIA,** v. 22, n. 2, p. 109 – 119, 2015.

SANTI FERRARA, F. I.; OLIVEIRA, Z. M.; GONZALES, H. H. S.; FLOH, E. I. S.; BARBOSA, H. R. Endophytic and rhizospheric enterobacteria isolated from sugar cane have different potentials for producing plant growth-promoting substances. **Plant and Soil**, v. 353, p. 409–417, 2012.

SCHERER, R.F.; FRAGA, H. P. de F.; KLABUNDE, G. F**.;** SILVA, D. A. da; GUERRA, M. P. Global DNA Methylation Levels During the Development of Nodule Cluster Cultures and Assessment of Genetic Fidelity of In Vitro-Regenerated Pineapple Plants (Ananas comosus var. comosus). **J Plant Growth Regul**, v. 34, p. 677–683, 2015.

SENA NETO, A. R., ARAUJO, M. A. M., BARBOZA, R. M. P., FONSECA, A. S., TONOLI, G.H. D., SOUZA, F. V. D., MATTOSO, L. H. C., MARCONCINI, J. M. Comparative study of 12 pineapple leaf fiber varieties for use as mechanical reinforcement in polymer composites. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 68-78, 2015.

SILVA, J. R. da, NETTO, A. T.; de MEDEIROS, B. P.; de DEUS, B. C. Da S.; SILVA, M. V. S.; FERRAZ, T. M.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVARES, F. L. Bactérias diazotróficas endofíticas atenuam os efeitos da privação hídrica em explantes de abacaxi durante a aclimatação. **Teoria. Exp. Fisiol Vegetal**. v. 32, p. 63–77, 2020. Disponível: https://doi.org/10.1007/s40626-020-00168-9. Acesso em: 20 de março de 2024.

SILVA, P. O. S. da.; SOUZA, C. P. F.; FERREIRA, C. F.; SOUZA, F. V. D.; OLIVEIRA, S. A. S. de. Functional microbiome of *Ananas* spp. as growth-promoting agent in pineapple BRS Imperial. **Scientia Horticulturae**, v. 321, p. 112271, 2023.

SILVA, P. O. S. da. **Uso de bactérias benéficas provenientes do microbioma associado à *Ananas comosus* L. Merril visando promoção de crescimento de plantas e supressão de *Fusarium* spp.** Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2022.

SONEJI, J.R.; RAO, P.S.; MATRE, M. Somaclonal variation in micropropagated dormant axillary buds of pineapple (*Ananas comosus* L., Merr.). J. Hortic. **Sci. Biotechnol**, v. 77, p. 28–32, 2002.

SOUZA, C. P. F. **Estudo do microbioma associado ao gênero *Ananas*.** 2021. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2021.

SOUZA, C. R. S.; BARBOSA, A. C. O.; FERREIRA, C. F.; SOUZA, F. V. D.; ROCHA, L. S.; SOUZA, E. H. de; OLIVEIRA, S. A. S. de. Diversity of microorganisms associated to Ananas spp. from natural environment, cultivated and ex situ conservation areas. **Scientia Horticulturae**, v. 243, p. 544-551, 2019.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHANS, T. G.; SILVA, M. J. **Micropropagação do abacaxizeiro e outras bromeliáceas.** In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. Aspectos práticos da micropropagação de plantas. 2ed., Brasília, v. 1, p. 345-372, 2013.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; COSTA JUNIOR, D. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic variation of the Ananas genus with ornamental potential. Genetic Resources and Crop **Evolution, Netherlands,** v. 59, p. 1357-1476, 2012.

SOUZA, S. A. de. **Diversidade de bactérias endofíticas em bananeira 'Prata-anã'**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros), pg. 1-116, 2011.

SOUZA, F. V. D.; CANTO, A. M. M. E.; SOUZA, A. da S.; COSTA, M. A. P. de C. Residual effect of growth regulators in etiolation and regeneration of in vitro pineapple plants. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 612-617, 2010.

CAPÍTULO 2

POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VIVO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO ‘BRS DIAMANTE' E ‘BRS SOL BAHIA’

POTENCIAL DA MICROBIOLIZAÇÃO IN VIVO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO ‘BRS DIAMANTE' E ‘BRS SOL BAHIA’

RESUMO: O abacaxi é uma das frutas tropicais mais apreciadas no mundo e o Brasil se destaca como um dos maiores produtores. No entanto, a cultura do abacaxi enfrenta desafios na produção de mudas sadias em larga escala, uma etapa fundamental para a introdução de novos híbridos. Sendo assim, a micropropagação é uma técnica que pode ser utilizada para acelerar a produção de mudas sadias e atender a essa demanda, mas o tempo de aclimatização dessas mudas é lento e oneroso, o que as torna menos atrativas para os produtores. Assim, a microbiolização, que envolve o uso de microrganismos benéficos, pode ser uma opção para melhorar a eficiência da micropropagação e reduzir o longo tempo de aclimatização, tornando o processo mais viável economicamente. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de promoção de crescimento de microrganismos benéficos associados ao gênero *Ananas* spp. no desenvolvimento de mudas dos híbridos de abacaxizeiro ‘BRS Diamante’ e ‘BRS Sol Bahia’ por meio da microbiolização in vivo. Por tanto, plantas dos híbridos ‘BRS Diamante’ e ‘BRS Sol Bahia’, oriundas de micropropagação in vitro foram aclimatizadas em casa de vegetação e microbiolizadas aos 15 dias de adaptação. Para a microbiolização das plantas, foram utilizados três isolados de bactérias (BAC25, BAC222 e BAC406) e quatro combinações entre elas, onde foi utilizado 10mL de cada inóculo com concentração bacteriana de 10^8 UFC mL^{-1} em seus devidos tratamentos. Os efeitos da microbiolização foram avaliados a cada 30 dias, durante um período de 120 dias, considerando as variáveis: altura da planta (AP) (cm), comprimento e largura da folha D (CFD, LFD) (cm), diâmetro da copa (DC) (cm) e número de folhas (NF). Após 120 dias as plantas foram conduzidas para os canteiros, onde foram realizadas avaliações periódicas (30, 60, 90 e 120 dias), considerando os parâmetros de crescimento citados anteriormente. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os resultados indicaram que BAC222 e o mix duplo BAC25 + BAC406 promoveram os melhores resultados na fase de casa de vegetação para BRS Diamante. Por outro lado, nenhum tratamento se destacou em relação ao controle para o BRS Sol Bahia nessa fase. No entanto, durante a fase de canteiro, esses mesmos tratamentos promoveram um maior crescimento tanto para o BRS Diamante quanto para o BRS Sol Bahia.

Palavras-chave: Abacaxi; Aclimatização; Microbiolização; Bactérias benéficas

POTENTIAL OF IN VIVO MICROBIOLIZATION IN PROMOTING THE GROWTH OF PINEAPPLE HYBRIDS 'BRS DIAMANTE' AND 'BRS SOL BAHIA

ABSTRACT: Pineapple is one of the most popular tropical fruits in the world and Brazil stands out as one of the largest producers. However, pineapple cultivation faces challenges in producing healthy seedlings on a large scale, a fundamental step for the introduction of new hybrids. Therefore, micropropagation is a technique that can be used to accelerate the production of healthy seedlings and meet this demand, but the acclimatization time for these seedlings is slow and costly, which makes them less attractive to producers. Thus, microbiolization, which involves the use of beneficial microorganisms, can be an option to improve the efficiency of micropropagation and reduce the long acclimatization time, making the process more economically viable. Therefore, this work aimed to evaluate the potential for promoting the growth of beneficial microorganisms associated with the genus *Ananas* spp. in the development of seedlings of pineapple hybrids 'BRS Diamante' and 'BRS Sol Bahia' through in vivo microbiolization. Therefore, plants of the hybrids 'BRS Diamante' and 'BRS Sol Bahia', derived from in vitro micropropagation, were acclimatized in a greenhouse and microbiolized after 15 days adaptation. For the microbiolization of plants, three bacterial isolates were used (BAC25, BAC222 and BAC406) and four combinations between them, where 10mL of each inoculum was used with a bacterial concentration of 108 UFC mL-1 in their respective treatments. The effects of microbiolization were evaluated every 30 days, over a period of 120 days, considering the variables: plant height (AP) (cm), length and width of leaf D (CFD, LFD) (cm), crown diameter (DC) (cm) and number of leaves (NF). After 120 days, the plants were taken to the beds, where periodic evaluations were carried out (30, 60, 90 and 120 days), considering the growth parameters mentioned above. The data were subjected to analysis of variance and the means were grouped using the Scott-Knott test at 5% probability. The results indicated that BAC222 and the double mix BAC25 + BAC406 promoted the best results in the greenhouse phase for BRS Diamante. On the other hand, no treatment stood out in relation to the control for BRS Sol Bahia at this stage. However, during the seedbed phase, these same treatments promoted greater growth for both BRS Diamante and BRS Sol Bahia.

Keywords: Pineapple; Acclimatization; Microbiolization; Beneficial bacteria

INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merril) é a quinta fruta tropical mais cultivada no mundo e o Brasil está entre os maiores produtores, ficando atrás apenas da Costa Rica e Filipinas (FAO, 2021).. Os estados do Pará, Paraíba e Minas Gerais destacam-se como os principais produtores, contribuindo com 50,2% da produção nacional (IBGE,2022).

O abacaxizeiro assume uma posição de grande importância econômica dentro da família Bromeliaceae, que abriga inúmeras variedades hortícolas e outras espécies utilizadas para a produção de fibras ou propósitos ornamentais. Uma das barreiras enfrentadas na cultura do abacaxi é a produção em larga escala de mudas sadias, um requisito essencial para expandir o cultivo e introduzir novos híbridos, especialmente considerando o elevado número de plantas por hectare (ALMEIDA, 2021).

Uma técnica que pode ser utilizada para aperfeiçoar a produção de mudas sadias é a micropropagação, que permite a obtenção de uma grande quantidade de mudas clonais com estabilidade genética em qualquer período do ano, uma vez que o processo ocorre em laboratório sob condições controladas, possibilitando a formação de indivíduos geneticamente idênticos a partir do cultivo in vitro de células (JUNGHANS e SOUZA, 2009; SOUZA et al., 2013). O uso da muda micropropagada pode ser a alternativa mais recomendada, por todas as vantagens que são intrínsecas a esse tipo de propágulo: mudas padronizadas e livres de doenças.

Entretanto, o tempo de aclimatização dessas mudas é muito lento, tornando o processo oneroso, gerando uma muda de valor elevado e, portanto, rejeitada pelos produtores (REINHARDT et al., 2018). O processo de microbiolização, que consiste na inoculação de microrganismos benéficos, pode ser uma alternativa para melhorar a eficiência da micropropagação e reduzir o longo tempo de aclimatização das plantas, tornando o processo mais viável economicamente (SOUZA et al., 2019; SILVA et al., 2023).

Neste contexto, esse trabalho tem como objetivo avaliar o potencial de promoção de crescimento de microrganismos benéficos associados ao gênero *Ananas* spp. no desenvolvimento de mudas dos híbridos de abacaxizeiro ‘BRS Diamante’ e ‘BRS Sol Bahia’ por meio da microbiolização in vivo.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em condições de casa de vegetação e canteiros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada em Cruz das Almas, Bahia (12° 40 19 S e 39° 06 22 W) a 220 m acima do nível do mar. Segundo a classificação de Köppen (1936), o clima é tropical quente e úmido (Aw a Am), com temperatura média anual de 24,5°C, umidade relativa de 80% e precipitação média de 1.249,7 mm anuais.

Material vegetal

Foram utilizadas plantas de dois híbridos desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento de Abacaxizeiro da Embrapa Mandioca e Fruticultura: 'BRS Diamante' e 'BRS Sol Bahia', que se destacaram em diferentes ensaios de competição em regiões distintas do Brasil, por apresentarem frutos de tamanho similar ao da cultivar tradicional 'Pérola', porém com elevado teor de açúcares e resistentes à fusariose.

O híbrido 'BRS Diamante' se caracteriza por ser uma planta de porte médio, com folhas mais estreitas que o 'Pérola', porém com alguns espinhos. O híbrido 'BRS Sol Bahia' se caracteriza por ser uma planta de porte alto, com crescimento vegetativo excelente, produção de folhas mais eretas, com espinhos apenas nos bordos do ápice das folhas. Os dois híbridos utilizados contribuem para a diversificação de cultivares no Brasil, atualmente dominado pela variedade Pérola.

Obtenção das mudas micropropagadas para microbiolização em casa de vegetação

Como explante inicial para a multiplicação in vitro, foram utilizadas 40 plantas matrizes livres de vírus, já estabelecidas in vitro, dos híbridos 'BRS Diamante' e 'BRS Sol Bahia'. As plantas in vitro foram subcultivadas para meio de multiplicação cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementados com 30 g L^{-1} de sacarose, 0,5 mg L^{-1} de BAP, 0,2 mg L^{-1} de ANA e solidificado com 2,4 g L^{-1} de Phytagel, distribuídos em frascos de vidro e autoclavados a uma temperatura de 120 ºC, durante 20 minutos.

Foram realizados quatro subcultivos em intervalos de 45 dias para se chegar ao número adequado de plantas para a realização do estudo que é de 400 plantas por híbrido, totalizando 800 plantas. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 27 ºC, sob fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 30 µE m^{-2} s^{-1}.

Após o 4° subcultivo, os brotos foram transferidos para meio de enraizamento, MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L^{-1} de sacarose, 2,4 g L^{-1} de Phytagel, sem qualquer regulador de crescimento. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento por um período de 45 dias.

Obtenção dos isolados bacterianos

Foram utilizados três isolados bacterianos (BAC25, BAC406 e BAC222) e quatro combinações entre eles (MIX1, MIX2, MIX3 e MIX4), conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos isolados que foram utilizados no trabalho. Cruz das Almas, Bahia, 2024.

	Isolado/MIX	Nicho de ocupação	Identificação ao nível de gênero (BLAST-NCBI)
1	BAC25	Bactérias endofíticas [1]	*Enterobacter hormaechei subsp. steigerwaltii*
2	BAC406	Bactérias endofíticas	*Enterobacter hormaechei subsp. ohara*
3	BAC222	Bactérias de solo[2]	*Kosakonia cowanii*
4	MIX1 (BAC25 e BAC406)	-	-
5	MIX2 (BAC25 e BAC222)	-	-
6	MIX3 (BAC406 e BAC222)	-	-
7	MIX4 (BAC25 e BAC406 e BAC222)	-	-
-	*CONTROLE	-	-

[1]Bactérias isoladas a partir de fragmentos do caule de plantas coletadas em áreas de cultivo de *Ananas comosus*. [2]Bactérias isoladas a partir de solo rizosférico de plantas

coletadas em áreas de cultivo de *Ananas comosus*. *Plantas não tratadas com microrganismos.

Esses isolados fazem parte da coleção biológica de microrganismos associados ao gênero *Ananas* spp. do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, onde são mantidos em meio de preservação (meio nutriente líquido + 15% de glicerol). Portanto, os isolados bacterianos passaram pelo processo de reativação e multiplicação, por meio da transferência de 100 µL de suspensão de cada isolado, para o meio nutriente líquido (2,5 g de peptona, 0,75 g de extrato de carne, 2,5 g cloreto de sódio, 0,75 g extrato de levedura e água destilada), e logo após, transferidos para mesa de agitação por 24 horas.

Após o período de incubação, os isolados foram reunidos em diferentes recipientes e tiveram suas absorbâncias definidas e ajustadas para 0,1 (ʎ=550 nm) que corresponde a 10^8 UFC mL^{-1} (CUNHA et al., 2006; SOUZA, 2011).

Microbiolização in vivo (casa de vegetação)

As plantas obtidas por micropropagação foram aclimatizadas de acordo com Souza et al. (2013) e colocadas em copos plásticos de 300 mL contendo substrato comercial autoclavado, duas vezes, por 30 minutos a 120 °C. As plantas foram deixadas por 15 dias para sua adaptação ao ambiente externo (ex vitro).

Após este período de adaptação à casa de vegetação, os isolados foram reativados e as mudas foram microbiolizadas via solo com auxílio de uma pipeta, adicionando 10 mL de cada inóculo com concentração bacteriana de 10^8 UFC mL^{-1} em seus devidos tratamentos (Figura 1).



Figura 1. Processo de microbiolização em casa de vegetação. **A –** Plantas micropropagadas. **B e C –** Aclimatização das plantas (lavagem para remoção do meio de cultura e excesso de raízes). **D –** Plantas aclimatizadas em casa de vegetação para posterior microbiolização. **E** e **F** – Inoculação das bactérias. **G –** Mudas inoculadas (Foto: Autoria própria).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, constituído por 7 tratamentos (Tabela 1) e o controle, composto por plantas não tratadas, com 50 repetições, onde cada repetição é uma planta. Cada híbrido foi avaliado em experimentos independentes.

Os efeitos da microbiolização foram avaliados 30 dias após o procedimento, considerando as seguintes variáveis: número de folhas (NF), altura da planta (AP) (cm), comprimento da folha D (CFD) (cm), largura da folha D (LFD) (cm) e diâmetro da copa (DC) (cm). Após a primeira avaliação aos 30 dias, as plantas foram avaliadas a cada 15 dias, durante um período de 120 dias.

Avaliação em canteiro das mudas microbiolizadas

Após o período de 120 dias, 240 mudas de cada híbrido, totalizando 480 plantas, foram transplantadas para o canteiro (Figura 2).



Figura 2. Sequência metodológica da transferência das mudas dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia para o canteiro. **A e B** – Preparo e marcação do canteiro; **C** – Plantio das mudas nos canteiros; **D** – Canteiros estabelecidos; **E e F** – Plantas dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia após 90 dias da transferência para o canteiro (Fotos: Autoria própria).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 7 tratamentos e o controle com 30 repetições por tratamento, sendo que uma repetição se constitui em uma planta. Os efeitos da microbiolização foram avaliados aos 30, 60, 90 e 120 dias, considerado as seguintes variáveis: número de folhas (NF), altura da planta (AP) (cm), comprimento da folha D (CFD) (cm), largura da folha D (LFD) (cm) e diâmetro da copa (DC) (cm).

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e como não apresentaram uma distribuição normal, foram transformados em arc.sen. $\sqrt{(x/100)}$.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises foram efetuadas com o auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS

Microbiolização in vivo (casa de vegetação)

Os resultados oriundos do cultivo de plantas microbiolizadas em casa de vegetação, demonstram diferenças significativas entre os tratamentos aplicados, especialmente considerando as variáveis no período de 120 dias.

Em uma comparação entre os dois híbridos no tratamento controle (CTRL), ou seja, plantas não microbiolizadas, o resultado deixa evidente que, para todas as variáveis com exceção do número de folhas (NF), o BRS Sol Bahia apresenta os valores mais elevados (Tabela 2).

O BRS Diamante se destaca, na variável número de folhas (NF) em todos os tratamentos, com exceção do tratamento com o mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222), no qual ambos os híbridos não apresentaram diferença significativa para essa variável. Na comparação entre os isolados e suas combinações, em resposta aos híbridos, os melhores resultados para o número de folhas (NF) no BRS Diamante foram obtidos com a utilização do isolado BAC222 e os dois mix duplos (BAC25 + BAC406 e BAC25 + BAC222), enquanto para o BRS SolBahia, BAC222 e o mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222), incluindo o controle (CTRL), resultaram em plantas com maior número de folhas (Tabela 2).

Os resultados referentes à altura de plantas (AP), mostram que o mix duplo BAC25 + BAC406 foi o tratamento que promoveu o maior aumento na altura das plantas do BRS Diamante, enquanto para o Sol Bahia as plantas mais altas foram registradas no controle (CTRL). Comparando os híbridos entre eles, quanto a resposta aos tratamentos, ambos apresentaram desempenho igual com o BAC222, mas diferentes comportamentos nos outros tratamentos. BRS Diamante tem melhor resposta para esta variável, em relação ao Sol Bahia, quando tratado com os três mixes duplos (BAC25 + BAC406, BAC25 + BAC222 e BAC406 + BAC222), e o BRS Sol Bahia responde melhor nos outros

tratamentos, destacando, no entanto, que não diferem significativamente do controle (Tabela 2).

Em relação ao comprimento e largura da folha D (CFD, LFD), nenhum tratamento foi efetivo para o BRS Sol Bahia que apresenta os maiores valores para esta variável no controle (CTRL). Para o BRS Diamante, BAC 222 e o mix duplo (BAC25 + BAC222) promoveram um aumento significativo dos valores desta variável. Na comparação entre os híbridos dentro dos tratamentos, o BRS Diamante teve valores superiores nos tratamentos BAC222 e nos três mixes duplos (BAC25 + BAC406, BAC25 + BAC222, BAC406 + BAC222), ainda que para a largura da folha D (LFD), BAC25, BAC406 e o mix triplo foram melhores para o BRS Sol Bahia (Tabela 2).

Para o diâmetro da copa (DC) do BRS Diamante, BAC222 e o mix duplo, BAC25 + BAC406 promoveram os melhores resultados e superiores ao controle, enquanto para o BRS Sol Bahia nenhum dos tratamentos foi melhor do que o controle (CTRL). Na comparação entre os híbridos dentro dos tratamentos, o BRS Diamante superou o BRS SolBahia em médias quando submetido ao isolado BAC222 e os três mixs duplos (BAC25 + BAC406, BAC25 + BAC222 e BAC406 + BAC222) (Tabela 2, Figura 3).

Tabela 2. Valores médios dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia aos 120 dias, após diferentes tratamentos com isolados bacterianos e suas combinações, em casa de vegetação.

Tratamentos	**Altura (cm)**		**Comprimento da Folha D (cm)**		**Largura Folha D (cm)**		**Diâmetro da Copa (cm)**		**Nº de Folhas**	
	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB
Controle	7,10 bB	8,84 aA	8,07 bB	9,57 aA	1,99 bB	2,23 aA	14,99 bB	16,41 aA	12,30 aB	11,38 bA
BAC25	5,91 bD	7,12 aC	7,45 bC	7,96 aC	1,84 bC	1,97 aC	13,39 aD	13,94 aC	11,62 aC	10,92 bB
BAC406	5,90 bD	6,54 aD	6,82 aD	7,17 aB	1,66 bD	1,82 aD	12,51 aE	12,75 aD	11,48 aC	11,02 bB
BAC222	7,12 aB	7,28 aC	8,76 aA	7,87 bC	2,08 aA	1,91 bC	16,05 aA	13,94 bC	13,31 aA	11,48 bA
BAC25 + BAC406	7,71 aA	6,40 bD	9,04 aA	7,07 bD	2,11 aA	1,77 bD	16,71 aA	12,55 bD	13,42 aA	10,21 bC
BAC25 + BAC222	6,89 aB	5,78 bE	8,20 aB	6,28 bE	2,00 aB	1,60 bE	15,46 aB	11,40 bE	13,12 aA	9,89 bC
BAC406 + BAC222	6,34 aC	5,19 bF	7,56 aC	5,80 bF	1,85 aC	1,57 bE	14,17 aC	10,65 bF	12,13 aB	9,82 bC
BAC25 + BAC406 + BAC222	6,36 bC	7,83 aB	7,55 bC	8,36 aB	1,90 bC	2,08 aB	14,41 aC	15,03 aB	11,92 aB	11,55 aA
QM	79,69	264,04	103,66	283,06	4,17	10,23	365,14	705,28	114,72	100,38
F value	23,316*	77,251*	25,580*	69,848*	25,292*	61,978*	29,806*	57,572*	29,891*	26,153*
CV (%)	14,54		14,16		11,45		13,80		8,94	
Média	6,68 b	6,88 a	7,95 a	7,52 b	1,93 a	1,87 b	14,75 a	13,34 b	12,43 a	10,78 b

* Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra minúsculas nas linhas (comparação entre os híbridos); médias seguidas da mesma letra maiúsculas nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

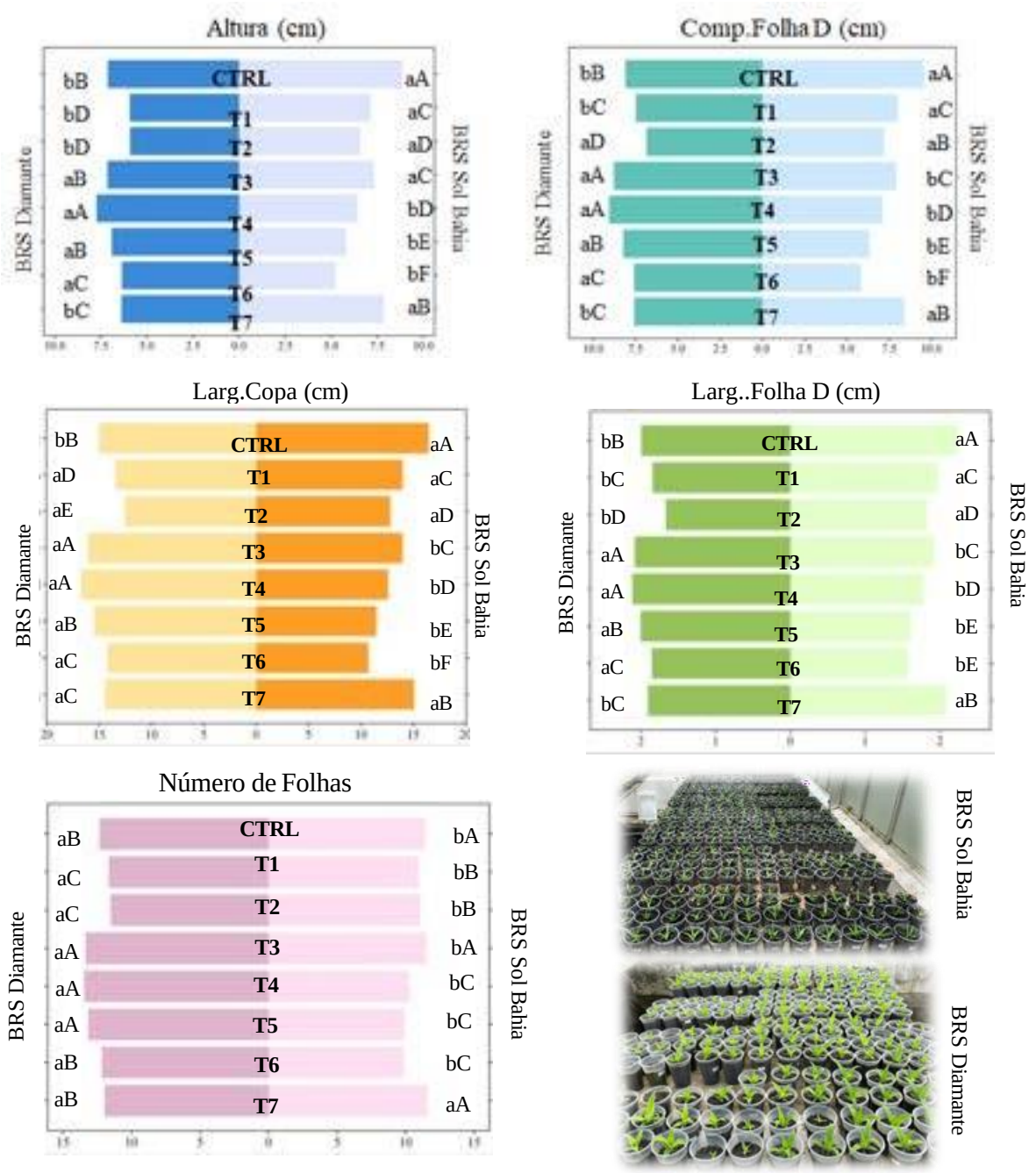


Figura 3. Médias dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia aos 120 dias, após diferentes tratamentos com isolados bacterianos e suas combinações, em casa de vegetação. T01 (BAC25), T02 (BAC406), T03 (BAC222), T04 (BAC25 + BAC406), T05 (BAC25 + BAC222), T06 (BAC406 + BAC222) e T07 (BAC25 + BAC406 + BAC222).

As avaliações realizadas ao longo do tempo até os 120 dias após microbiolização em casa de vegetação (Figura 4), mostram que o BRS Diamante responde de forma mais efetiva ao processo de microbiolização, independente do isolado. Para quase todas as variáveis avaliadas, o desempenho foi superior quando comparado ao Sol Bahia, com exceção da

altura da planta (AP), que o BRS Sol Bahia apresenta plantas mais altas, apesar das plantas manterem a mesma altura aos 120 dias.

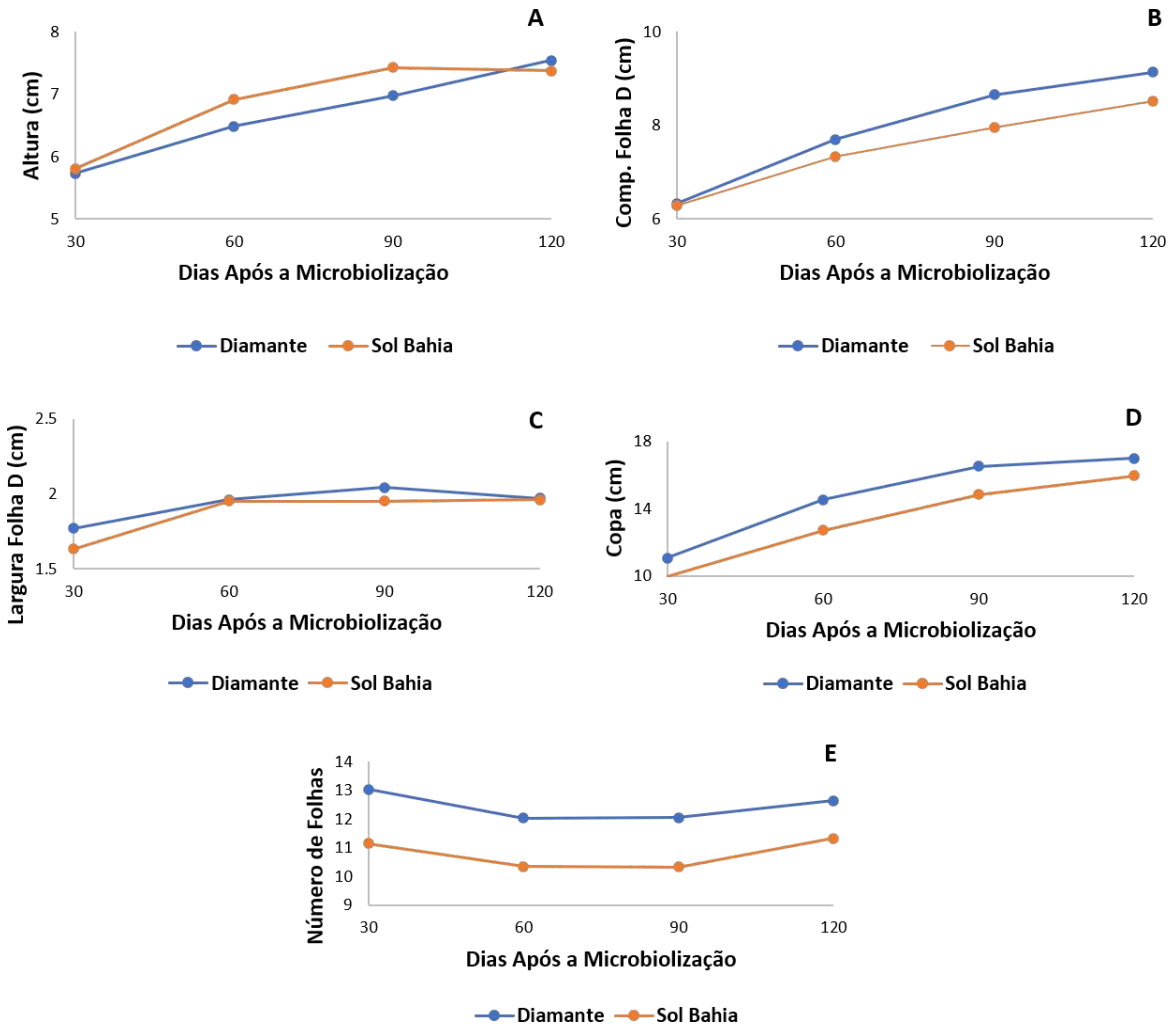


Figura 4. Gráficos representativos dos valores médios das variáveis (A – E) ao longo de quatro avaliações (30, 60, 90 e 120 dias) para os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia, após microbiolização em casa de vegetação.

Avaliação em canteiro das mudas microbiolizadas

Comparando-se os híbridos dentro de cada tratamento, registra-se que para a altura da planta (AP) os híbridos respondem igualmente quando tratados com os dois mixs duplos (BAC25 + BAC222 e BAC406 + BAC222) e o mix triplo, mas o BRS Sol Bahia apresenta médias superiores nos demais tratamentos. Comportamento similar foi observado com o comprimento da folha D (CFD), com exceção dos controles, BAC222 e do BAC406 + BAC222.

Para a variável largura da folha D (LFD), observou-se que o híbrido BRS Diamante apresentou médias superiores às do BRS Sol Bahia quando tratado com o mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222), incluído o controle (CTRL). No entanto, o BRS Sol Bahia demostrou resultados superiores quando tratado com o isolado BAC406 e o mix BAC25 + BAC406.

No entanto, para o diâmetro da copa (DC) o BRS Diamante apresentou maiores médias quando tratado com BAC222 e os três mixs duplos (BAC25 + BAC406, BAC25 + BAC222 e BAC406 + BAC222), enquanto que o híbrido BRS Sol Bahia obteve melhores resultados com os isolados BAC25 e BAC406. Para a variável número de folhas (NF), o BRS Diamante apresentou as melhores médias para todos os tratamentos, incluindo o controle (CTRL), quando comparado ao BRS Sol Bahia, com exceção do isolado BAC406 que não apresentou diferença significativa para ambos os híbridos (Tabela 3).

Quanto aos isolados e suas combinações (Tabela 3), os melhores resultados para a altura das plantas (AP), tanto para o BRS Diamante quanto para o BRS Sol Bahia, foram alcançados com a utilização do isolado BAC222 e o mix BAC25 + BAC406, os quais não diferiram significativamente entre si.

Para as variáveis comprimento da folha D (CFD) e diâmetro da copa (DC), não houve diferença significativa entre o isolado BAC222 e o mix BAC25 + BAC406, que promoveram os melhores resultados para os dois híbridos, além do controle (CRT) para o BRS Sol Bahia.

O tratamento BAC222, promoveu melhores resultados para a largura da folha D (LFD), tanto para o BRS Diamante quanto BRS Sol Bahia, além do mix BAC25 + BAC406, para o híbrido BRS Sol Bahia.

Quanto ao número de folhas (NF), o mix BAC25 + BAC406 promoveu os melhores resultados para o BRS Diamante, enquanto para o BRS Sol Bahia, além deste mesmo isolado, o BAC222 foi também efetivo (Tabela 3, Figura 5).

Tabela 3. Valores médios dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia aos 120 dias, após diferentes tratamentos com isolados bacterianos e suas combinações, sob condições de canteiro.

Tratamentos	**Altura (cm)**		**Comprimento da Folha D (cm)**		**Largura Folha D (cm)**		**Diâmetro da Copa (cm)**		**Nº de Folhas**	
	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB
Controle	12,67 bB	14,06 aA	15,59 aB	15,65 aA	2,55 aB	2,31 bC	28,17 aB	27,83 aA	18,08 aC	16,02 bB
BAC25	10,24 bC	13,19 aB	12,79 bD	14,61 aB	2,31 aC	2,39 aC	24,00 bD	26,60 aB	16,65 aD	15,72 bB
BAC406	10,32 bC	12,74 aB	13,33 bC	14,78 aB	2,40 bC	2,64 aB	23,84 bD	25,67 aB	16,02 aE	16,04 aB
BAC222	13,30 bA	14,58 aA	16,67 aA	16,16 aA	2,77 aA	2,86 aA	30,25 aA	28,87 bA	18,97 aB	17,23 bA
BAC25 + BAC406	13,36 bA	14,55 aA	16,27 aA	15,52 bA	2,61 bB	2,79 aA	30,30 aA	27,52 bA	19,96 aA	16,73 bA
BAC25 + BAC222	12,11 aB	12,67 aB	14,18 aC	13,58 aC	2,45 aC	2,52 aB	25,80 aC	24,18 bC	19,30 aB	15,64 bB
BAC406 + BAC222	12,00 aB	11,57 aC	13,59 aC	11,87 bD	2,43 aC	2,36 aC	25,11 aC	21,59 bD	18,00 aC	14,44 bC
BAC25 + BAC406 + BAC222	12,31 aB	12,85 aB	12,75 aD	12,59 aD	2,36 aC	1,94 bD	23,90 aD	23,55 aC	17,28 aD	16,02 bB
QM	171,61	130,66	295,64	278,78	2,67	10,35	921,20	720,71	218,19	78,83
F value	18,33*	13,956*	31,850*	30,033*	10,646*	41,20*	34,035*	26,628	26,283*	9,496*
CV (%)	23,12		20,22		19,25		19,16		16,70	
Média	12,04 b	13,27 a	14,40 a	14,35 a	2,48 a	2,47 a	26,42 a	25,73 b	18,03 a	15,98 b

* Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra minúsculas nas linhas (comparação entre os híbridos); médias seguidas da mesma letra maiúsculas nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

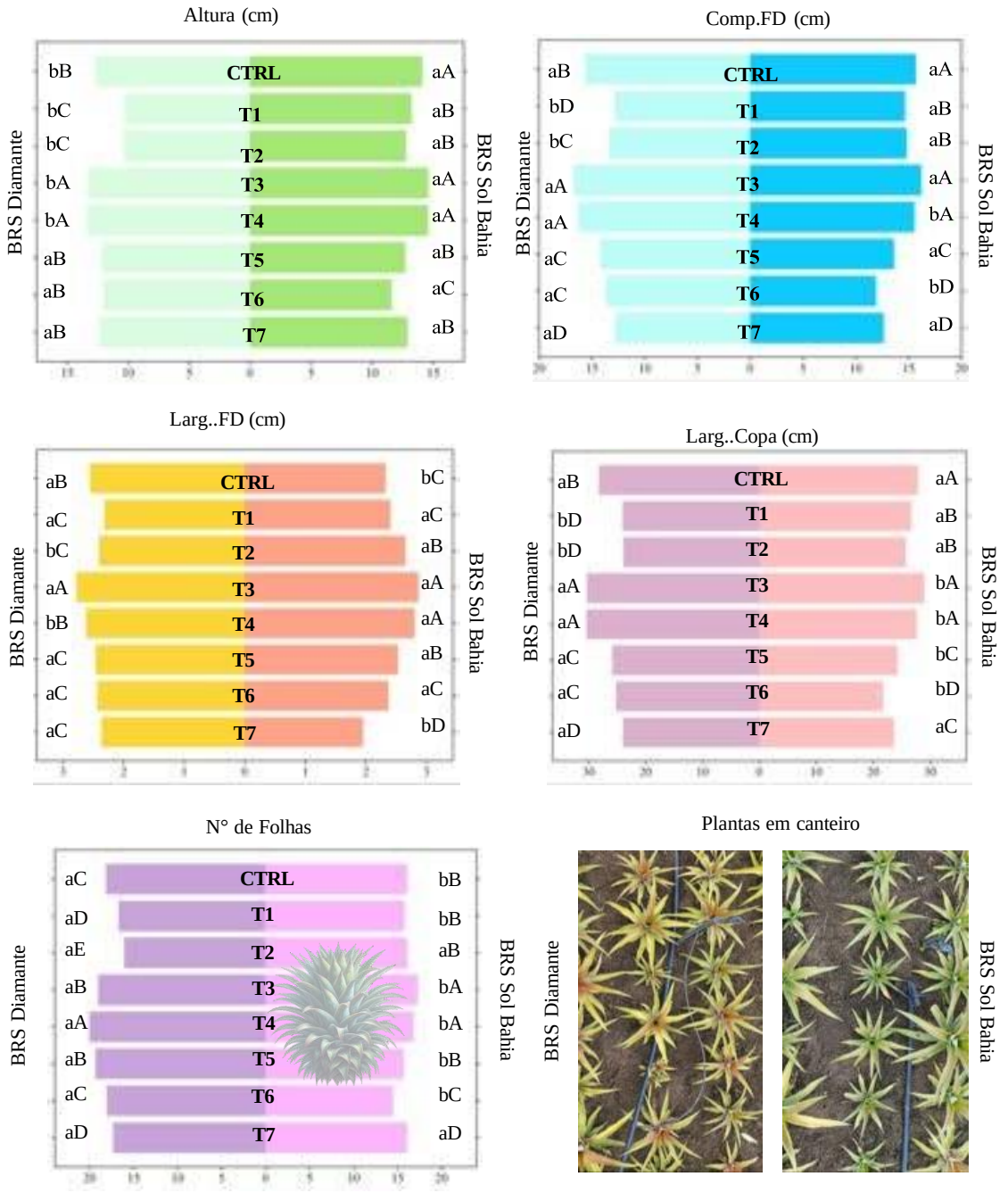


Figura 5. Médias dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia aos 120 dias, após diferentes tratamentos com isolados bacterianos e suas combinações, sob condições de canteiro. T01 (BAC25), T02 (BAC406), T03 (BAC222), T04 (BAC25 + BAC406), T05 (BAC25 + BAC222), T06 (BAC406 + BAC222) e T07 (BAC25 + BAC406 + BAC222).

As avaliações realizadas ao longo do tempo até os 120 dias após a transferência das mudas microbiolizadas da casa de vegetação para o canteiro, confirmam um significativo incremento no crescimento das plantas tanto para o BRS Diamante quanto do BRS Sol Bahia, como ilustrado na figura 6.

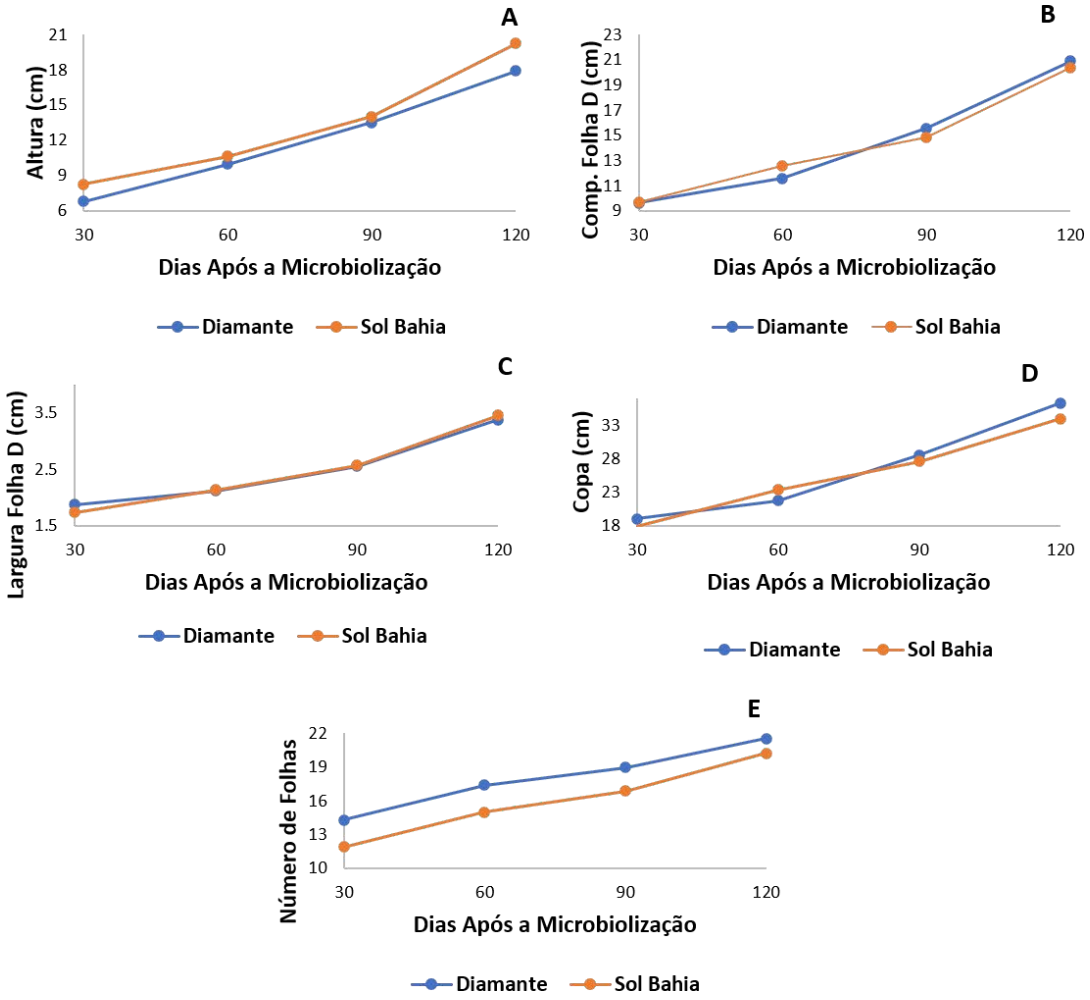


Figura 6. Gráficos representativos dos valores médios das variáveis (A – E) ao longo de quatro avaliações (30, 60, 90 e 120 dias) para os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia, sob condições de canteiro.

DISCUSSÃO

Um dos maiores gargalos na produção de abacaxi é a falta de mudas de boa qualidade e em quantidades que possam atender ao produtor, já que o cultivo de abacaxi tem uma elevada demanda de plantas, de 30.000 a 40.000 por hectare. A muda micropropagada é uma alternativa, mas que ainda encontra barreiras, principalmente de adoção, por parte do produtor que não quer investir neste tipo de muda.

O lançamento de novos híbridos é importante para garantir a sustentabilidade do cultivo, pela diversificação da oferta de novos materiais resistentes às principais pragas e doenças. É também uma ação importante para evitar erosão genética.

Os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia são novas alternativas para a cadeia produtiva do abacaxizeiro e foram desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Abacaxi da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Se encontram, atualmente, em fase de lançamento para o mercado, demandando, dessa forma, um elevado número de mudas e, por isso, a importância de estudos com a muda micropropagada.

As variáveis utilizadas neste trabalho são aquelas que representam o crescimento em plantas de abacaxizeiro (SOUZA et al., 2012; SILVA et al., 2021) e permitem quantificar as diferenças entre os tratamentos, assim como avaliar o potencial dos isolados para promover o crescimento do BRS Diamante e BRS Sol Bahia. É importante enfatizar que a folha 'D' do abacaxizeiro, caracteriza-se por ser a mais antiga folha entre as recém-formadas e pode fornecer informações em relação ao estado nutricional da planta por ser a folha mais fisiologicamente ativa (REINHARDT e CUNHA, 1999).

No presente estudo, foi observado que os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia responderam de maneira diferenciada aos tratamentos de microbiolização em casa de vegetação. Isso fica bem evidente quando o BRS Diamante mostra valores superiores ao controle (CTRL) para todas as variáveis com um destaque para BAC222 e o mix duplo BAC25 + BAC406, enquanto para o BRS Sol Bahia, nenhum dos isolados promoveram um aumento das médias das variáveis, com exceção do número de folhas (NF), mas que mesmo assim, não superaram o controle (CTRL).

Esses resultados obtidos com as plantas microbiolizadas em casa de vegetação sugerem uma especificidade dos isolados com o material genético. Embora os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia compartilhem os mesmos parentais, suas respostas aos tratamentos foram distintas. Microrganismos e plantas podem interagir de maneiras diferentes e suas respostas e modos de ação estão intimamente ligados ao seu ambiente. Dependendo do ambiente, diferentes sinais de disparo podem ser induzidos nas plantas, o que pode variar desde a promoção do crescimento das plantas até ajudar na absorção e solubilização de nutrientes (OLIVEIRA et al., 2021) proporcionando melhor desenvolvimento das plantas. Neste estudo, entretanto ambos os híbridos

estavam sob as mesmas condições, tanto em casa de vegetação, como em canteiro, reforçando a genótipo dependência.

Silva et al. (2023), realizaram um estudo com o BRS Imperial testando 18 isolados, dentre eles BAC25, BAC222 e BAC406 que foram selecionados, assim como um mix entre os três, para validar o processo de microbiolização in vitro e in vivo, em casa de vegetação. BAC406 foi o mais promissor na promoção de crescimento de mudas de abacaxizeiro in vitro, enquanto BAC222 foi o melhor tratamento para o cultivo in vivo, deixando evidente que as respostas podem ser diferentes também, a depender da etapa do cultivo.

Nesse trabalho, esse comportamento diferenciado considerando as duas etapas, casa de vegetação e canteiro, não foi observada para o BRS Diamante, mas foi bem significativa para o BRS Sol Bahia.

A interação entre planta e microrganismo é uma etapa fundamental para a maioria dos fatores relacionados ao crescimento da planta. Essa associação é influenciada pelo genótipo, a idade da planta, os tipos de exsudatos radiculares liberados, as condições edáficas e climáticas, bem como a composição da microbiota do solo (CAI et al., 2012; CARVALHAIS et al., 2013). Esses fatores podem influenciar tanto a eficiência quanto a especificidade da interação entre planta e microrganismo, influenciando, assim o crescimento e o desenvolvimento vegetal.

As bactérias promotoras de crescimento de plantas constituem um grupo de microrganismos que podem estimular o crescimento e desenvolvimento das plantas de várias maneiras, tanto diretamente quanto indiretamente (DIAS e SANTOS, 2022). Esses microrganismos são capazes de promover o crescimento vegetal mediante aquisição de nitrogênio e fósforo disponíveis no solo, além da produção de fitormônios que aumentam o crescimento das raízes e melhoram a absorção de nutrientes pelas plantas. Além disso, as bactérias promotoras de crescimento podem proporcionar proteção às plantas contra pragas e patógenos, ou ajudar na tolerância a estresses abióticos como salinidade, déficit hídrico e estresse iônico (WAGHUNDE et al., 2016; DIAS e SANTOS, 2022).

A fase de aclimatização é considerada uma etapa crítica no processo de produção de mudas, já que as plantas são expostas a condições adversas do ambiente ex vitro, muitas vezes afetando sua capacidade de sobrevivência. As

plantas cultivadas in vitro têm características anatômicas e fisiológicas desfavoráveis para o ambiente externo, tais como, o metabolismo heterotrófico, a cutícula menos espessa e menor densidade estomática (BARBOZA et al., 2006) dificultam a adaptação direta ao campo.

A inoculação de bactérias benéficas, promotoras de crescimento, pode ser uma estratégia viável para aclimatização de abacaxizeiros propagados in vitro, pois promove o seu crescimento e diminui o longo tempo necessário para a transferência para as condições de campo. O trabalho realizado por Silva et al. (2023), utilizando o BRS Imperial, também destacou esse potencial, demonstrando resultados promissores em casa de vegetação com o isolado BAC222, similar ao encontrado neste trabalho.

Os isolados BAC25 e BAC406 são bactérias endofíticas relacionadas filogeneticamente com o gênero *Enterobacter.* A análise do 16S rDNA dos isolados, revelou maior semelhança com espécies do gênero *Enterobacter*, principalmente com *Enterobacter hormaechei subsp. oharae*. Na análise filogenética, essas amostras foram agrupadas com *Enterobacter hormaechei subsp. steigerwaltii* e *Enterobacter hormaechei subsp. ohara*, sugerindo proximidade com essas espécies.

No entanto, o isolado BAC222 é uma bactéria de solo, onde a sequência do 16S rDNA do isolado apresentou maior similaridade com espécies pertencentes ao gênero *Kosakonia*, sendo *Kosakonia cowanii* o táxon mais próximo. Na análise filogenética a amostra foi agrupada com *Kosakonia cowanii*, indicando proximidade com essa espécie.

Espécies do gênero *Enterobacter* são conhecidas por expressarem atividades, como fixação de nitrogênio, solubilização de fósforo no solo, capacidade de secretar produtos sideróforos, bem como, produzir fitormônios, como etileno, citocininas e a auxina ácido indol-3-acetico, além de aumentar a porosidade do solo, promovendo assim, o crescimento das plantas e suprimindo os patógenos vegetais transmitidos pelo solo (JHA et al., 2011; FERRARA, et al., 2012).

Zhang et al. (2021), isolaram e identificaram uma série de cepas pertencentes ao gênero *Enterobacter* sp. com notáveis capacidades de produção de ácido indol-3-acético (IAA). As cepas produtoras de IAA foram investigadas posteriormente quanto ao seu efeito na promoção de crescimento

do milho. Os resultados indicaram que esses microrganismos promoveram significativamente o crescimento do milho, aumentando o comprimento da raiz, a altura da planta e o peso fresco e seco.

Em estudos realizados por Bendaha e Belaouni (2019) também foi possível verificar o potencial de crescimento de *Enterobacter hormaechei subsp. steigerwaltii* na produção de tomate. Plantas tratadas com este isolado, resultaram em melhorias significativas no peso seco, comprimento do caule e da raiz das plantas de tomate em comparação com o controle não inoculado. Além de promover significativamente o crescimento das plantas de tomate, o isolado apresentou um forte potencial protetor contra a murcha de *Fusarium* em tomate.

As espécies pertencentes ao gênero *Kosakonia* são principalmente reconhecidas como bactérias promotoras do crescimento das plantas, capazes de realizar a fixação de nitrogênio, dissolver fosfatos naturais e secretar hormônios de crescimento das plantas (BRADY et al., 2024; BERGER; BALDERMANN e RUPPEL, 2017).

Estudos realizados por Kumar et al. (2021), observaram que sementes de milho (*Pennisetum glaucum* L.) reinoculadas com *Kosakonia cowanii,* aumentaram significativamente o comprimento da parte aérea e o peso fresco das mudas em comparação com o controle, além de apresentaram atividades de solubilização de fosfato e potássio, bem como, o isolado melhorou o conteúdo de clorofilas a e b e carotenóides nas folhas das mudas.

De maneira semelhante, Taghian et al. (2021) observaram que nas condições in vivo em casa de vegetação, plantas de cana-de-açúcar tratadas com *Kosakonia radicictans* e outras bactérias endofíticas, promoveram maior crescimento na área foliar, no comprimento e diâmetro do colmo, no número de perfilhos e clorofila total em comparação com o controle saudável e infectado não tratado.

Assim como na etapa de casa de vegetação, os efeitos da microbiolização também foram percebidos após a transferência das plantas para fase de canteiro. Também foi observado, que durante a fase de canteiro, os dois híbridos exibiram desempenho diferenciado em relação aos diferentes isolados e suas combinações.

Na fase de canteiro, observou-se que os tratamentos compostos pelo isolado BAC222 e o mix BAC25 + BAC406 apresentaram melhores desempenhos para promoção de crescimento tanto do BRS Diamante quanto do BRS SolBahia. Estes isolados foram capazes de promover maior incremento no desenvolvimento para todas as variáveis avaliadas, principalmente para a altura, comprimento e largura da folha D (CFD, LFD).

É importante ressaltar que o isolado BAC222 demonstrou potencial de promoção de crescimento tanto na etapa de casa de vegetação quando na fase de canteiro. Assim, é possível afirmar que o isolado, pertencente à espécie *Kosakonia cowanii* pode ser utilizado para efeito de promoção de crescimento do BRS Diamante tanto em casa de vegetação quando em canteiro. Enquanto para o BRS Sol Bahia, este isolado mostrou-se eficaz especificamente em condições de canteiro.

Os resultados evidenciam que os isolados utilizados neste estudo demonstram um potencial de crescimento notável, capaz de impulsionar o desenvolvimento de mudas de abacaxizeiro tanto em condições de casa de vegetação quanto em condições de canteiro. Essa aceleração no crescimento das plantas não apenas reduz significativamente o tempo de produção, mas também oferece uma perspectiva promissora para aumentar a produtividade da cultura de maneira sustentável.

CONCLUSÃO

- Na etapa em casa de vegetação, os tratamentos BAC222 e o mix BAC25 + BAC406 promoveram os melhores resultados para BRS Diamante enquanto nenhum tratamento foi superior ao controle para o BRS Sol Bahia;
- Durante fase de canteiro, os tratamentos BAC222 e o mix BAC25 + BAC406 promoveram maior incremento no crescimento tanto do BRS Diamante quanto do BRS Sol Bahia.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. do R. A. de. **Estratégias de propagação vegetativa em cultivares comerciais de abacaxizeiros [Ananas comosus (L.) Merr.].** Dissertação (Mestrado Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2021.

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. P.; SMITH, R. B. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar vitória durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa**,** v. 34**,** p.349-360, 2010.

BARBOZA, S.B.S.C.; GRACIANO RIBEIRO, D.; TEIXEIRA, J.B.; PORTES, T.A. & SOUZA, L.A.C. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. Pesq. **Agropec. Bras**., v.41:185-194, 2006.

BENDAHA, M. E. A.; BELAOUNI, H. A. Crescimento de tomate e promoção de resistência por Enterobacter hormaechei subsp. steigerwaltii EB8D. **Arquivos de Fitopatologia e Proteção Vegetal**, v. 52, n. 3-4, pág. 318-332, 2019.

BERGER, B.; BALDERMANN, S.; RUPPEL, S. A. bactéria promotora do crescimento das plantas Kosakonia radicincitans melhora o rendimento e a qualidade dos frutos de *Solanum lycopersicum J.* **Ciência. Agrícola Alimentar**, v. 97, p.4865–4871, 2017.

BRADY, C. L.; TRUJILLO, M.; DEDYSH, S.; DEVOS, P.; HEDLUND, B.; KÄMPFER, P.; RAINEY, F.; WHITMAN, W. **Kosakonia**. John Wiley e Filhos. 2024.

CAI, Z.; KASTELL, A.; KNORR, D.; SMETANSKA, I. Exudation: Na expanding technique for continuous production and release PGPB in agricultural soils of secondary metabolites from plant cell suspension and hairy root cultures. **Plant cell reports**, v.31, p. 461-477, 2012.

CARVALHAIS, L.C.; DENNIS, P.G.; FAN, B.; FEDOSEYENKO, D.; KIERUL, K.; BECKER, A.; VON WIREN, N.; BORRISS, R. Linking plant nutritional status to plant-microbe interactions. **PLoS One**. 2013.

CUNHA, J. de F.; PICOLI, E. A. de T.; ALFENAS, A. C.; GONCALVES, R. C. Efeito in vitro de antibióticos e rizobactérias no controle de bactérias fitopatogênicas ao Eucalyptus spp. **R. Árvore**, Viçosa-MG, v.30, n.6, p.871-876, 2006.

DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL (**DERAL**). Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020- 01/fruticultura_2020.pdf> Acessado em: 15 janeiro 2024.

DIAS, A. dos S.; SANTOS, C. C. **Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso.** Nova Xavantina, MT: Pantanal, 98p. 2022.

FAO - ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. **FAOSTAT**. 2021.

FERRARA, F. I. S.; OLIVEIRA, Z. M.; SOTO GONZALES, H. H.; FLOH, E. I. S.; BARBOSA, H. R. Endophytic and rhizospheric enterobacteria isolated from sugar cane have different potentials for producing plant growth-promoting substances. **Plant and Soil,** v. 353, p. 409–417, 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE Cidades. 2022. Disponível em: Acesso em: 5 de janeiro de 2024.

JHA, C. K.; AERON, A.; PETAL, B. V.; MAHESHWARI, D. K.; SARAF, M. Enterobacter: role in plant growth promotion. **Bacteria in agrobiology: Plant growth responses**, p. 159-182, 2011.

JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S**. Aspectos Práticos da Micropropagação de Plantas. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**. 371 p. Cruz das Almas, BA, 2009.

KOPPEN, W. Das geographische system der climate. In: KOPPEN W.; GEIGER, R, (Ed,) **Handbuch der klimatologie**, v. 1, Gebrfider Borntraeger: Berlin, Germany, 1936.

KUMAR, K., VERMA, A., PAL, G., ANUBHA, WHITE, J. F. e VERMA, S. K. Bactérias endofíticas de sementes de milheto (Pennisetum glaucum L.) promovem o desenvolvimento de mudas e defendem contra um fitopatógeno fúngico. **Fronteiras em Microbiologia**, v. 12, p. 774293, 2021.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações** 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, p.319. 1997.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum,** v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, D. A. de; FERREIRA, S. C.; CARRERA, D. L. R; SERRÃO, C. P.; CALLEGARI, D. M.; BARROS, N. L. F.; COELHO, F. M.; SOUZA, C. R. B de. Caracterização de bactérias Pseudomonas de Piper tuberculatum quanto à produção de compostos potencialmente bioestimulantes para o crescimento vegetal. **Acta Amazonica**, v. 51, n. 1, p. 10-19, 2021.

REINHARDT, D.H.R.C., BARTHOLOMEW, D.P., SOUZA, F.V.D., de CARVALHO, A. C.P.P., de Pádua, T.R.P., Junghans, D.T., de Matos, A.P. Advances in pineapple plant propagation. **Rev. Bras. Frutic**., v. 40, n. 6, p. 302, 2018.

REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. Métodos de propagação. In: CUNHA, G. A. P.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. F. S. (Eds.). **O abacaxizeiro**: cultivo, agroindústria e economia. Brasília: Embrapa-SPI, p. 105-138, 1999.

SILVA, P. O. S. da.; SOUZA, C. P. F.; FERREIRA, C. F.; SOUZA, F. V. D.; OLIVEIRA, S. A. S. de. Functional microbiome of *Ananas* spp. as growth-promoting agent in pineapple BRS Imperial. **Scientia Horticulturae**, v. 321, p. 112271, 2023.

SILVA, R. L. da; de SOUZA, E. H. ; PELACANI, C. R.; de JESUS, J. S.; SOUZA, C. P. F.; SOUZA, A. B. P.; SOUZA, F. V. D. Validation of in vitro conservation of pineapple germplasm [*Ananas comosus* (L.) Merr.] for ten years based on field morphological characterization. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 1, p. 01-01, 2021.

SOUZA, C. P. F. **Estudo do microbioma associado ao gênero *Ananas*.** 2021. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2021.

SOUZA, C. R. S.; BARBOSA, A. C. O.; FERREIRA, C. F.; SOUZA, F. V. D.; ROCHA, L. S.; SOUZA, E. H. de; OLIVEIRA, S. A. S. de. Diversity of microorganisms associated to Ananas spp. from natural environment, cultivated and ex situ conservation areas. **Scientia Horticulturae**, v. 243, p. 544-551, 2019.

SOUZA, E. H. de ; SOUZA, F. V. D. ; COSTA, M. A. C. ; COSTA JUNIOR, D. S. ; SANTOS-SEREJO, J. A. ; AMORIN. E. P.; LEDO, C. A. da S. Genetic variation of the *Ananas* genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, p. 1357-1476, 2012.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHANS, T. G.; SILVA, M. J. **Micropropagação do abacaxizeiro e outras bromeliáceas.** In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. Aspectos práticos da micropropagação de plantas. 2ed., Brasília, v. 1, p. 345-372, 2013.

SOUZA, S. A. de. **Diversidade de bactérias endofíticas em bananeira 'Prata-anã'**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros), pg. 1-116, 2011.

TAGHIAN, S.; ESH, A.; NAGY, A. G.; EL-MENEISY, A. Bactérias endofíticas para o controle biológico da ferrugem da cana-de-açúcar e seu efeito sobre alguns parâmetros de crescimento das plantas. **Revista Egípcio-Árabe de Ciências Aplicadas e Tecnologia**, v. 2, p. 39-53, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.21608/eajast.2021.90978.1002. Acessado em: 20 de abril de 2024.

WAGHUNDE, R.R., SHELAKE, R.M., SABALPARA, A.N. Trichoderma: A significant fungus for agriculture and environment. **African journal of agricultural research**, v. 11, n. 22, p.1952-1965, 2016.

ZHANG, BI-XIAN; LI, PEI-SHAN; WANG, YING-YING; WANG, JIA-JUN; LIU, XIU-LIN; WANG, XUE-YANG; HU, XIAO-MEI. Caracterização e síntese de ácido indol-3-acético no crescimento de plantas promotoras de *Enterobacter* sp. **RSC avança**, v. 50, p. 31601-31607, 2021.

CAPÍTULO 3

EFEITO DE BACTERIAS ENDOFÍTICAS ORIUNDAS DO GÊNERO *Ananas* ssp. NO DESENVOLVIMENTO RADICULAR E PARTE AÉREA DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO MICROBIOLIZADOS IN VITRO E IN VIVO

EFEITO DE BACTERIAS ENDOFÍTICAS ORIUNDAS DO GÊNERO *Ananas* ssp. NO DESENVOLVIMENTO RADICULAR E PARTE AÉREA DOS HÍBRIDOS DE ABACAXIZEIRO MICROBIOLIZADOS IN VITRO E IN VIVO

RESUMO: O abacaxi é uma fruta tropical amplamente consumida em todo o mundo, caracterizado por possuir um sistema radicular superficial e de crescimento lento, o que o torna suscetível à falta de água. O uso de bactérias promotoras de crescimento pode melhorar o sistema radicular e, consequentemente, o desenvolvimento da planta. Diante disso, este trabalho teve como objetivo, avaliar os efeitos de bactérias endofíticas associadas ao gênero *Ananas* ssp., no desenvolvimento radicular e parte aérea de mudas dos híbridos 'BRS Diamante' e 'BRS Sol Bahia'. Plantas oriundas de micropropagação in vitro foram microbiolizadas in vitro e in vivo, utilizando três isolados de bactérias (BAC25, BAC222 e BAC406) e quatro mix entre elas, que em avalições prévias demonstraram potencial na promoção de crescimento. Ao final das avaliações sobre os efeitos dos isolados no desenvolvimento e crescimento das plantas (parte aérea), o sistema radicular e parte aérea foram coletados e avaliados quanto ao peso da massa fresca e seca. As raízes foram digitalizadas por meio de um escâner e as imagens obtidas foram processadas através do software GSRoot para mensuração do comprimento e diâmetro. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os resultados revelaram que BAC25 proporcionou maior incremento para todas as variáveis avaliadas para ambos os híbridos, resultando em maiores comprimentos de raízes na classe de diâmetro de 0,25 a 0,5 mm, nas condições in vitro. Além disso, BAC406 demonstrou um aumento significativo na massa fresca e seca da parte aérea e raízes, bem como uma melhoria no comprimento total das raízes para ambos os híbridos, com os maiores comprimentos de raízes ocorrendo na classe de diâmetro de 1,0 mm, nas condições in vivo. Esses resultados sugerem que esses isolados têm o potencial de serem aplicados como biofertilizantes ou promotores de crescimento em cultivo de abacaxizeiro, oferecendo uma abordagem promissora para aumentar a produtividade da cultura de maneira sustentável.

Palavras-chave: *Ananas comosus*; Crescimento radicular; Microrganismos benéficos

EFFECT OF ENDOPHYTIC BACTERIA FROM THE GENUS *Ananas* ssp. IN ROOT AND AERIAL DEVELOPMENT OF PINEAPPLE HYBRIDS MICROBIOLIZED IN VITRO AND IN VIVO

ABSTRACT: Pineapple is a tropical fruit widely consumed throughout the world, characterized by having a superficial and slow-growing root system, which makes it susceptible to lack of water. The use of growth-promoting bacteria can improve the root system and, consequently, the development of the plant. Therefore, this work aimed to evaluate the effects of endophytic bacteria associated with the genus *Ananas* ssp., on the root and aerial development of seedlings of the hybrids 'BRS Diamante' and 'BRS Sol Bahia'. Plants from in vitro micropropagation were microbiolized in vitro and in vivo, using three bacterial isolates (BAC25, BAC222 and BAC406) and four mixes between them, which in previous evaluations demonstrated potential in promoting growth. At the end of the evaluations on the effects of the isolates on the development and growth of plants (aerial part), the root system and aerial part were collected and evaluated according to the weight of fresh and dry mass. The roots were digitized using a scanner and the images obtained were processed using the GSRoot software to measure length and diameter. The data obtained were subjected to analysis of variance and the means were grouped using the Scott-Knott test at 5% probability. The results revealed that BAC25 provided a greater increase for all variables evaluated for both hybrids, resulting in greater root lengths in the diameter class of 0.25 to 0.5 mm, under in vitro conditions. Furthermore, BAC406 demonstrated a significant increase in fresh and dry mass of shoots and roots, as well as an improvement in total root length for both hybrids, with the greatest root lengths occurring in the 1.0 mm diameter class, under in vivo conditions. These results suggest that these isolates have the potential to be applied as biofertilizers or growth promoters in pineapple cultivation, offering a promising approach to increase crop productivity in a sustainable manner.

Keywords: *Ananas comosus*; Root growth; Beneficial microorganisms

INTRODUÇÃO

O *Ananas comosus* (L.) Merril, conhecido como abacaxi, pertencente à família Bromeliaceae, é uma fruta tropical proveniente de clima quente, seco ou com chuvas irregulares (LANDAU e DA SILVA, 2020). Está entre as fruteiras mais consumidas no Brasil e no mundo, sendo cultivado em todos os estados brasileiros (FARIA, 2008).

O abacaxizeiro é uma planta que apresenta lento desenvolvimento do sistema radicular, que é caracterizado por apresentar raízes do tipo fasciculada, concentradas nas camadas mais superficiais do solo (INFORZATO et al., 1968). O restrito desenvolvimento do sistema de raízes do abacaxizeiro ocasiona o seu baixo consumo de água durante o cultivo. Essas raízes superficiais que ocupam pequeno volume no solo, tornam a planta altamente susceptível a déficits hídricos (EKERN, 1965).

O abacaxi necessita de diversos nutrientes, pois seu estado nutricional tem grande influência no desenvolvimento vegetativo, na produção e na qualidade do fruto (TEIXEIRA et al., 2002). Assim, o uso de bactérias promotoras do crescimento das raízes pode auxiliar na melhoria do sistema de absorção de água e nutrientes para a planta, melhorando o seu desenvolvimento.

Diversos microrganismos podem ser encontrados nas proximidades das raízes e também colonizando os tecidos internos das plantas, sendo alguns destes considerados benéficos (POLLI et al., 2012; RYAN et al., 2007). Estes microrganismos mantem diferentes relações com os vegetais, podendo atuar na promoção do desenvolvimento da planta pela produção de reguladores de crescimento vegetal, já que são capazes de solubilizar o fosfato, produzir ácido indolacético, fixar nitrogênio, aumentar a absorção das raízes, além de inibir a biossíntese do etileno e induzir a resistência a fitopatógenos (BALDOTTO et al., 2010; VEJAN et al.,2016; COPE-SELBY et al., 2017; SINGH et al., 2017).

O estudo das raízes é fundamental para compreender as diversas funções fisiológicas da planta (PIERRET et al., 2013). As raízes desempenham um papel essencial na absorção de água e nutrientes do solo, bem como na ancoragem da planta no substrato (KHAN, 2016). Além disso, elas desempenham um papel crucial para garantir uma boa formação e sustentação

da parte aérea (BATISTA e MONTEIRO, 2006). Portanto, entender as características e o funcionamento das raízes é fundamental para compreender o crescimento e desenvolvimento das plantas como um todo.

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo, avaliar os efeitos de bactérias endofíticas associadas ao gênero *Ananas* ssp., no desenvolvimento radicular e parte aérea de mudas dos híbridos 'BRS Diamante' e 'BRS Sol Bahia'.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Física do Solo da Embrapa Mandioca e Fruticultura, no município de Cruz das Almas, BA (12º 40 12 S, 39º 06 07 W, 220 m). O município está situado no Recôncavo da Bahia e, de acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é uma transição do tipo Am a Aw (tropical subúmido a seco), com temperatura média anual do ar de 23,8ºC, precipitação anual média de 1.224 mm e umidade relativa do ar média de 82,3%.

Material vegetal e obtenção das mudas

Foram utilizados nesse estudo dois híbridos de abacaxi desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento do Abacaxizeiro da Embrapa Mandioca e Fruticultura: 'BRS Sol Bahia' e 'BRS Diamante'.

Plantas oriundas de micropropagação in vitro foram microbiolizadas in vitro e em casa de vegetação (in vivo), utilizando três isolados de bactérias (BAC25, BAC222 e BAC406) e quatro mix entre elas, que em avaliações prévias demonstraram potencial na promoção de crescimento. Ao final das avaliações sobre os efeitos dos isolados no desenvolvimento e crescimento da parte aérea das plantas, foi realizada uma análise destrutiva das raízes e parte aérea.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 2 (formas de inocular) x 2 (híbridos) x 7 (tratamentos) + 1 (controle) com 5 repetições/ tratamento (2 x 2 x 8 x 5), o que soma 160 plantas, onde cada forma de inoculação foi avaliada em 80 plantas em experimentos independentes.

Análise destrutiva

Para análise destrutiva da raiz e parte aérea, cinco plantas por tratamento mais o controle dos dois híbridos (BRS Sol Bahia e BRS Diamante), totalizando 80 plantas, tiveram seus substratos removidos (Figura 1A e 1B).

Com o auxílio de uma tesoura, a parte aérea foi separada da raiz (Figura 1C) para determinar o peso da massa fresca (g) (Figura 1D) e logo após, armazenada em saco de papel Kraft (Figura 1F) para posterior secagem em estufa de ventilação forçada a 70°C por 72h (Figura 1G), e novamente pesada para obtenção da massa seca (g) (Figura 1H). As raízes coletadas também tiveram sua massa fresca avaliada (Figura 1E).



Figura 1. Análise destrutiva de raiz e parte aérea. **A e B –** Remoção do substrato. **C –** Separação do sistema radicular da parte aérea. **D e F –** Avaliação do peso fresco das folhas e raiz**. F e G –** Folhas armazenadas em saco de papel Kraft e posterior secagem em estufa a 70°C. **H –** Avaliação da massa seca da parte aérea (Fotos: Autoria própria).

Digitalização e leitura de raízes

Após mensurar o peso fresco das raízes, estas foram armazenadas em saco de papel Kraft (Figura 2C) para posterior secagem em estufa de ventilação forçada a 40°C por aproximadamente 4h (Figura 2D). Em seguida,

foram passadas em peneira de 1mm para que os excessos dos substratos fossem removidos (Figura 2E). Ao final desse procedimento, as raízes foram armazenadas em sacolas plásticas devidamente identificadas e mantidas sob refrigeração (Figura F).

As raízes, após separação do substrato, foram arrumadas entre duas folhas de transparência para serem digitalizadas, obedecendo o critério de evitar a sobreposição (Figura G). O processo de digitalização de imagem foi realizado por meio de um escâner, modelo LaserJet M1132 MFP (Figura 2H), utilizando o software Hppscan0.exe para a obtenção das imagens (Figura 2I). Com o auxílio do software Microsoft Paint, as imagens digitalizadas foram tratadas para a eliminação de eventuais manchas de poeira.

As imagens obtidas foram utilizadas para a leitura de raízes através do Programa GSRoot, versão 5.2 (Figura 2J), para medição do comprimento, área e classes de diâmetros (GUDDANTI e CHAMBERS, 1993). Ao final, as raízes foram novamente pesadas para obtenção da massa seca (Figura 2L).



Figura 2. **A** e **B** – Coleta e separação das raízes**. C** e **D** – Raízes armazenadas em saco de papel Kraft e posterior secagem em estufa a 40°C. **E** e **F** – Raízes passadas em peneira de 1mm para remoção do excesso de substrato e armazenadas em sacolas plásticas para posterior digitalização de imagens. **G, H** e **I** – Digitalização de imagens por meio de um escâner, utilizando o software Hppscan0.exe. **J** – Leitura das raízes através do Programa GSRoot. L – Pesagem da massa seca das raízes (Fotos: Autoria própria).

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises foram efetuadas com o auxílio do Software SISVAR descrito por FERREIRA (2011).

RESULTADOS

Análise destrutiva de plantas microbiolizadas in vitro

As mudas de abacaxizeiros BRS Diamante e BRS Sol Bahia, advindas do processo de microbiolização in vitro e submetidas a análise destrutiva do sistema radicular e parte aérea, mostraram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos avaliados.

Na comparação entre os dois híbridos, tanto a massa fresca quanto a massa seca da parte aérea (Tabela 1), o BRS Diamante apresentou melhores resultados para todos os tratamentos, incluindo o controle. As únicas exceções foram os tratamentos com BAC25 e os três mixs duplos (BAC25 + BAC406, BAC25 + BAC222 e BAC406 + BAC222), nos quais não houve diferenças significativas, resultando em médias iguais para a massa fresca e seca da parte aérea para ambos os híbridos. Para a massa fresca da raiz, o BRS Diamante apresentou médias superiores ao BRS Sol Bahia quando tratado apenas com o BAC25, entretanto, para os demais tratamentos não houve diferença significativa entre os dois híbridos. O mesmo foi observado, para a massa seca da raiz, em que o BRS Diamante exibiu melhores médias quando comparado ao BRS Sol Bahia, quando utilizado o isolado BAC222.

Com relação aos isolados e suas combinações, para a massa fresca e massa seca da parte aérea (Tabela 1), os isolados BAC25 e BAC406 promoveram os melhores resultados para o BRS Diamante, enquanto para o BRS Sol Bahia as maiores médias foram obtidas apenas com o isolado BAC25.

Para a massa fresca da raiz, o isolado BAC25 promoveu maior desenvolvimento para o BRS Diamante, enquanto para o BRS Sol Bahia, não houve diferença significativa entre os tratamentos e o controle. Os tratamentos compostos pelos isolados BAC25, BAC406, BAC222 e o mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222) apresentaram melhores médias para a massa seca da raiz

para o BRS Diamante, enquanto para o BRS Sol Bahia apenas o isolado BAC25 promoveu os melhores resultados (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios da massa fresca e massa seca da parte aérea e das raízes dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia submetidos a diferentes tratamentos, durante a microbiolização in vitro.

Tratamentos	Massa fresca parte aérea (g)		Massa seca parte aérea (g)		Massa fresca raízes (g)		Massa seca raízes (g)	
	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB
Controle	11,77 aB	6,20 bB	1,03 aB	0,55 bB	3,92 aB	3,39 aA	0,21 aB	0,16 aB
BAC25	20,06 aA	20,07 aA	1,82 aA	1,87 aA	13,36 aA	6,89 bA	0,41 aA	0,54 aA
BAC406	18,00 aA	8,79 bB	1,63 aA	0,76 bB	5,17 aB	5,12 aA	0,36 aA	0,30 aB
BAC222	14,74 aB	8,56 bB	1,33 aB	0,75 bB	5,16 aB	5,93 aA	0,37 aA	0,21 bB
BAC25 + BAC406	14,66 aB	12,55 aB	1,32 aB	1,12 aB	5,27 aB	6,65 aA	0,27 aB	0,31 aB
BAC25 + BAC222	13,00 aB	11,33 aB	1,12 aB	1,09 aB	5,53 aB	4,85 aA	0,29 aB	0,22 aB
BAC406 + BAC222	10,56 aB	8,96 aB	0,93 aB	0,88 aB	3,44 aB	4,42 aA	0,17 aB	0,16 aB
BAC25 + BAC406 + BAC222	14,30 aB	8,55 bB	1,29 aB	0,76 bB	6,01 aB	3,73 aA	0,34 aA	0,20 aB
QM	48,81	91,16	0,44	0,83	47,97	8,27	0,03	0,08
F value	4,28*	7,99*	3,24*	6,08*	8,49*	1,46*	2,38*	5,42*
CV (%)	13,54		16,03		18,27		21,21	
Média	14,64 a	10,63 b	1,31 a	0,97 b	5,98 a	5,12 a	0,30 a	0,26 a

Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra minúsculas nas linhas (comparação entre os híbridos); médias seguidas da mesma letra maiúsculas nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

Com relação a análise das raízes, foi observado que para o BRS Diamante, os tratamentos compostos pelos isolados BAC25, BAC406, BAC222, mix BAC25 + BAC222 e o mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222) favoreceram maiores médias para o comprimento das raízes no diâmetro D > 1,0 mm. Enquanto para os demais diâmetros, os tratamentos apresentaram médias iguais ao controle (Tabela 2).

Com base na tabela 2, é possível observar, os diâmetros mais representativos dentro de cada tratamento, indicando que o diâmetro D > 1,0 mm foi o mais recorrente em todos os tratamentos avaliados para o BRS Diamante.

Tabela 2. Valores médios para o comprimento das raízes (mm) em função dos diferentes diâmetros para o híbrido BRS Diamante, após a microbiolização in vitro.

			Diâmetro		
Tratamento	**D < 0,25**	**0,25 < D < 0,5**	**0,5 < D < 0,75**	**0,75 < D < 1,0**	**D > 1,0**
Controle	968,70 cA	1700,50 bA	668,20 cA	468,80 cA	2877,06 aB
BAC25	1049,54 cA	1578,84 bA	605,62 dA	503,22 dA	3884,72 aA
BAC406	846,16 cA	1543,54 bA	712,18 cA	585,86 cA	3595,42 aA
BAC222	761,94 cA	1488,88 bA	709,16 cA	579,84 cA	3745,64 aA
BAC25 + BAC406	830,16 cA	1425,92 bA	599,50 cA	480,52 cA	2976,22 aB
BAC25 + BAC222	803,76 cA	1375,50 bA	565,20 cA	434,68 cA	3369,06 aA
BAC406 + BAC222	646,18 cA	1273,98 bA	566,30 cA	437,14 cA	2462,98 aB
BAC25 + BAC406 + BAC222	632,54 cA	1256,38 bA	619,50 cA	529,02 cA	3708,66 aA

Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra minúsculas nas linhas (comparação entre diâmetros) e maiúsculas nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

Para o BRS Sol Bahia, os isolados BAC25 e o mix BAC25 + BAC406 apresentaram melhores médias para o comprimento das raízes nos diâmetros (mm) D < 0,25 e 0,25 < D < 0,5, além do diâmetro D > 1,0 mm, para o isolado BAC25. O diâmetro D > 1,0, foi o mais representativo em relação aos demais diâmetros para todos os tratamentos. Entretanto, o diâmetro 0,25 < D < 0,5, apresentou médias superiores para o tratamento BAC25 + BAC406 (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios para o comprimento das raízes (mm) em função dos diferentes diâmetros para o híbrido BRS Sol Bahia, após a microbiolização in vitro.

	Diâmetro				
Tratamento	**D < 0,25**	**0,25 < D < 0,5**	**0,5 < D < 0,75**	**0,75 < D < 1,0**	**D > 1,0**
Controle	915,10 cB	1843,50 bB	851,84 cA	714,94 cA	3269,54 aC
BAC25	2527,84 cA	4120,60 bA	1694,90 dA	1288,20 dA	6041,74 aA
BAC406	1520,50 cB	2703,60 bB	1140,64 dA	875,24 dA	4049,50 aB
BAC222	1348,12 cB	2378,86 bB	1020,92 dA	747,40 dA	3059,94 aC
BAC25 + BAC406	1906,12 bA	3425,58 aA	1451,56 cA	1031,30 cA	3842,50 aB
BAC25 + BAC222	970,06 cB	1927,88 bB	963, 90 cA	738,72 cA	3866,42 aB
BAC406 + BAC222	1272,70 cB	2121,40 bB	907,58 dA	712,54 dA	2828,56 aC
BAC25 + BAC406 + BAC222	1018,64 cB	2085,38 bB	924,78 cA	725,48 cA	3472,36 aC

Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra minúsculas nas linhas (comparação entre diâmetros); médias das maiúsculas nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

Em relação ao comprimento total das raízes para todos os diâmetros analisados, observou-se que não houve diferença significativa entre o controle e os tratamentos avaliados para o BRS Diamante. Enquanto para o BRS Sol Bahia, o isolado BAC25 promoveu os maiores incrementos no comprimento total das raízes em comparação com os demais tratamentos (Figura 3).

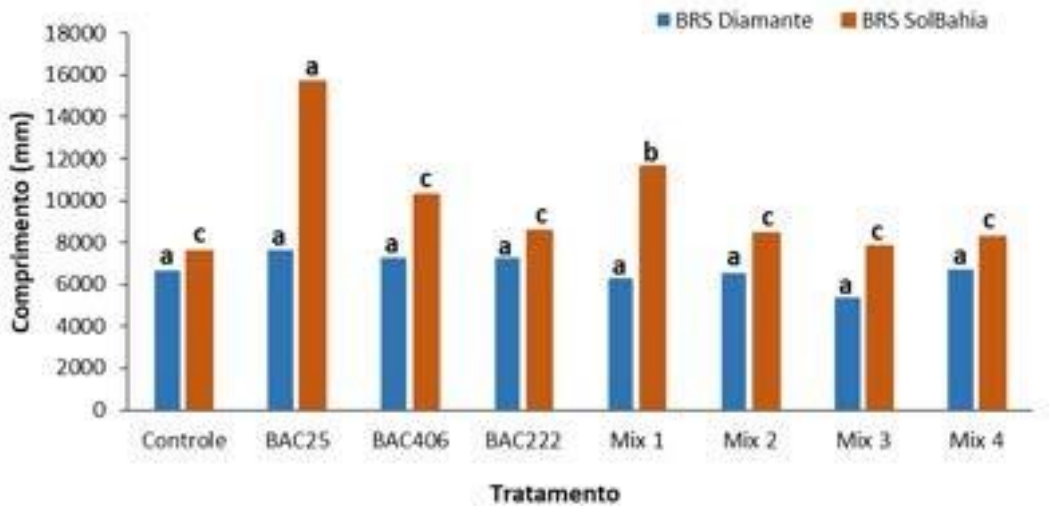


Figura 3. Comprimento total das raízes de abacaxizeiro dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia submetidos a diferentes tratamentos: Mix 1: BAC25 + BA406; Mix 2: BAC25 + BAC222; Mix 3: BAC406 + BAC222 e Mix 4: BAC25 + BAC406 + BAC222, durante a microbiolização in vitro.

Análise destrutiva de plantas microbiolizadas em casa de vegetação

Os resultados da análise destrutiva do sistema radicular e da parte área de mudas de abacaxizeiros BRS Diamante e BRS SolBahia, submetidas ao processo de microbiolização in vivo, revelaram diferenças significativas entre os tratamentos avaliados.

Na comparação entre os dois híbridos (Tabela 4), para a variável massa fresca da parte aérea, o BRS Diamante apresentou médias superiores ao BRS Sol Bahia quando tratado com os três mixs duplos (BAC25 + BAC406, BAC25 + BAC222 e BAC406 + BAC222); para os demais tratamentos, não houve diferença significativa para ambos os híbridos. Para a massa seca da parte aérea, o BRS Diamante superou o BRS Sol Bahia quando tratado com os dois mixs duplo (BAC25 + BAC406 e BAC25 + BAC222), enquanto o BRS SolBahia obteve melhores resultados com o isolado BAC25. Em relação a massa fresca da raiz, o BRS Diamante exibiu melhores médias quando comparado ao BRS Sol Bahia, quando utilizou o mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222), mas o BRS Sol Bahia foi superior quando utilizou o mix BAC25 + BAC222. Em relação à massa seca da raiz, o BRS Diamante apresentou médias superiores quando tratado com o mix BAC25 + BAC406 e o BRS Sol Bahia foi superior ao Diamante, quando tratado com o isolado BAC25, incluindo o controle.

Tabela 4. Valores médios da massa fresca e massa seca da parte aérea e das raízes dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia submetidos a diferentes tratamentos, durante a microbiolização in vivo.

Tratamentos	Massa fresca parte aérea (g)		Massa seca parte aérea (g)		Massa fresca raízes (g)		Massa seca raízes (g)	
	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB	DIAM	SB
Controle	9,96 aC	9,92 aC	0,84 aB	1,10 aB	0,41 aB	0,57 aA	0,18 bC	0,37 aB
BAC25	7,28 aC	8,83 aC	0,55 bB	0,93 aB	0,13 aC	0,33 aB	0,09 bC	0,24 aC
BAC406	16,83 aA	17,39 aA	1,40 aA	1,59 aA	0,60 aB	0,73 aA	0,41 aA	0,48 aA
BAC222	10,25 aC	8,25 aC	0,79 aB	0,77 aC	0,30 aC	0,31 aB	0,15 aC	0,21 aC
BAC25 + BAC406	15,44 aA	6,26 bD	1,28 aA	0,55 bD	0,51 aB	0,34 aB	0,42 aA	0,20 bC
BAC25 + BAC222	12,59 aB	4,38 bD	0,94 aB	0,41 bD	0,38 bB	0,75 aA	0,24 aC	0,16 aC
BAC406 + BAC222	8,82 aC	2,88 bD	0,61 aB	0,31 aD	0,22 aC	0,26 aB	0,16 aC	0,07 aC
BAC25 + BAC406 + BAC222	10,37 aC	13,09 aB	0,90 aB	1,14 aB	1,23 aA	0,53 bA	0,28 aB	0,33 aB
QM	53,80	110,43	0,44	0,92	0,58	0,19	0,07	0,08
F value	7,99*	16,41*	6,77*	13,96*	14,33*	4,69*	8,41*	9,35*
CV (%)	13,01		14,26		19,81		18,43	
Média	11,44 a	8,87 b	0,91 a	0,85 a	0,47 a	0,48 a	0,24 a	0,26 a

Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra minúsculas nas linhas (comparação entre os híbridos); médias seguidas da mesma letra maiúsculas nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

Com relação aos isolados e suas combinações, para a massa fresca e seca da parte aérea (Tabela 4), os isolados BAC406 e o mix BAC25 + BAC406 promoveram os melhores resultados para o BRS Diamante, enquanto para o BRS Sol Bahia as maiores médias foram obtidas com o isolado BAC406.

Para a massa fresca da raiz, o mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222) promoveu o maior incremento para o BRS Diamante, enquanto para o BRS Sol Bahia, as maiores médias ocorreram utilizando o isolado BAC406, o mix BAC25 + BAC222 e o mix triplo (BAC25+ BAC406 + BAC222), incluindo o controle. O tratamento composto pelo isolado BAC406 e o mix BAC25 + BAC406 apresentaram os melhores resultados para a massa seca da raiz para o BRS Diamante, enquanto para o BRS Sol Bahia apenas o isolado BAC406 promoveu os melhores resultados (Tabela 4).

Com relação a análise das raízes (Tabela 5), foi observado que para o híbrido BRS Diamante, os tratamentos BAC406 e mix BAC25 + BAC406 favoreceram as maiores médias para o comprimento das raízes nos diâmetros (mm) D < 0,25, 0,25 < D < 0,5 e 0,5 < D < 0,75, além do diâmetro D >1,0 mm para o mix BAC25 + BAC406.

Tabela 5. Valores médios para o comprimento das raízes (mm) em função dos diferentes diâmetros para o híbrido BRS Diamante, após a microbiolização in vivo.

			Diâmetro		
Tratamento	**D < 0,25**	**0,25 < D < 0,5**	**0,5 < D < 0,75**	**0,75 < D < 1,0**	**D > 1,0**
Controle	646,92 bB	1300,00 aB	555,10 bB	418,58 bA	410,63 bB
BAC25	450,69 bB	767,87 aC	312,21 bB	209,15 bA	221,76 bB
BAC406	1195,61 bA	1926,10 aA	821,73 cA	558,11 dA	546,37 dB
BAC222	744,13 bB	1248,30 aB	410,39 cB	281,84 cA	540,14 bB
BAC25 + BAC406	1460,63 bA	2005,31 aA	839,19 cA	676,84 cA	1464,52 bA
BAC25 + BAC222	809,33 bB	1450,26 aB	586,34 cB	413,20 cA	498,98 cB
BAC406 + BAC222	813,13 bB	1206,37 aB	483,28 cB	375,67 cA	767,85 bB
BAC25 + BAC406 + BAC222	489,31 bB	898,83 aC	429,63 bB	353,63 bA	692,58 aB

Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra, minúsculas nas linhas (comparação entre diâmetros); médias das maiúsculas nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

Utilizando a tabela 5, é possível observar os diâmetros mais representativos dentro de cada tratamento. O diâmetro 0,25 < D < 0,5, foi superior no comprimento de raízes aos demais diâmetros em todos os

tratamentos avaliados, exceto o tratamento composto pelo mix triplo (BAC25 + BAC406 + BAC222), tendo destaque para o diâmetro D > 1,0 mm.

No entanto, para o híbrido BRS Sol Bahia (Tabela 6), apenas o tratamento BAC406 apresentou melhores médias para o comprimento das raízes nos diâmetros (mm) D < 0,25, 0,25 < D < 0,5 e D > 1,0, não diferindo estatisticamente do controle. Além disso, o diâmetro 0,25 < D < 0,5, destacou-se em relação aos demais diâmetros em todos os tratamentos como mostra a tabela 6.

Tabela 6. Valores médios para o comprimento das raízes (mm) em função dos diferentes diâmetros para o híbrido BRS Sol Bahia, após a microbiolização in vivo.

	Diâmetro				
Tratamento	**D < 0,25**	**0,25 < D < 0,5**	**0,5 < D < 0,75**	**0,75 < D < 1,0**	**D > 1,0**
Controle	2305,14 bA	3361,56 aA	1188,06 cA	799,21 cA	1517,20 dA
BAC25	1608,55 bB	2373,37 aB	834,17 cA	533,44 cA	814,25 cB
BAC406	2357,57 bA	3175,37 aA	1065,34 cA	715,58 dA	1213,16 cA
BAC222	1154,03 bB	1932,99 aB	722,19 cA	424,31 cA	565,61 cB
BAC25 + BAC406	1301,49 bB	2079,33 aB	732,07 cA	450,54 cA	583,59 cB
BAC25 + BAC222	1157,86 bB	2041,13 aB	821,90 cA	507,45 cA	792,62 cB
BAC406 + BAC222	706,45 bB	1177,34 aC	424,19 cA	273,92 cA	322,56 cB
BAC25 + BAC406 + BAC222	1297,79 bB	2302,50 aB	879,01 cA	619,48 cA	892,24 cB

Controle (não microbiolizado); médias seguidas da mesma letra, minúsculas nas linhas (comparação entre diâmetros); médias das maiúsculas nas colunas (comparação entre tratamentos), não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (5%).

A figura 4, mostra o comprimento total das raízes em todos os diâmetros para cada tratamento. O tratamento composto pelo mix 1 (BAC25 + BAC406), apresentou maior incremento no comprimento total das raízes em comparação com os demais tratamentos para o BRS Diamante. No entanto, no híbrido BRS SolBahia, o maior aumento no comprimento total das raízes, ocorreu no controle e quando tratado com o isolado BAC406, os quais apresentaram as maiores médias quando comprados aos demais tratamentos.

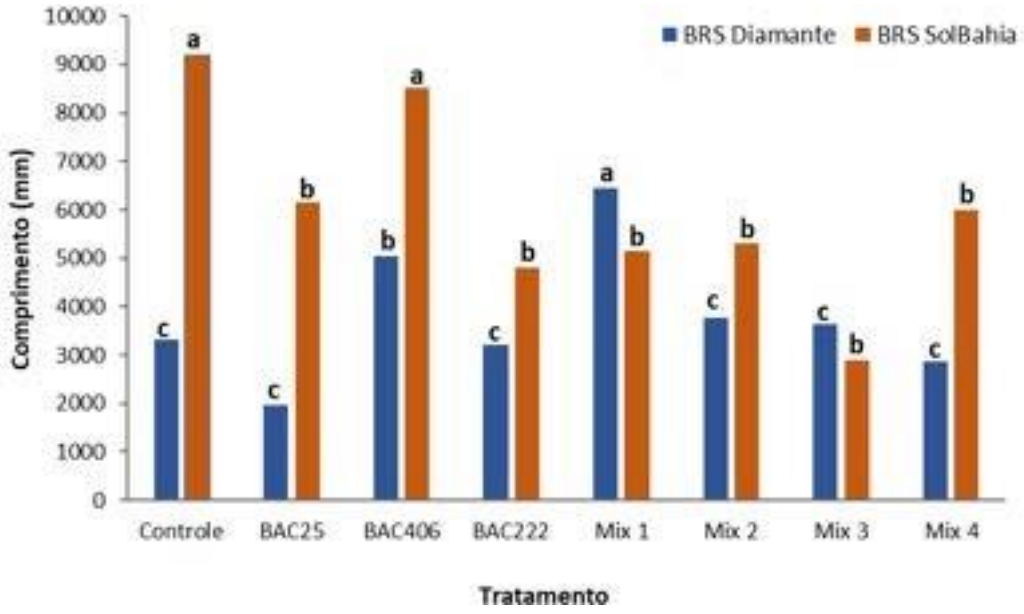


Figura 4. Comprimento total das raízes de abacaxizeiro dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia submetidos a diferentes tratamentos: Mix 1: BAC25 + BA406; Mix 2: BAC25 + BAC222; Mix 3: BAC406 + BAC222 e Mix 4: BAC25 + BAC406 + BAC222, durante a microbiolização in vivo.

DISCUSSÃO

No presente estudo foi realizada uma análise destrutiva do sistema radicular e parte aérea, a partir do uso de mudas de abacaxizeiro microbiolizadas tanto in vitro quanto em casa de vegetação, utilizando os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia. Também foi realizada a leitura do diâmetro das raízes para melhor dimensionamento do material.

Os resultados obtidos com as mudas de abacaxizeiro do BRS Diamante e BRS Sol Bahia após o processo de microbiolização in vitro demonstraram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos avaliados, tanto em relação à massa fresca e massa seca da parte aérea, quanto à massa fresca e massa seca da raiz, bem como em relação ao comprimento das raízes em diferentes classes de diâmetros.

Ao comparar os dois híbridos, fica claro que o BRS Diamante se destacou exibindo melhores resultados em relação ao BRS Sol Bahia, principalmente no que se refere à massa fresca e massa seca da parte aérea. Esses resultados, indicam que o BRS Diamante apresenta maior capacidade

para responder de forma positiva aos tratamentos aplicados, independentemente do isolado utilizado ou sua combinação.

No entanto, foi possível observar que os tratamentos com BAC25 e os três mixs duplos não apresentaram diferença significativa para as massas fresca e seca da parte aérea para ambos os híbridos, sugerindo que esses tratamentos podem ter efeitos neutros ou até mesmo efeitos positivos nos dois híbridos. Além disso, os resultados das massas fresca e seca da raiz reforçam a superioridade do BRS Diamante, especialmente com o isolado BAC25 para a massa fresca da raiz e o BAC222 para a massa seca da raiz.

É importante ressaltar que, para a maioria dos tratamentos, não houve diferença significativa entre os híbridos em relação à massa fresca e seca da raiz. Isso sugere que, em algumas condições, os dois híbridos podem responder de maneira semelhante aos tratamentos aplicados, embora o BRS Diamante ainda apresente uma maior superioridade.

O tratamento BAC25 mostrou-se eficaz na promoção de incrementos para as variáveis massa fresca e massa seca da parte aérea, assim como para as massas fresca e seca da raiz nos dois híbridos. Além do isolado BAC25, outro tratamento que também apresentou efeitos satisfatórios foi o BAC406, promovendo maior incremento para todas as variáveis avaliadas no BRS Diamante.

Os tratamentos BAC25 e BAC406 consistiram em isolados bacterianos endofíticos, filogeneticamente relacionado ao gênero *Enterobacter*. Na análise filogenética, essas amostras foram agrupadas com *Enterobacter hormaechei subsp. steigerwaltii* e *Enterobacter hormaechei subsp. ohara*, indicando uma proximidade genética com essas espécies.

Enterobacter é um gênero de bactérias encontradas em muitas espécies de vegetais, tanto endofiticamente quanto na rizosfera. Os representantes desse gênero são capazes de fixar o nitrogênio, promovendo o crescimento das plantas por meio de mecanismos como a produção de hormônios vegetais, além disso, diversos estudos relacionam espécies desse gênero como causadoras de patologias em humanos (MASHALY e MASHALY, 2021; PRUSAKOV et al., 2021).

Resultados semelhantes a este trabalho foram encontrados por Silva et al. (2023), no qual o BAC406 foi capaz de promover ganhos tanto para massa

fresca e massa seca da parte aérea, quanto massa fresca da raiz de mudas de abacaxi cv. ‘BRS Imperial’ microbiolizadas in vitro.

Estudos como o de Santos et al. (2014) também corroboram com os achados deste estudo. Ao investigarem o efeito da inoculação de *Enterobacter cloacae* e *Bacillus* sp. no crescimento, teores de nutrientes e solutos orgânicos em folhas e raízes de girassol sob déficit hídrico, observou-se que o crescimento do girassol foi reduzido devido à falta de água, independentemente da inoculação. No entanto, em condições ideais de umidade no solo, ambas as bactérias promoveram aumento significativo tanto na massa fresca (31% e 85%) quanto na massa seca (33% e 450%) da parte aérea e das raízes, respectivamente. Além disso, nas plantas sob estresse hídrico e inoculadas, aumentaram os teores de nitrogênio nas folhas.

Avaliando o crescimento na cultura do trigo, Ali et al. (2017) também relatam que *Enterobacter cloacae* (B1) promove crescimento significativo principalmente nas variáveis altura da planta (9,96%), peso fresco (86,78%), peso seco (58,36%), área foliar (53,68%), e das características fisiológicas, como teor de pigmentos de clorofila, além de melhorias nos aspectos de rendimento, como comprimento e número de espigas em comparação com o grupo controle.

Assim como este estudo, diversos outros têm demonstrado a capacidade das bactérias do gênero *Enterobacter* sp. em promover o crescimento de diferentes culturas (SILVEIRA et al., 2004; ICHIWAKI, 2012; SOUZA et al., 2019; ANZUAY et al., 2023).

Na análise das raízes do BRS Diamante e BRS Sol Bahia, observou-se que diferentes tratamentos resultaram em efeitos diversos no comprimento das raízes nas diversas classes de diâmetros. Para o BRS Diamante, os tratamentos (BAC25, BAC406, BAC222, mix BAC25 + BAC222 e o mix triplo) favoreceram o crescimento das raízes com diâmetro superior a 1,0 mm, enquanto para o BRS Sol Bahia, os tratamentos (BAC25 e mix BAC25 + BAC406) mostraram melhorias em diversas faixas de diâmetro, incluindo os menores e os maiores que 1,0 mm.

Além disso, os resultados indicam que os tratamentos tiveram um efeito positivo no crescimento das raízes mais grossas, especialmente aquelas com diâmetro superior a 1,0 mm. Essas raízes desempenham um papel crucial na

sustentação e estabilidade da planta, além de serem responsáveis pela absorção de pequenas quantidades de água e nutrientes (WILCOX et al., 2004). Portanto, os tratamentos podem influenciar positivamente no desenvolvimento radicular, contribuindo para um melhor crescimento das plantas.

Em conformidade com os resultados obtidos, Jasim et al. (2013) descobriram duas espécies endofíticas de *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp., isoladas da pimenta-do-reino, demonstrando capacidade para estimular o crescimento de plantas de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.), resultando em um aumento no comprimento tanto da parte aérea quanto das raízes. Da mesma forma, Shankar et al. (2011) observaram que *Enterobacter cloacae* GS1 colonizou raízes de arroz, resultando em um aumento significativo no comprimento da raiz em comparação com o controle não inoculado.

No entanto, é importante ressaltar que, apesar das diferenças observadas entre os tratamentos, não houve diferença significativa em relação ao comprimento total das raízes para o BRS Diamante, enquanto o isolado BAC25 foi o mais eficaz em promover aumento no comprimento total das raízes para o BRS Sol Bahia. Esses resultados indicam que bactérias do gênero *Enterobacter* sp. apresentam potencial de promoção de crescimento para mudas de abacaxi do BRS Diamante e BRS Sol Bahia.

Quanto aos resultados da análise destrutiva do sistema radicular e parte aérea das mudas de abacaxizeiro BRS Diamante e BRS Sol Bahia submetidas ao processo de microbiolização in vivo, foi observada diferenças significativas entre os tratamentos avaliados.

Ficou evidente que a comparação entre os dois híbridos revelou diferenças significativas em relação à massa fresca e massa seca da parte aérea e das raízes em resposta aos diferentes tratamentos bacterianos. Os resultados indicam que diferentes isolados e suas combinações de bactérias podem ter efeitos positivos distintos no crescimento da parte aérea e das raízes dos híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia. Essas variações podem ser influenciadas por fatores específicos das plantas com os isolados.

O tratamento BAC406 foi o mais eficaz em proporcionar maior incremento de ganhos de massas fresca e massa seca da parte aérea e da raiz para os dois híbridos. Assim como, este isolado também proporcionou maiores

resultados em resposta ao comprimento de raiz nas diferentes classes de diâmetros, tanto para o BRS Diamante quanto para o BRS Sol Bahia.

Os resultados da análise das raízes também indicaram que os diâmetros mais representativos foram observados na classe 0,25 < D < 0,5 para ambos os híbridos. Esses dados, estão de acordo com a literatura, pois raízes dentro dessa faixa de diâmetro são frequentemente associadas a uma maior capacidade de absorção de água e nutrientes (WILCOX et al., 2004).

No que se refere ao comprimento total das raízes, o mix BAC25 + BAC406 resultou em maior aumento no comprimento total das raízes para o BRS Diamante, isso sugere que a combinação desses dois isolados bacterianos pode ter uma interação sinérgica que promove um crescimento radicular mais vigoroso neste híbrido específico. Por outo lado, para o BRS Sol Bahia, o controle foi o mais eficaz, embora não tenha se diferenciado do isolado BAC406. Isso indica que, embora o BRS Sol Bahia, tenha mostrado crescimento sem a necessidade da inoculação de bactérias, ainda é importante considerar os benefícios potenciais deste isolado para o desenvolvimento da planta.

Neste sentido, os resultados indicam que os diferentes híbridos de abacaxizeiros respondem de forma distinta aos tratamentos, a seleção adequada de isolados e suas combinações pode ser crucial para otimizar o crescimento e desenvolvimento das mudas, contribuindo para a melhoria da produção e qualidade das plantas de abacaxi.

No entanto, novos estudos são necessários para uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes aos efeitos benéficos observados no desenvolvimento do sistema radicular. Além disso, é essencial otimizar ainda mais os protocolos de microbiolização para atender às necessidades específicas de diferentes variedades de abacaxi.

CONLUSÃO

- O tratamento BAC25 foi o mais eficaz na promoção de incremento de ganhos de massas fresca e seca da parte aérea e da raiz para os dois híbridos, a partir de mudas microbiolizadas in vitro;

- O tratamento BAC406 apresentou efeitos satisfatórios para todas as variáveis avaliadas para o BRS Diamante, após microbiolização in vitro;
- O tratamento BAC406 promoveu maior incremento para massa fresca e massa seca da parte aérea e da raiz, e ainda, proporcionou melhores resultados para o comprimento total das raízes, após as mudas serem submetidas a microbiolização in vivo;
- Os diâmetros D > 1,0 e 0,25 < D < 0,5 foram os mais representativos para os híbridos BRS Diamante e BRS Sol Bahia, após a microbiolização in vitro e in vivo, respectivamente.

REFERÊNCIAS

ALI, B.; ELSAYED, B.; METWALY, M.; SHOKRY, M. E-G. Solubilização de fosfato por *Enterobacter cloacae* e seu impacto no crescimento e produtividade de plantas de trigo. Revista de Ciências Agrícolas Sustentáveis, v. 2, p. 89-103, 2017.

ANZUAY, M. S.; PRENOLLIO, A.; LUDUENÃ, L. M.; MORLA, F. D.; CERLIANI, C.; LUCERO, C.; ANGELINI, J. G.; TAURIAN, T. *Enterobacter* sp. J49: A native plant growth-promoting bacteria as alternative to the application of chemical fertilizers on peanut and maize crops. **Current Microbiology**, v. 80, n. 3, p. 85, 2023.

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. P.; SMITH, R. B. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar vitória durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa**,** v. 34**,** p.349-360, 2010.

BATISTA, K.; MONTEIRO, F. A. Sistema radicular do capim-Marandu, considerando as combinações de doses de nitrogênio e de enxofre. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 821-828, 2006.

COPE-SELBY, N.; COOKSON, A.; SQUANCE, M.; DONNISON, I.; FLAVELL, R.; FARRAR, K. Endophytic bacteria in Miscanthus seed: implications for germination, vertical inheritance of endophytes, plant evolution and breeding. **GCB Bioenergy**, v. 9, n. 1, p. 57–77, 2017.

EKERN, P.C. Evapotranspiration of pineapple in Hawaii. **Plant Physiology**, Washington, v.40, p.736-739, 1965.

FARIA, D. C. **Desdnvolvimento e produtividade do abacaxizeiro 'smooth cayenne' em função de adubação nitrogenada e tipos de mudas no norte fluminense.** Campos dos Goytacazes. Tese (Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2008.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GUDDANTI, S. & CHAMBERS, J. L. **GSRoot automated root length measurement program, version 5.00; user's manual**. Louisiana, Louisiana State University, 1993.

ICHIWAKI. S. **Efeitos da inoculação de Enterobacter sp. ICB481 sobre o crescimento e acúmulo protéico em plântulas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) submetidas a fertilização orgânica e convencional.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 85, 2012.

INFORZATO, R.; GIACOMELLI, E.J.; ROCHELLE, L.A. Sistema radicular do abacaxizeiro, aos 4, 8 e 12 meses, plantado no início da estação sêca, em solo Latosol Vermelho Escuro-Orto. **Bragantia**, Campinas, v.27, p.135-141, 1968.

JASIM, B., JIMTHA, C. J., JYOTHIS, M., & RADHAKRISHNAN, E. K. Plant growth promoting potential of endophytic bacteria isolated from Piper nigrum. **Plant Growth Regulation**, v. 71, n. 1, p. 1-11, 2013.

KHAN, M. A.; GEMENET, D. C.; VILLORDON, A. Root system architecture and abiotic stress tolerance: Current knowledge in root and tuber crops. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, n.1587, p. 1–13, 2016.

KOPPEN, W. Das ***geographische*** system der ***klimate***. In: KOPPEN W.; GEIGER, R, (Ed,) Handbuch der klimatologie, v. 1, Gebrfider Borntraeger: Berlin, Germany, 1936.

LANDAU, E. C., DA SILVA, G. A. **Evolução da Produção de Abacaxi (*Ananas comosus*, Bromeliaceae).** Brasília, 2020.

MASHALY, G. E.-S.; MASHALY, M. E.-S. Colistin-heteroresistance in carbapenemase-producing *Enterobacter* species causing hospital-acquired infections among Egyptian patients. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 24, p. 108-113, 2021.

PIERRET, A.; GONKHAMDEE, S.; JOURDAN, C.; MAEGHT, J. IJ_Rhizo: an open-source software to measure scanned images of root samples. **Plant and Soil,** v. 373, n. 1-2, p. 531–539, 2013.

POLLI, A.; NEVES, A. F. das; GALO, F. R.; GAZARINI, J.; RHODEN, S. A.; PAMPHILE, J.A. Aspectos da interação dos microrganismos endofíticos com plantas hospedeiras e sua aplicação no controle biológico de pragas na agricultura. SaBios: **Rev. Saúde e Biol**., v.7, n.2, p.82-89, 2012.

PRUSAKOV, P.; GOFF, D. A.; WOZNIAK, P. S. et al. A global point prevalence survey of antimicrobial use in neonatal intensive care units: The no-more-antibiotics and resistance (NO-MAS-R) study**. EClinicalMedicine**, v. 32, 100727, 2021.

RYAN, R. P.; GERMAINE, K.; FRANKS, A.; RYAN, D. J.; DOWLING, D. N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. **FEMS Microbiol Lett,** v. 278, p. 1–9, 2008.

SANTOS, J. F. dos; SACRAMENTO, B. L. do; MOTA, K. N. A. B.; SOUZA, J. T. de; NETO, A. D. de A. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. **Pesq. Agropec. Trop.,** v. 44, n. 2, p. 142-150, 2014.

SHANKAR, M.; PONRAJ, P.; ILAKKIAM D.; GUNASEKARAN, P. Colonização radicular de uma cepa de *Enterobacter cloacae* promotora de crescimento de arroz. **Revista de Microbiologia Básica**, v. 5, pág. 523-530, 2011.

SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A; MARIANO, R. L. R.; SILVA NETO, E. B. Bacterização de sementes e desenvolvimento de mudas de pepino. **Horticultura Brasileira,** v.22, n.2, p.217-221, 2004.

SILVA, P. O. S. da.; SOUZA, C. P. F.; FERREIRA, C. F.; SOUZA, F. V. D.; OLIVEIRA, S. A. S. de. Functional microbiome of *Ananas* spp. as growth-promoting agent in pineapple BRS Imperial. **Scientia Horticulturae**, v. 321, p. 112271, 2023.

SINGH, S., SINGH, V. & PAL, K. Importance of microorganisms in agriculture. **Climate and Environmental changes: Impact, Challenges and Solutions**, v. 1, p. 93-117, 2017.

SOUZA, B. R. de, PEIXOTO, J. DE S. G., MARINHO, S. DE A. S., BRAGA, S. C.; ANTERO, R. V. P. Estímulo da atividade das H+-ATPases por *Enterobacter* sp. em mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess (guanandi). **Journal of Biotechnology and Biodiversity,** v. 7, n. 3, p. 347–355, 2019.

SOUZA, C. P. F. **Estudo do microbioma associado ao gênero *Ananas*.** 2021. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2021.

TEIXEIRA, L.A.J.; SPIRONELLO, A.; FURLANI, P.R.; SIGRIST, J.M.M. Parcelamento da adubação NPK em abacaxizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.219-224, 2002.

VEJAN, P., ABDULLAH, R., KHADIRAN, T., ISMAIL, S. & BOYCE, A. N. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 673-693, 2016.

WILCOX, C. S.; FERGUSON, J. W.; FERNANDEZ, G. C. J.; NOWAK, R. S. Fine root growth dynamics of four Mojave Desert shrubs as related to soil moisture and microsite. **Journal of Arid Environments**, v. 56, p. 129–148, 2004.