



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ESDRAS DE SOUZA FERREIRA

**Influência do cocultivo de bactérias promotoras de crescimento no  
desenvolvimento morfofisiológico de *Canistrum aurantiacum*  
(Bromeliaceae)**

RECIFE-PE

2024

ESDRAS DE SOUZA FERREIRA

**Influência do cocultivo de bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento morfofisiológico de *Canistrum aurantiacum* (Bromeliaceae)**

Monografia apresentada por Esdras de Souza Ferreira ao colegiado de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva  
Co-orientadora: MSc. Henarmmany Cristina Alves de Oliveira

RECIFE-PE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- F383i Ferreira, Esdras de Souza  
Influência do cocultivo de bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento morfofisiológico de *Canistrum aurantiacum* (Bromeliaceae) / Esdras de Souza Ferreira. - 2024.  
28 f. : il.
- Orientadora: Claudia Ulisses de Carvalho Silva.  
Coorientadora: Henarmmany Cristina Alves de Oliveira.  
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Bacharelado em Ciências Biológicas, Recife, 2024.
1. Mata Atlântica. 2. Bacillus. 3. Estratégia de conservação. I. Silva, Claudia Ulisses de Carvalho, orient.  
II. Oliveira, Henarmmany Cristina Alves de, coorient. III. Título

ESDRAS DE SOUZA FERREIRA

**Influência do cocultivo de bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento morfofisiológico de *Canistrum aurantiacum* (Bromeliaceae)**

Monografia apresentada por Esdras de Souza Ferreira ao colegiado de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Data de Aprovação: 07/ 03/ 2024

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claudia Ulisses de Carvalho Silva - UFRPE  
Orientadora

---

Dr<sup>a</sup>. Lindomar Maria de Souza - CRCN  
Titular

---

Msc. Larisse Bianca Soares Pereira Nunes - UFRPE  
Titular

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flávia Carolina Lins da Silva - UFRPE  
Suplente

RECIFE-PE

2024

## RESUMO

A reintrodução de espécies vulneráveis, é uma prática comum na conservação e restauração ecológica, visando combater os desafios decorrentes da fragmentação de habitats e das mudanças climáticas. No entanto, na maioria das vezes, as tentativas de reintrodução de espécies nativas, como a *Canistrum aurantiacum*, enfrentam dificuldades no estabelecimento de populações reprodutivas duradouras. Uma abordagem promissora para melhorar o sucesso dessas reintroduções é o cocultivo com bactérias promotoras de crescimento (BPC's), que podem beneficiar o desenvolvimento das plantas em várias etapas do cultivo. Este estudo buscou avaliar o impacto do cocultivo de BPCs no crescimento e desenvolvimento de plântulas de *C. aurantiacum*. O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação anexa ao Laboratório de Fisiologia de Plantas (LFP) do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE. Sementes de *C. aurantiacum* foram semeadas em bandejas contendo substrato orgânico e areia lavada em casa de vegetação. Após 90 dias, as plantas foram transplantadas para recipientes contendo uma mistura de substrato orgânico e areia, esterilizados previamente. Foram utilizados cinco tratamentos de BPC's, compostos por bactérias do gênero *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. megaterium* e *B. cereus*, mix e controle), com 10 repetições cada. As plantas foram inoculadas com suspensão bacteriana ou água deionizada estéril (controle) e mantidas sob essas condições por 64 dias. Foram realizadas análises biométricas, biomassa e o teor de clorofila total ao longo do experimento. Os dados obtidos foram analisados via ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey 5%. No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos em relação às variáveis analisadas. Os resultados indicam que a inoculação de BPC's não teve um efeito significativo no crescimento e no conteúdo de clorofila de *C. aurantiacum* durante o período de estudo. Esse resultado sugere que outros fatores, como interações interespecíficas entre plantas e microrganismos, podem ter influenciado o desenvolvimento das plantas. Portanto, mais pesquisas são necessárias para melhor compreensão sobre a eficácia do cocultivo de BPC's como uma estratégia de manejo para espécies vulneráveis em programas de reflorestamento.

Palavras-chave: Mata Atlântica; *Bacillus*; Estratégia de conservação.

## ABSTRACT

The reintroduction of vulnerable species is a common practice in ecological conservation and restoration, aiming to address the challenges arising from habitat fragmentation and climate change. However, reintroduction attempts of native plants, such as *Canistrum aurantiacum*, often encounter difficulties in establishing lasting reproductive populations. A promising approach to improve the success of these reintroductions is co-cultivation with growth-promoting bacteria (GPBs), which can benefit plant development at various stages of cultivation. This study sought to evaluate the impact of GPB co-cultivation on the growth and development of *C. aurantiacum* seedlings. The experiment was conducted in a greenhouse attached to the Plant Physiology Laboratory (LFP) at the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Recife-PE. Seeds of *C. aurantiacum* were sown in trays containing organic substrate and washed sand. After 90 days, the plants were transplanted into containers containing a mixture of organic substrate and sand, previously sterilized. Five GPB treatments, including a control, with 10 replicates each, were used. The plants were inoculated with bacterial suspension or sterile deionized water and maintained under these conditions for 64 days. Biometric and total chlorophyll content analyses were conducted throughout the experiment. The data obtained were analysed using ANOVA, and the means were compared employing the Tukey test at a 5% significance level. However, no significant differences were observed between the treatments regarding these variables. The results indicate that GPB inoculation had no significant effect on the growth and chlorophyll content of *C. aurantiacum* during the study period. This finding suggests that other factors, such as interspecific interactions between plants and microorganisms, may have influenced plant development. Therefore, further research is needed to better understand the effectiveness of GPB co-cultivation as a management strategy for vulnerable species in reintroduction programs.

**Keywords:** Atlantic Forest; *Bacillus*; Conservation strategy.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>8</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
3.2 Específicos.....	13
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
4.1 Material vegetal e condições experimentais .....	14
4.2 Análises.....	15
4.2.1 <i>Biométricas e de teor de clorofila</i> .....	15
4.2.2 <i>Estatística</i> .....	16
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>23</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Domínio Fitogeográfico da Mata Atlântica (DFMA) destaca-se como um dos ecossistemas mais propensos à fragmentação, degradação de habitats e pressões climáticas ambientais. Essa suscetibilidade está intimamente associada ao risco de extinção de diversas espécies de plantas nativas, promovendo a redução direta na biodiversidade florística local (BRANCO et al. 2021). Uma das famílias de plantas mais ameaçadas da Mata Atlântica é a Bromeliaceae A. Juss. (MARTINELLI et al., 2013), que devido ao seu papel de importância ecossistêmica torna-se relevante a busca por estratégias de preservação dessas espécies.

Do ponto de vista funcional ecológico, as bromélias desempenham um papel crucial ao prover recursos essenciais para a sobrevivência de diversos outros organismos, principalmente em função da sua capacidade de armazenar água, criando micro habitats exploráveis por inúmeras espécies animais e vegetais (MARCELLE et al., 2014). Logo, a sua preservação contribui para a manutenção da biodiversidade e influencia positivamente na estabilidade do ecossistema como um todo.

Além da sua importância ecossistêmica, as bromélias apresentam alto potencial ornamental e paisagístico significativo, impulsionando um interesse econômico crescente nessas plantas, o que tem agravado o extrativismo predatório dessas espécies, especialmente as nativas. Somada a ameaça de desaparecimento por extrativismo ou desmatamento, algumas espécies pertencentes à família Bromeliaceae ocupam ambientes de alcance limitado, distribuídas em pequenos agrupamentos populacionais. Um exemplo é a *Canistrum aurantiacum* E.Morren, endêmica da região Nordeste do Brasil e com ocorrência exclusiva nos estados de Alagoas, Paraíba e Pernambuco (LEME 1997; SIQUEIRA; MACHADO 2001).

O cenário de fragmentação e degradação de habitats, aliados a pressões climáticas e populações restritas, conferiu a *C. aurantiacum* a classificação de "Em Perigo" na lista da Flora do Brasil (CNCV) (2023). Assim, é relevante o estudo de estratégias que facilitem a reintrodução dessas espécies com melhor condicionamento fisiológico que permita seu crescimento e desenvolvimento no

ambiente natural, contribuindo com a preservação da espécie, evitando o seu desaparecimento.

Dentre as estratégias de condicionamento de mudas e/ou plântulas, o cocultivo de microorganismos promotores de crescimento tem se destacado, pois contribuem significativamente no crescimento e o desenvolvimento das plantas, tais como as bactérias promotoras de crescimento (BPC's), as quais já vem sendo amplamente discutido em espécies de interesses agrícolas (LIMA et al. 2016; COSTA et al. 2019), mas ainda pouco descrito para espécies de interesse ecológico, buscando a preservação e/ou conservação.

As BPC's podem favorecer um maior crescimento e desenvolvimento das estruturas vegetais através de mecanismos que incluem, fixação e regulação de nutrientes essenciais, produção de reguladores vegetais e proteção contra estresse bióticos e/ou abióticos (OLANREWAJU et al., 2017; GUL et al., 2023). Bactérias do gênero *Bacillus* estão entre as mais utilizadas na promoção do aumento no desenvolvimento de muitas espécies de plantas (FREZARIN et al. 2023; VESELOVA et al. 2022) .

Com o objetivo de avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras de crescimento (BPCs) na morfofisiologia de mudas de *Canistrum aurantiacum*, este trabalho busca a rustificação das mudas para posterior reintrodução em ambientes naturais.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A crescente degradação e fragmentação de habitats ocorridas nas últimas décadas no Domínio Fitogeográfico da Mata Atlântica (DFMA) vem ameaçando a sua biodiversidade, aumentando o risco de extinção de espécies (BRANCO et al., 2021). O DFMA ocupava originalmente, áreas extensas e contínuas, estendendo-se desde a costa brasileira, adentrando a região Nordeste da Argentina e o Leste do Paraguai, sendo considerada a segunda maior floresta tropical no continente Americano (Fundação SOS Mata Atlântica & INPE, 2001). Devido à riqueza de espécies endêmicas, contando com cerca de 8.000 plantas, o DFMA é considerado um dos *hotspots* mundiais da biodiversidade (MYERS et al., 2000).

De acordo com os dados atuais do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), apenas 12,4% de cobertura de mata bem conservada ainda persiste (INPE,

2023). No entanto, é um dos ecossistemas mais ameaçados, devido à fragmentação de habitat, que resulta na redução da sua área e facilita a ação de extrativistas predatórios de espécies nativas. Suas principais finalidades abrangem fins industriais, madeireiros e ornamentais, sendo o último apontado como a principal causa de desaparecimento de espécies em ecossistemas de DFMA (FORZZA et al., 2013). O uso de plantas ornamentais para fins decorativos e paisagísticos muitas vezes ocorre de forma insustentável, premissa que leva ao desaparecimento gradativo de muitos grupos biológicos de relevância funcional para o funcionamento do ecossistema (NEGRELLE, et. al., 2012).

As espécies da família Bromeliaceae exibem um notável valor estético e exercem um papel essencial no equilíbrio ecológico dos ecossistemas da DFMA, devido ao papel fundamental na conservação de nichos ecológicos em diversos ambientes, inclusive no DFMA, onde, apresentam um papel crucial ao fornecerem diversos serviços ecossistêmicos, oferecendo abrigo e recursos essenciais para a sobrevivência e desenvolvimento de outros organismos (JORGE et al., 2020).

Muitas bromélias mantêm algum tipo de interação ecológica com organismos de outros grupos biológicos, incluindo aves que utilizam seus frutos e flores para alimentação, suas folhas como local de forrageio, no caso dos insetívoros (ROCHA, 2023), anfíbios que utilizam a água de seus tanques para reprodução e desenvolvimento larval (JORGE et al., 2020), aracnídeos, formigas, vespas, abelhas, beija-flores e outros (MARCELLE et al., 2014). Contudo é considerada uma das famílias mais afetadas pela perda de habitat e exploração predatória, devido principalmente ao interesse ornamental e paisagístico, onde muitas espécies desta família estão sob o risco de extinção (MARTINELLI et al., 2013).

Alguns estudos indicam a ocorrência de uma relação entre tamanho da bromélia e a riqueza de outras espécies associadas a elas, onde, quanto maior o desenvolvimento da bromélia maior a diversidade de espécies encontradas, realizando algum tipo de interação biológica (OLIVEIRA & ROCHA, 1997; RICHARDSON, 1999).

Isso ocorre principalmente em função da sua capacidade de armazenar água, promovida pela disposição das suas folhas em forma de roseta, criando micro habitats exploráveis por inúmeras espécies animais e vegetais, seja como abrigo, alimentação, sítio de reprodução ou água para a sua própria manutenção (ROCHA,

2004). A extinção de espécies de Bromeliaceae em regiões naturais de DFMA, pode acarretar na redução das interações ecológicas, aumentando o risco de extinção em grande parte da sua biodiversidade. Os gêneros *Aechmea*, *Canistrum*, *Cryptanthus*, *Dyckia*, *Neoregelia*, *Nidularium*, *Vriesea* estão entre os classificados em estado criticamente ameaçados de extinção (CNCF, 2023).

O gênero *Canistrum* foi descrito por Édouard Morren em 1873, a partir do representante *Canistrum aurantiacum* e apresenta distribuição restrita aos Estados de Pernambuco, Alagoas, Bahia e Espírito Santo, sendo a DFMA um dos principais locais de endemismo brasileiro (LEME, 1997) e está entre os mais afetados pelas perdas de habitat e extrativismo predatório para uso ornamental na região de DFMA do Nordeste do Brasil (MARTINELLI, 2008). Com cerca de 13 espécies endêmicas, *C. aurantiacum* destaca-se pela restrita ocorrência apenas nos Estados de Alagoas Paraíba e Pernambuco, sendo exclusiva do Nordeste do Brasil (CNCF, 2023), restrita a Floresta Atlântica litorânea e nos brejos de altitude no semiárido (LEME 1997; SIQUEIRA; MACHADO 2001).

*C. aurantiacum* apresenta hábitos herbáceos ou arbustivos (FERRAZ; RODAL, 2008), epifíticos ou terrícolas (WANDERLEY et al., 2009). Suas folhas medem de 50 – 150 cm de comprimento, sua inflorescência cupuliforme, apresentam brácteas em um tom vermelho intenso (FLORA e FUNGA do BRASIL, 2023), e podem chegar a um volume médio de 29 mL de néctar, servindo como atrativo para muitos polinizadores vertebrados e invertebrados (Figura 1). A espécie foi registrada com início de floração no período entre o final de outubro até meados de fevereiro, apresentando pico de floração no mês de dezembro (SIQUEIRA; MACHADO, 2001). Devido às suas características, principalmente florais, *C. aurantiacum* é de alto interesse para o uso ornamental e paisagístico. O extrativismo ilegal vem promovendo o desaparecimento da espécie nas regiões de sua ocorrência natural (CNCF, 2023).

Figura 1 – Inflorescência de *Canistrum aurantiacum*.



Fonte: Ester Santos, 2023.

Segundo o Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCF) (2023), a espécie *C. aurantiacum* está classificada como “Em Perigo” (EN) desde o ano 2012, quando foi avaliada. Apresentando distribuição em uma área de 164 km<sup>2</sup>, com aproximadamente 20 subpopulações, estimativas populacionais indicam que cada subpopulação está formada por cerca de 50 indivíduos, totalizando aproximadamente 1.000 no total. Além disso, as regiões onde se encontram passam por redução em sua área, promovida pelo alto grau de desmatamento e fragmentação (CNCF, 2023).

Diante da importância da espécie para a conservação da flora, o funcionamento do ecossistema e considerando seu risco de desaparecimento, é importante ressaltar a necessidade de estratégias para a conservação desses organismos. Seja conservação *in situ*, como a conservação das espécies em áreas de ocorrência natural, ou *ex situ*, fora do seu habitat natural, no caso da conservação em acervos e viveiros de Jardins botânicos. Uma das estratégias utilizadas para conservação é a reintrodução de espécies ameaçadas ao seu habitat de ocorrência natural. Isso requer indivíduos que apresentem um bom desenvolvimento morfofisiológico e sejam rustificados frente às alterações ambientais e possíveis patógenos encontrados no local de reintrodução.

Uma das alternativas que pode ser utilizada para conservar espécies nativas ameaçadas, é o cocultivo com microrganismos promotores de crescimento. Esse cocultivo pode atuar positivamente em todas as etapas de cultivo, melhorando a absorção de água, de nutrientes, contribuindo de maneira significativa no crescimento, desenvolvimento e conseqüentemente protegendo contra estresses

ambientais bióticos e/ou abióticos (SUBRAMANIAM et al. 2020; SUNITA et al. 2020).

A iniciativa pode antecipar a associação natural, já realizada pelas plantas, dando-as maiores chances de sobrevivência, não as deixando vulneráveis pós-reintrodução no ambiente natural. Além disso, é possível que o cocultivo colabore na perpetuação da espécie, reduzindo as chances do seu desaparecimento.

Um desses microrganismos são as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPC's), no cocultivo com espécies de interesse agrícola é amplamente descrito e pode promover um aumento na produção de biomassa das plantas envolvidas no processo de inoculação (LIMA et al. 2016; COSTA et al. 2019; SOUSA et al. 2018).

As BPC's agem como biofertilizantes e bioestimulantes vegetais, responsáveis por promover um maior crescimento na parte aérea, comprimento e número de raízes nas espécies de interesse comercial estudadas, por exemplo, variedades de feijão-fava (*Vicia faba* L.), plântulas de oliveira (*Olea europaea* L.), mudas de arroz (*Oryza sativa* L.), mudas de canola (*Brassica sp.* L.), plântulas de milho (*Zea mays* L.) (LIMA et al. 2016; COSTA et al. 2019; SOUSA et al. 2018; GOMES et al. 2018; DARTORA, et al. 2016), onde todos eles apresentaram melhor grau de desenvolvimento, quando comparados às plantas controle, ou seja, as plantas que não foram cocultivadas com BPC's.

As BPC's utilizam de mecanismos que facilitam o crescimento e desenvolvimento, um deles é a síntese de reguladores de crescimento vegetais como auxinas, citocininas, giberelinas (OLANREWAJU et al., 2017). Assim como a enzima aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase, sua importância se dá devido ao seu papel na modulação dos 3 níveis de etileno nas plantas.

O etileno é um hormônio vegetal gasoso liberado em resposta a vários estímulos abióticos/bióticos internos e ambientais que regulam diversos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas (PEI et al., 2017). Também foi comprovado que os microorganismos associados às plantas produzem diferentes metabólitos que reduzem a condição de estresse abiótico (GUL et al. 2023). Os gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Azospirillum* são uns dos representantes mais empregados na promoção do crescimento vegetal, no controle de fitopatógenos e na tolerância de estresses abióticos e bióticos em muitas culturas vegetais (NUMAM et al. 2018).

O cultivo com as BPC's do gênero *Bacillus* associadas a cultura de amendoim comercial (*Arachis hypogaeae*) em ambiente protegido, ou seja, em casa de vegetação, foi possível observar um maior acúmulo nutrientes, especialmente nitrogênio na parte aérea e fósforo nas raízes das plantas cocultivadas (FREZARIN et al. 2023).

Em plântulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) cocultivadas com cepas bacterianas de *Bacillus subtilis*, apresentaram um maior crescimento vegetativo e produtividade. Além de modular o balanço hormonal, estimulada pela resistência sistêmica induzida, promovendo a defesa contra patógenos virais (VESELOVA et al. 2022). As BPCs *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*, são capazes de estimular o crescimento vegetal, aumentar a fixação de nitrogênio, solubilizar fósforos retidos no solo, produzir sideróforos, atuando no controle de fitopatógenos e aumentando a tolerância a estresses abióticos e bióticos (HASHIM et al. 2019; SANTOS et al. 2021; CAMPOS, et al. 2023).

Embora os estudos sobre este tema sejam abundantes em espécies agronomicamente relevantes, há uma carência significativa de pesquisas direcionadas a espécies de importância ecológica, especialmente aquelas ameaçadas ou em risco de extinção.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

O presente estudo visa avaliar a influência das bactérias promotoras de crescimento (BPC's) no desenvolvimento inicial das mudas da espécie *C. aurantiacum*, com potencial para contribuir com estratégias ecológicas que auxiliem no manejo de espécies vulneráveis ao desaparecimento.

#### **3.2 Específicos**

Investigar o impacto da inoculação de bactérias promotoras de crescimento (BPC's), isoladas e em conjunto, no desenvolvimento vegetativo de mudas *Canistrum aurantiacum*, analisando parâmetros biométricos (número de folhas, altura, desenvolvimento radicular, biomassa fresca e seca) e fisiológico (teor de clorofila).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

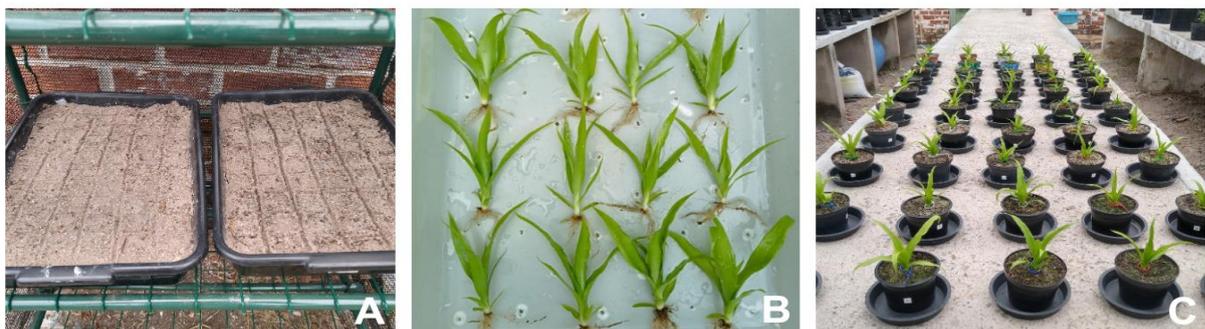
### 4.1 Material vegetal e condições experimentais

O experimento foi conduzido na casa de vegetação anexa ao Laboratório de Fisiologia de Plantas (LFP), ambos pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Sede em Recife - PE (8° 01' 03" S 34° 57' 05" O). As plantas utilizadas neste experimento foram doadas pelo Jardim Botânico do Recife-PE (08°04' e 08°05'S; 34°59' e 34°57" W) e são provenientes do município de Taquaritinga do Norte - PE e do Parque Estadual Dois Irmãos (PEDI), localizado em Recife - PE.

As sementes extraídas do fruto de *C. aurantiacum* foram semeadas em bandejas de 30,2 Larg. x 20,8 Comp. x 6,3 Alt. (cm) contendo uma camada de areia lavada sobre uma camada de substrato orgânico (mistura de esterco bovino e matéria orgânica vegetal) na proporção de 1:1 (Figura 2A). Após 10 dias houve de forma não sincronizada a emergência das plântulas. Essas plântulas foram mantidas em casa de vegetação, receberam rega a cada dois dias, até atingirem 10±2 cm de altura, o que aconteceu com aproximadamente 90 dias após a semeadura (Figura 2B).

Aos 90 dias as plantas foram transplantadas para recipientes contendo 500g de uma mistura de substrato orgânico e areia lavada (1:1) esterilizadas por duas vezes a 120°C por 90 min em autoclave. Durante o transplante as plantas foram subdivididas, e individualizadas, em cinco grupos para compor o esquema experimental (Figura 2C).

Figura 2 – Estádios de desenvolvimento de *C. aurantiacum* em casa de vegetação: (A) Semeadura em bandejas para germinação; (B) Mudanças provenientes de sementes e prontas para o processo de transplante; (C) Mudanças transplantadas em vasos e recebendo os tratamentos compondo o esquema experimental.



Foram utilizadas 3 cepas de BPC's: (1) *Bacillus subtilis*, (2) *Bacillus megaterium* e (3) *Bacillus cereus*, as quais foram avaliadas quanto à atividade isolada, e em conjunto (*B. subtilis*, *B. megaterium* e *B. cereus*), dos organismos promotores de crescimento nas plantas. As cepas supracitadas foram fornecidas pelo Laboratório de Fitobacteriologia da UFRPE. Inicialmente foram cultivadas em caldo nutritivo para o isolamento e cultivo de microrganismos: meio Luria Bertani (LB) suplementado com 10 g L<sup>-1</sup> triptona, 5 g L<sup>-1</sup> extrato de levedura, 10 g L<sup>-1</sup> NaCl e mantidas em caldo nutritivo com 20% de glicerol. As colônias individuais foram transferidas para frascos com capacidade de 100 ml contendo meio de cultura e cultivadas de forma aeróbica em um agitador rotativo (200 rpm) por 48h a 28°C. A suspensão bacteriana foi diluída em água destilada esterilizada até a concentração final de 10<sup>-9</sup> UFC/ml para uso de inoculação, conforme método de Santoro *et al.* (2011).

O experimento foi composto por cinco tratamentos de BPC's: (B0) sem BPC (controle); (B1) *Bacillus subtilis*; (B2) *Bacillus megaterium*; (B3) *Bacillus cereus* e (B4) Mix de BPC's (*B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. cereus*). Foram inseridos 5 mL de suspensão bacteriana na base das plantas, exceto nas plantas testemunhas (controle) que receberam 5 mL de água estéril, onde permaneceram nessas condições por 64 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com um arranjo de 5 tratamentos de BPC's com 10 repetições por tratamento, perfazendo um total de 50 unidades de plantas experimentais.

## 4.2 Análises

### 4.2.1 Biométricas e de teor de clorofila

Durante o período de 64 dias, medidas de altura, número de folhas (avaliações biométricas) e teor de clorofila (avaliações fisiológicas) foram realizadas a cada 7 dias. A altura das plantas foi medida com o auxílio de uma régua. A determinação dos teores de clorofila total foi feita na região mediana na primeira folha totalmente expandida e sadia, utilizando o equipamento portátil SPAD-502. Ao completar os 64 dias, foram coletadas biomassa para avaliação da massa seca da parte aérea e das raízes.

#### 4.2.2 Estatística

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA one-way), respeitando os pré-requisitos (normalidade e homogeneidade), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, usando o software R.

### 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo indicam que não foram encontradas diferenças significativas na altura das plântulas de *C. aurantiacum* entre os tratamentos controle e aquelas submetidas ao cocultivo entre bactérias em nenhum dos períodos avaliados (Figura 3A). Do mesmo modo, em relação ao número de folhas apresentadas durante o desenvolvimento inicial, os diferentes tratamentos de cocultivo também não tiveram diferenças significativas (Figura 3B).

O teor de clorofila total avaliado no período do experimento, através do índice SPAD, mostrou que não houve diferenças significativas entre os tratamentos com as BCP's e o grupo controle (Figura 3C). Não foi constatado diferenças significativas nos parâmetros da biomassa fresca e seca da parte aérea (Figuras 4A e 4B), assim como, na biomassa fresca e seca radicular das plântulas cultivadas (Figuras 5A e 5B).

Figura 3. Avaliações biométricas e fisiológicas no desenvolvimento inicial de *Canistrum aurantiacum* aos 64 dias: Altura (A), número de folhas (B) e índice de clorofila total (C). Médias com letras distintas indicam diferenças entre os tratamentos com e sem bactérias promotoras de crescimento (BPC's), pelo teste de Tukey em  $p \leq 0,05$ .

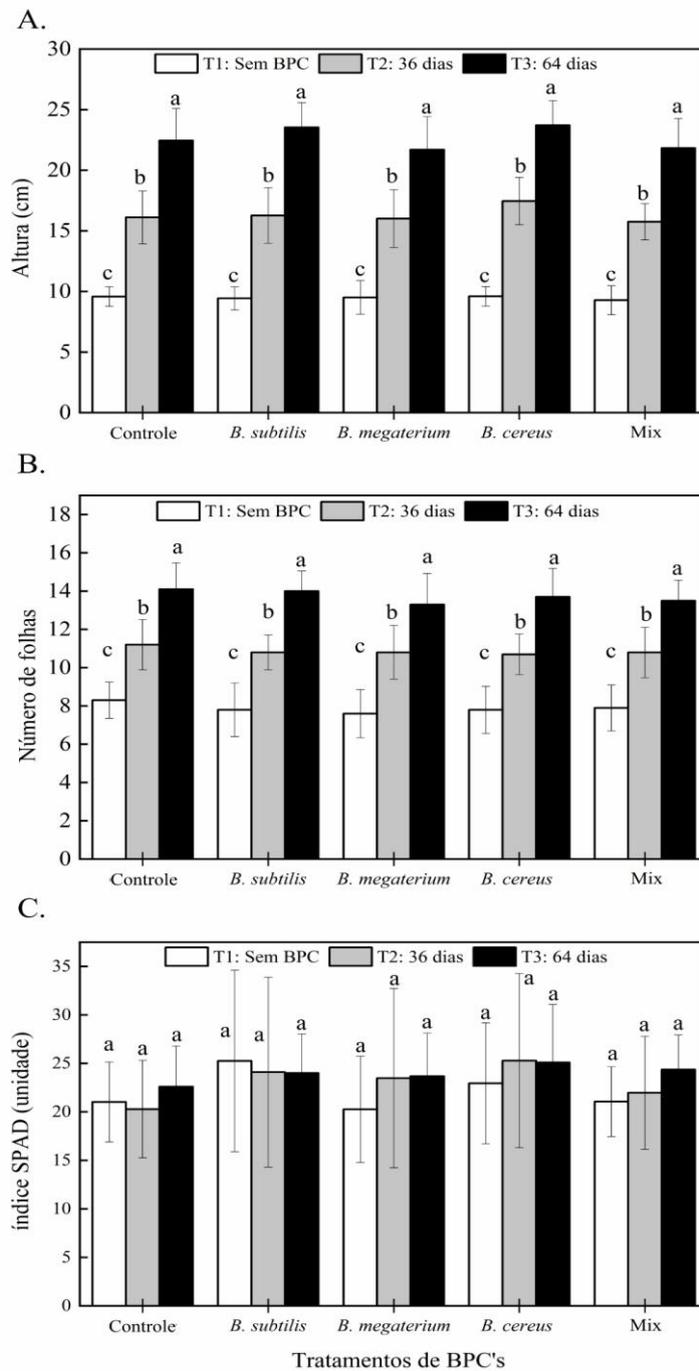
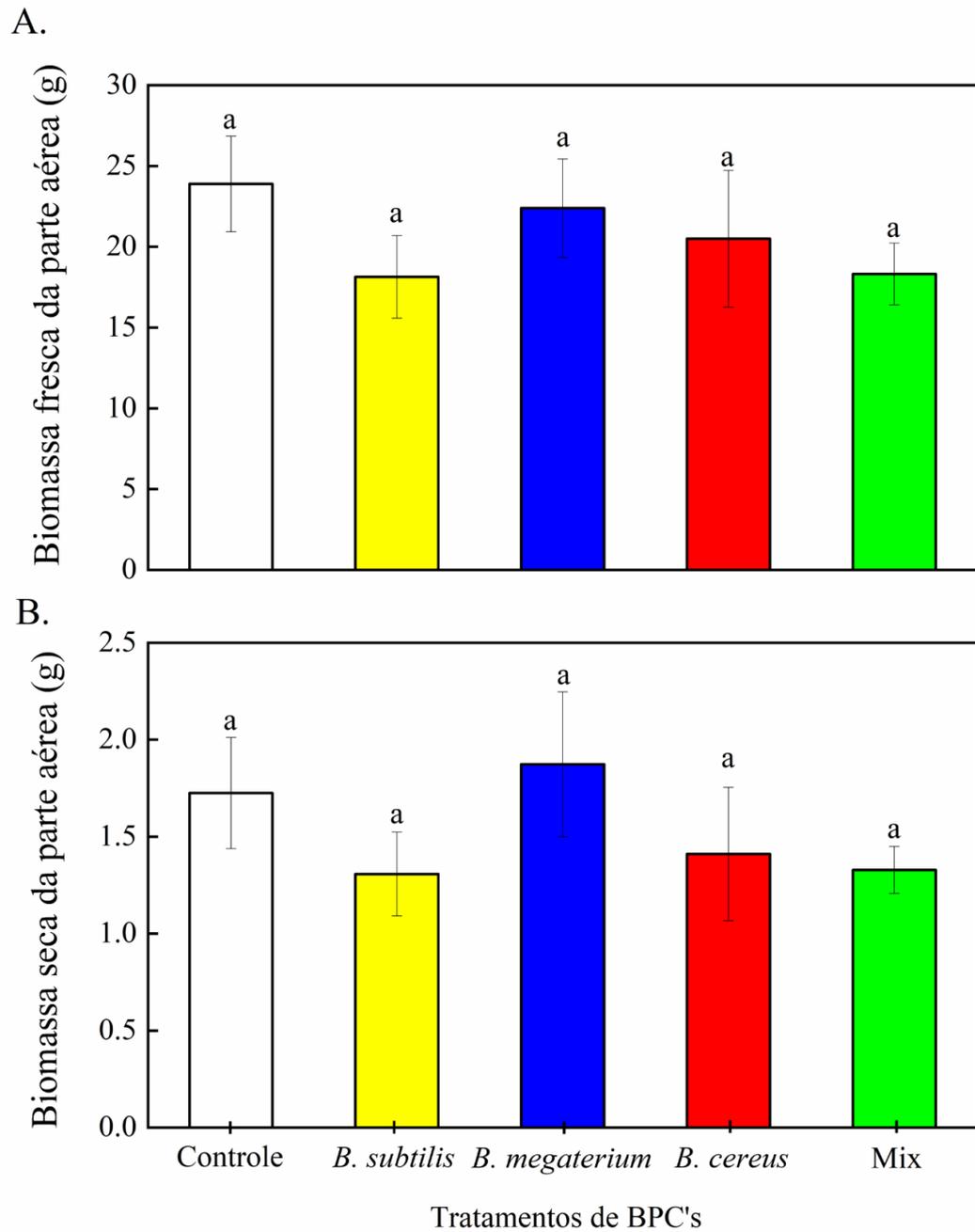
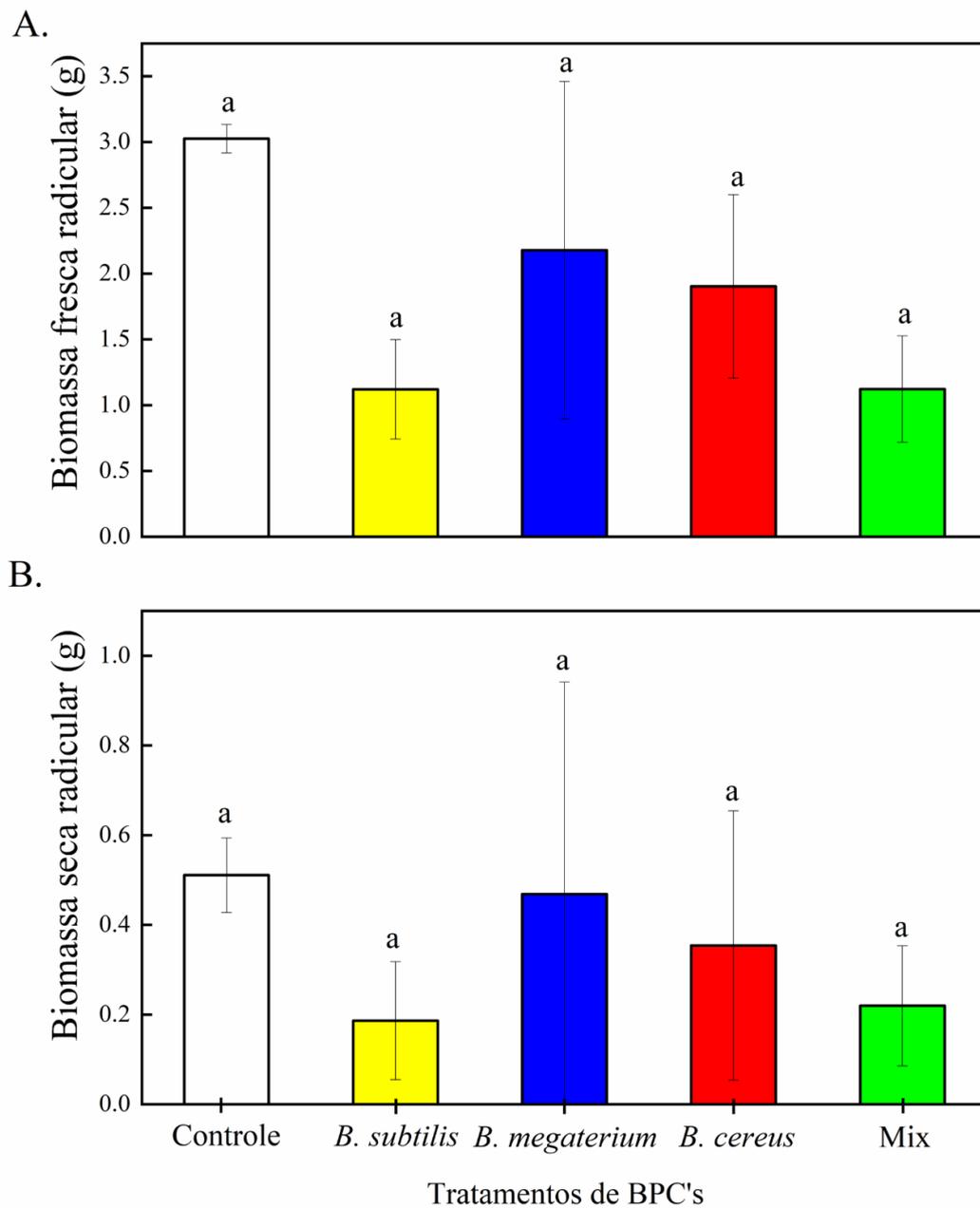


Figura 4. Avaliações da biomassa da parte aérea no desenvolvimento inicial de *Canistrum aurantiacum* aos 64 dias: biomassa fresca (A), biomassa seca (B). Médias com letras distintas indicam diferenças entre os tratamentos com e sem bactérias promotoras de crescimento (BPC's), pelo teste de Tukey em  $p \leq 0,05$ .



**Figura 5.** Avaliações da biomassa radicular de *Canistrum aurantiacum* aos 64 dias: biomassa radicular fresca (A), biomassa radicular seca (B). Médias com letras distintas indicam diferenças entre os tratamentos com e sem bactérias promotoras de crescimento (BPC's), pelo teste de Tukey em  $p \leq 0,05$ .



O cocultivo entre plantas e microrganismos benéficos, como as BPC's, pode ser usado como uma estratégia ecológica para auxiliar o estabelecimento de plantas vulneráveis ao desaparecimento. Essas bactérias podem modificar a dinâmica microbiana do solo ao redor das raízes, influenciando positivamente no aumento da biomassa, no crescimento e desenvolvimento das plantas (VESELOVA et al. 2022). Contudo, no presente estudo, mostrou que o cocultivo entre em *C. aurantiacum* e BPC's do gênero de *Bacillus*, isoladas e em conjunto, tiveram pouca influência sob seu desenvolvimento primário.

A principal hipótese estava baseava na premissa que inoculação com BPC's teria um efeito positivo no desenvolvimento morfofisiológico de *C. aurantiacum* e isso seria refletido na altura das plantas, no maior número de folhas, no melhor desenvolvimento radicular e no conteúdo de clorofila, se comparado a plantas não tratadas, contudo a hipótese foi refutada nas condições estudadas.

Os resultados sugerem que o sucesso do cocultivo entre microrganismos benéficos e plantas, depende não só das interações interespecíficas entre os organismos envolvidos (RAMAKRISHNA et al. 2019), mas também são fortemente influenciados pela condições ambientais e de cultivo, as quais foram submetidas, logo a interação também não pode ser universalmente benéfica para todas as espécies de plantas.

Apesar disso, este estudo é o início das investigações com aplicações de BPC's visando auxiliar plantas como *C. aurantiacum*, uma espécie de bromélia vulnerável ao desaparecimento, obterem melhor robustez fisiológica. Estudos como esses buscam alternativas sustentáveis para auxiliar no estabelecimento de plantas em condições de campo, visando o sucesso no desenvolvimento vegetativo e como consequência a conservação da espécie.

As espécies do gênero *Bacillus* sp. são amplamente conhecidas por apresentarem atividades promotoras de crescimento vegetal, ou seja, melhoram sua morfofisiologia por meio de diversos mecanismos (WANG et al. 2012). A interação entre plantas e microrganismos compreende uma intensa produção de metabólitos secundários dispensados na área de maior atividade microbiana da planta, a rizosfera (KUMAR et al. 2015). A partir daí as BPC's são capazes de estimular o desenvolvimento das plantas de forma direta e indireta.

Os recursos retirados do solo são importantes para o crescimento vegetativo, e, diretamente, as BPC's favorecem a disponibilidade de nutrientes, produção de

fitohormônios e sideróforos, assim estimulam o crescimento vegetal mais saudável (SINGH et al. 2018). Além disso, indiretamente agem na proteção contra doenças e pragas, atuando como biocontrole (VURUKONDA et al. 2018).

Porém, a dependência de uma especificidade no cocultivo entre a planta de interesse e os microrganismos escolhidos, podem determinar o sucesso da interação. Uma vez que, a dinâmica microbiana das BPC's presentes no solo exibem uma certa particularidade associadas à genética da planta cultivada (PEIFFER et al. 2013).

Apesar dos resultados encontrados neste estudo, a crescente procura por métodos ecológicos que estimulem a diversidade de BPC's no cocultivo com plantas, serão capazes de aumentar o conteúdo de informações sobre as relações benéficas entre plantas e microrganismos benéficos, podendo contribuir para a aprimoração dos métodos de cultivo, especialmente considerando plantas vulneráveis ao desaparecimento (RAMAKRISHNA et al. 2019).

Os resultados sugerem que é possível que haja influência significativa na diversidade e especificidade dos microrganismos no cocultivo, e isso é fundamental para o desenvolvimento saudável das plantas, contudo não foi observado influência significativa da aplicação das espécies avaliadas do gênero *Bacillus* em *C. aurantiacum*. Portanto, a pesquisa sobre outros microrganismos benéficos pode ser crucial para estimular um crescimento vegetal favorável na espécie estudada.

Um entendimento mais aprofundado das interações benéficas entre plantas e microrganismos pode auxiliar na implementação do cocultivo como estratégia para a reintrodução e conservação de espécies ameaçadas. Este estudo enfatiza a necessidade de uma abordagem personalizada na aplicação de BPC's em plantas, considerando a adaptabilidade a diferentes ambientes, e ressalta a importância de explorar outras variedades de BPC's. Além disso, a avaliação de outros parâmetros pode fornecer informações relevantes a fim de aprimorar as práticas de cultivo com BPC's e conservação de espécies vulneráveis.

De certo, a interação entre microrganismos benéficos e plantas é essencial para o desenvolvimento vegetal. A melhor compreensão das interações planta-microrganismo, especialmente BPC's, deve considerar a diversidade genética microbiana, especificidade da planta e as condições ambientais, as premissas citadas serão fundamentais para otimizar o cultivo e a conservação de espécies vegetais vulneráveis. Esses estudos podem oferecer contribuições para estratégias

de melhoria no cultivo de *C. aurantiacum* e conseqüentemente favorecer suas reintrodução no ambiente com finalidade de aumentar a biodiversidade vegetal de forma sustentável.

## **6. CONCLUSÃO**

O estudo revelou que a inoculação das espécies de *Bacillus* utilizadas como BPC's não apresentou influência de maneira significativa no crescimento e no conteúdo de clorofila de *C. aurantiacum*. Essa constatação sugere que, apesar das expectativas favoráveis em relação ao cocultivo, a aplicação dessas BPC's não foi eficaz para promover o desenvolvimento da planta nas condições estudadas, indicando a influência por fatores interespecíficos entre plantas e microrganismos e destacando a necessidade de pesquisas adicionais nesse campo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRANCO, A. F. V. C., LIMA, P. V. P. S. L., MEDEIROS FILHO, E. S. DE, COSTA, B. M. G., & PEREIRA, T. P. Avaliação da perda da biodiversidade na Mata Atlântica. **Ciência Florestal**, Santa Maria 31(4), 1885–1909. 12- 2021. <https://doi.org/10.5902/1980509853310>

CAMPOS, T. S. PATRÍCIO, M. P., VIEIRA, G. R., SOUZA, A. M. B. DE., SANTOS, C. H. B., RIGOBELLO, E. C., & PIVETTA, K. F. L. Rhizobacteria in growth and quality of açai seedlings. **Ornamental Horticulture**, Campinas. v. 29(2), p. 208–215. 2023. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v29i2.2596>

CNCFlora. *Canistrum aurantiacum* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 **Centro Nacional de Conservação da Flora**. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Canistrum\\_aurantiacum](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Canistrum_aurantiacum)>. Acesso em 19 abril 2023.

COSTA, S. M. L., & MELLONI, R. Relação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no crescimento de mudas de oliveira (*Olea europaea*). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 29(1), p. 169–180. 04- 2019 <https://doi.org/10.5902/1980509829936>

DARTORA, JANAINA *et al.* Maize Response to Inoculation with Strains of Plant Growth-Promoting Bacteria/Resposta Do Milho a Inoculacao de Estirpes de Bacterias Promotoras Do Crescimento de Plantas. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v. 20.7 p. 606-611, 07-2016.

Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/15270>. Acesso em: 1 ago. 2023.

FERRAZ, E.M.N.; RODAL, M.J.N. Floristic characterization of a remnant ombrophilous montane forest at São Vicente Férrer, Pernambuco, Brazil. **Memoirs of The New York Botanical Garden**, n. 100, p. 468-510. 02-2008.

FORZZA, R. C.; COSTA, A. F.; LEME, E. M. C.; VERSIEUX, L. M.; WANDERLEY, M. G. L.; LOUZADA, R. B.; MONTEIRO, R. F.; JUDICE, D. M.; FERNANDEZ, E. P.; BORGES, R. A. X.; PENEDO, T. S. A.; MONTEIRO, N. P.; MORAES, M. A. Bromeliaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson & Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pp. 315-397. 2013.

FREZARIN ET, SANTOS CHB, SALES LR, DOS SANTOS RM, DE CARVALHO LAL, RIGOBELLO EC. Promotion of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Growth by Plant Growth-Promoting Microorganisms. **Microbiology Research**. São Paulo, v. 14(1),

p. 316-332. 03-2023 <https://doi.org/10.3390/microbiolres14010025>

Fundação SOS DFMA & INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais). **Atlas dos remanescentes florestais da DFMA e ecossistemas associados no período de 1995–2000**. Fundação SOS DFMA e INPE, São Paulo. 2001.

GOMES, D. G., RADI, A. J., & AQUINO, G. S. DE. Bactérias promotoras de crescimento alteram o desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular da canola. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 39(6), p. 2375–2384. 11-2018. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n6p2375>

GUL, N., WANI, IA, MIR, RA *ET AL*. Plant growth promoting microorganisms mediated abiotic stress tolerance in crop plants: a critical appraisal. **Plant Growth Regul** v. 100, p. 7–24. 05-2023. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00951-5>

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ALLAH, E.F.A. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riad, v. 26, p.1291-1297, 09-2019.

HUANG, F.L.; ZHANG, Y.; ZHANG, L.P.; ANG, S.; FENG, Y.; RONG, N.H. Complete genome sequence of *Bacillus megaterium* JX285 isolated from *Camellia oleifera* rhizosphere. **Computacional Biology Chemistry**, v.79, p.1-5, 04-2019. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.12.024>

JORGE JS, SALES RFD, SANTOS RL, FREIRE EMX. Living among thorns: herpetofaunal community (Anura and Squamata) associated to the rupicolous bromeliad *Encholirium spectabile* (Pitcairnioideae) in the Brazilian semi-arid Caatinga. **Zoologia**, Curitiba 37: 1-12. 06-2020. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e46661>

KUMAR, MANOJ & KAUR, AMANDEEP & PACHOURI, CHANDRA & SINGH, JOGINDER. (2015). Growth promoting characteristics of rhizobacteria and AM Fungi for biomass amelioration of *Zea mays*. **Archives of Biological Sciences**. 67. 877-887. <https://doi.org/10.2298/ABS141029047K>.

LEME, E.M.C. **Canistrum - Bromélias da DFMA**. Editora Salamandra, 1997. Lichtenthaler, & Buschmann.

LIMA, EF, DA COSTA NETO, VP, DE ARAÚJO, JM, BONIFÁCIO, A., RODRIGUES, AC. (2016). Varieties of lima beans shows different growth responses when inoculated with *Bacillus* sp., a plant growth-promoting bacteria. **Bioscience**

**journal** v. 32 (5) , pp. 1221-1233. 2016.

MACIEL, J.R. **Canistrum in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB5976>>. Acesso em: 21 abr. 2023

MARCELLE & PREZOTO, FABIO & ABREU, PAULA & MENINI NETO, LUIZ. (2014). Bromélias e suas principais interações com a fauna. **CES Revista**. 28. 3-16.

MARTINELLI, G.; MORAES, M.A. **Livro vermelho da Flora do Brasil**. 1ª edição. Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro; 2013.

MARTINELLI, G., VIEIRA, C. M., GONZALEZ, M., LEITMAN, P., PIRATININGA, A., COSTA, A. F. DA ., & FORZZA, R. C.. (2008). *BROMELIACEAE DA DFMA BRASILEIRA: LISTA DE ESPÉCIES, DISTRIBUIÇÃO E CONSERVAÇÃO*. Rodriguésia, 59(1), 209–258. <https://doi.org/10.1590/2175-7860200859114>

MENDES SOUSA, ISRAEL, ADRIANO STEPHAN NASCENTE, E MARTA CRISTINA CORSI DE FILIPPI. Bactérias promotoras do crescimento radicular em plântulas de dois cultivares de arroz irrigado por inundação. **Colloquium agrariae**, Goiás, v.15 (2), p.140-145. 04-2019.

MYERS, N., R.A. MITTERMEIER, C.G. MITTERMEIER, G.A.B. FONSECA & J. KENT. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** 403: 853-845. 2000

NEGRELLE RRB, ANACLETO A. Extrativismo de bromélias no Estado do Paraná. **Ciência Rural**; v. 42(6): 981–6. 06-2012 <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000600005>

NUMAM, M., Bashir, S., Khan, Y., Mumtaz, R., Shinwari, Z. K., Khan, A. L., Khan, A., & AL-Harrasi, A. (2018). Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. In **Microbiological Research** (Vol. 209, pp. 21–32). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.02.003>

OLANREWAJU, OS, Glick, BR & Babalola, Os Mecanismos de ação de bactérias promotoras do crescimento vegetal. **World J Microbiol Biotechnol** 33 , 197 (2017). <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>

OLIVEIRA, M. G. N., C. F. D. ROCHA. (1997). O efeito da complexidade da bromélia-tanque *Neoregelia cruenta* (R. Graham) L. B. Smith sobre a comunidade animal associada. **Bromélia** 4(2): 13-22.

PEI, H.; WANG, H.; WANG, L.; ZHENG, F.; DONG, C. H. Regulatory function of ethylene in plant responses to drought, cold, and salt stresses. In: PANDEY, G. K. (Ed.). **Mechanism of plant hormone signaling under stress**. London: John Wiley & Sons, 2017. p. 322-344.

PEIFFER JA, SPOR A, KOREN O, et al. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(16):6548-6553. doi:10.1073/pnas.1302837110

RAMAKRISHNA, WUSIRIKA, RADHESHYAM YADAV, e KEFENG LI. Plant Growth Promoting Bacteria in Agriculture: Two Sides of a Coin. **Applied soil ecology: a section of Agriculture, ecosystems & environment** v. 138, p. 10-18, 06-2019.

RICHARDSON, B.A. 1999. The bromeliad microcosm and the assessment of faunal diversity in a neotropical forest. **Biotropica** 31(2): 312-336.

ROCHA, J. (2023), Neotropical bromeliads as food sources for birds: a systematic review and perspectives on the management of ecological interactions. **Ibis**, 165: 17-33. <https://doi-org.ez19.periodicos.capes.gov.br/10.1111/ibi.13138>

ROCHA, P. L. B. D.; QUEIROZ, L. P. DE.; PIRANI, J. R.. Plant species and habitat structure in a sand dune field in the Brazilian Caatinga: a homogeneous habitat harbouring an endemic biota. **Brazilian Journal of Botany**, v. 27, n. 4, p. 739–755, out. 2004.

SANTORO, M. V., ZYGADLO, J., GIORDANO, W., e BANCHIO, E. Volatile organic compounds from rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita*). **Plant Physiology and Biochemistry**, 49(10), 1177–1182, 2011. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2011.07.016>

SANTOS, A. F. dos; CORRÊA, B. O.; KLEIN, J.; BONO, J. A. M. .; PEREIRA, L. C.; GUIMARÃES, V. F.; FERREIRA, M. B. (2021) Biometria e estado nutricional da cultura da aveia branca (*Avena sativa* L.) sob inoculação com *Bacillus subtilis* e *B. megaterium*. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. e53410515270, 2021. DOI:10.33448/rsd-v10i5.15270.

SINGH VIPIN KUMAR , AMIT KISHORE SINGH, PREM PRATAP SINGH, AJAY KUMAR. Interaction of plant growth promoting bacteria with tomato under abiotic stress: A review. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Vol. 267, Pages 129-140, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.08.020>.

SIQUEIRA FILHO, J.A.; MACHADO, I.C.S. Biologia reprodutiva de *Canistrum aurantiacum* E. Morren (Bromeliaceae) em remanescentes da Floresta Atlântica, Nordeste do Brasil. **Acta botanica brasílica**, v. 15, n. 3, p. 427-443. 2001.

SUBRAMANIAM, G., THAKUR, V., SAXENA, R.K. ET AL. **Complete genome sequence of sixteen plant growth promoting *Streptomyces* strains.** *Sci Rep* 10, 10294 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67153-9>

SUNITA K, MISHRA I, MISHRA J, PRAKASH J, ARORA NK. Secondary Metabolites From Halotolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Ameliorating Salinity Stress in Plants. **Front Microbiol.** 2020 Oct 22;11:567768. doi: 10.3389/fmicb.2020.567768.

VESELOVA SV, *et al.* By Modulating the Hormonal Balance and Ribonuclease Activity of Tomato Plants *Bacillus subtilis* Induces Defense Response against Potato Virus X and Potato Virus Y. **Biomolecules.** 2022; 12(2):288. <https://doi.org/10.3390/biom12020288>

VURUKONDA SSKP, GIOVANARDI D, STEFANI E. Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. **Int J Mol Sci.** 2018;19(4):952. Published 2018 Mar 22. doi:10.3390/ijms19040952

WANDERLEY, M.G.L. *et al.* **Bromeliaceae. In: Plantas Raras do Brasil.** (2009). 496p

WANG CJ, YANG W, WANG C, ET AL. Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains. **PLoS One.** 2012; 7(12):e52565. doi:10.1371/journal.pone.0052565