



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO (PRPG)**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE (PPGBio)**

**MATEUS HENRIQUE FREIRE FARIAS**

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL E MELHORAMENTO DE  
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM *Gossypium hirsutum* L. POR BACTÉRIAS E  
QUITOSANAS**

**RECIFE – PE**

**2024**

**MATEUS HENRIQUE FREIRE FARIAS**

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL E MELHORAMENTO DE  
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM *Gossypium hirsutum* L. POR BACTÉRIAS E  
QUITOSANAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade.

Orientador: Prof. Dr. Éder Galinari Ferreira

Coorientador: Dr. Fernando A. da Silveira

**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)

---

M425p

Farias, Mateus Henrique Freire

Promoção de crescimento vegetal e melhoramento de parâmetros bioquímicos em *Gossypium hirsutum* L. por bactérias e quitosanas / Mateus Henrique Freire Farias. - 2024.  
68 f. : il.

Orientador: Eder Galinari Ferreira.

Coorientador: Fernando Augusto da Silveira.

Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Recife, 2024.

1. Bactérias promotoras de crescimento de plantas. 2. Algodão. 3. Biopolímero. I. Ferreira, Eder Galinari, orient. II. Silveira, Fernando Augusto da, coorient. III. Título

CDD 333.95

---

**MATEUS HENRIQUE FREIRE FARIAS**

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL E MELHORAMENTO DE  
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM *Gossypium hirsutum* L. POR BACTÉRIAS E  
QUITOSANAS**

Dissertação defendida em 29 de janeiro de 2024

**Banca examinadora:**

---

*Dr. Éder Galinari Ferreira – Presidente*  
*(Universidade Federal Rural de Pernambuco)*

---

*Dra. Aurenivia Bonifácio de Lima*  
*(Universidade Federal do Piauí)*

---

*Dr. Marcus Vinicius Loss Sperandio*  
*(Universidade Federal Rural de Pernambuco)*

---

*Dr. Vicente Paulo da Costa Neto – Suplente*  
*(Universidade Federal do Piauí)*

À Deus  
por ser o início e o fim de todas as coisas  
À minha família  
por me apoiar e me dar forças em todos os  
momentos  
À minha noiva  
por todo amor e confiança

Dedico

*Porque dele, e por meio dele, e para ele são todas as coisas. A ele, pois, a glória eternamente. Amém!*

*Romanos 11:36*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por ser o meu sustento e a minha provisão em todos os momentos e por poder descansar na sua dependência.

Agradeço à minha família, Paulo Farias, Márcia Farias e Ana Farias, por todo amor, apoio e incentivo durante toda a minha caminhada.

Agradeço à minha noiva amada, Renata Negreiros, por todo amor e confiança depositado em mim e por ser minha companheira em todos os momentos.

Agradeço a todos meus irmãos no Piauí que estiveram orando e intercedendo por mim.

Agradeço a todos os meus irmãos em Recife que estiveram presentes nessa caminhada e que me acolheram com tanto amor.

Agradeço ao meu orientador, Éder Galinari Ferreira, por aceitar o desafio dessa orientação, por todos os ensinamentos, por todo apoio, esforço e dedicação.

Agradeço aos meus amigos do LAMAA (Laboratório de Microbiologia Ambiental e Agrícola) – UFRPE, por toda ajuda e pelas incontáveis trocas de conhecimentos.

Agradeço aos meus amigos do LFP (Laboratório de Fisiologia de Plantas) – UFRPE, por toda ajuda, por todo apoio, pelos ensinamentos e pelas amizades que eu pude fazer.

Agradeço aos meus amigos do LabFiVe (Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal) – UFPI, pela imensa ajuda e por me receber tão bem.

Agradeço aos meus amigos do BIOPOL (Laboratório de Biotecnologia de Polímeros Naturais) – UFRN por toda ajuda e apoio.

Agradeço à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pelo apoio e por toda estrutura que possibilitou que eu desenvolvesse a pesquisa.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade pela oportunidade de obtenção do título de Mestre e a todo corpo docente, coordenação, secretária e funcionários que me apoiaram e me ajudaram.

Agradeço, por meio do Dr. Fernando Augusto da Silveira, à Ekoa Life Sciences pelo fornecimento das bactérias utilizadas nesse trabalho.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida.

## SUMÁRIO

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	1
1. Bactérias promotoras de crescimento de plantas .....	1
1.1. Mecanismos de promoção de crescimento .....	1
1.1.1. Fitohormônios.....	2
1.1.2. Nutrientes essenciais.....	4
1.1.3. Proteção contra patógenos .....	6
1.1.4. Remediação de estresses abióticos .....	8
2. Biofertilizantes .....	10
3. Quitosana .....	11
3.1. Aplicações .....	12
3.1.1. Antimicrobiana .....	12
3.1.2. Promoção de crescimento vegetal .....	12
3.1.3. Remediação de estresses abióticos .....	13
3.1.4. Modificações químicas da quitosana.....	14
4. Algodão .....	14
4.1. Produção de algodão no Brasil .....	14
4.2. Produção de algodão no semiárido nordestino .....	16
REFERÊNCIAS .....	18
CAPÍTULO 1 .....	26
1. Introdução.....	29
2. Material e métodos .....	30
2.1. Origem das sementes e das linhagens bacterianas.....	30
2.2. Preparo do inóculo bacteriano e inoculação das sementes .....	30
2.3. Montagem do experimento em casa de vegetação .....	30
2.4. Análises morfométricas .....	31
2.5. Análises bioquímicas .....	31
2.6. Análise estatística .....	31
3. Resultados e discussão.....	32
3.1. Crescimento vegetativo .....	32
3.2. Pigmentos fotossintéticos .....	34
3.3. Macronutrientes e proteínas.....	35
3.4. Análise de componentes principais (PCA) e correlação entre os parâmetros .....	37
4. Conclusões.....	39

5. Referências .....	39
CAPITULO 2 .....	44
1. Introdução .....	45
2. Material e métodos .....	46
3. Resultados e discussão .....	48
4. Conclusões .....	52
5. Referências .....	52
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	54

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

### Fundamentação teórica

- Figura 1. Produção média de ácido indolacético (IAA), antioxidante total (TAO) e densidade óptica (OD600) de 6 isolados bacterianos selecionados. Fonte: Yousef (2018). ..... 3
- Figura 2. Efeitos de misturas de BPCP em áreas de roseta durante o crescimento a longo prazo de plantas de *A. thaliana*. Fotografias representativas de rosetas de *A. thaliana* de plantas expostas às diferentes misturas de BPCP aos 8, 12, 14, 16 e 19 dias após o transplante (DAT). Fonte: Calvo et al. (2019). ..... 5
- Figura 3. Crescimento vegetal e saúde radicular de plantas de rúcula cultivadas em solo infestado por *Pythium* inoculado com vários tratamentos, nomeadamente água destilada (DW), fertilizante orgânico (OF), fosfonato (P; pesticida químico), *P. aeruginosa* FB2, *B. subtilis* RMB5 e *B. subtilis* NS4. Fonte: Ali et al. (2020). ..... 7
- Figura 4. Uma visão geral da regulação do crescimento vegetal mediado pela quitosana. Fonte: Chakraborty et al. (2020). ..... 13
- Figura 5. Área colhida (milhões de hectares) e quantidade produzida (milhões de toneladas) da cultura de algodão herbáceo no Brasil entre 1974 e 2019 e distribuição de área colhida nas regiões de planejamento (1974, 1985, 1997, 2011, 2019). Fonte: Alcantara, Vendana e Vieira Filho (2023). ..... 15
- Figura 6. Venda de agrotóxicos por cultura no Brasil. Fonte: SINDIVEG (2023). ..... 16

### Capítulo 1

- Figura 1. Massa fresca da raiz e da parte aérea (a), massa fresca total (b), altura (c), diâmetro do caule (d) e número de folhas (e) em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após sementeira. Letras distintas apresentam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). ..... 33
- Figura 2. Conteúdos de clorofilas a, b e total (a), carotenoides (b) e razão clorofila a:clorofila b (c) em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após a sementeira. Letras distintas representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). ..... 355

Figura 3. Teor de nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c) e proteínas em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após a semeadura. Letras distintas representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). ..... 36

Figura 4. Análise de componentes principais (PCA) mostrando a distribuição de todas os parâmetros analisados (a) e correlograma elaborado com base na correlação de Pearson ( $p < 0,05$ ) para todas os parâmetros analisados (b). MFR: massa fresca da raiz; MFPA: massa fresca da parte aérea; MFT: massa fresca total; ALT: altura da planta; DC: diâmetro do caule; NF: número de folhas; N: nitrogênio; P: fósforo; K: potássio; PRO: proteínas; CLOR: clorofila total. .... 38

Tabela 1. Análise bioquímica do solo utilizado no experimento. .... 31

Tabela 2. Análise de variância permutacional (PERMANOVA) baseada no índice de Bray-Curtis para confirmar os grupos formados na PCA ( $F = 9,566$ ;  $p = 0,0001$ ). Valores de  $p$  para variância entre os grupos (nível de significância de 5%). .... 38

## Capítulo 2

Figura 1. Massa fresca da raiz e da parte aérea (a), massa fresca total (b), altura (c), diâmetro do caule (d) e número de folhas (e) em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após semeadura. Letras distintas representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). ..... 49

Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) mostrando a distribuição de todos os parâmetros morfológicos analisados. QBM: quitosana de baixa massa molecular; QMM: quitosana de média massa molecular; QAGBM: quitosana AG de baixa massa molecular; QAGMM: quitosana AG de média massa molecular; MFR: massa fresca da raiz; MFPA: massa fresca da parte aérea; MFT: massa fresca total; ALT: altura da planta; DC: diâmetro do caule; NF: número de folhas. .... 50

Figura: 3. Conteúdos de clorofilas a, b e total (a), carotenoides (b), teor de nitrogênio (c), potássio (d), fósforo (e) e proteínas (f) em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após a semeadura. Letras distintas representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). ..... 51

Tabela 1. Análise bioquímica do solo utilizado no experimento. ....	47
Tabela 2. Análise de variância permutacional (PERMANOVA) baseada no índice de Bray-Curtis para confirmar os grupos formados na PCA ( $F = 7,78$ ; $p = 0,0001$ ). Valores de $p$ para variância entre os grupos (nível de significância de 5%). ....	50

## RESUMO

As Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP) são um grupo de microrganismos capazes de melhorar o crescimento das plantas. E a quitosana é um biopolímero amplamente difundido na natureza com propriedades particulares benéficas e extremamente úteis no desenvolvimento vegetal. O uso desses produtos “verdes” na agricultura tem se mostrado uma alternativa sustentável e viável, pois são eficazes no melhoramento de culturas e não agredem o meio ambiente. Sendo assim, o presente estudo se propôs a avaliar o efeito da inoculação com três espécies de BPCP (*Bacillus subtilis*, *Priestia megaterium* e *Priestia aryabhatai*) e da aplicação de quitosana via semente nos aspectos morfológicos e bioquímicos de *Gossypium hirsutum* L. (algodoeiro). Dois experimentos distintos foram realizados. No primeiro, sementes de algodoeiro foram inoculadas separadamente com suspensões bacterianas de *B. subtilis*, *P. megaterium* e *P. aryabhatai*. As sementes foram semeadas e o crescimento das plantas foi acompanhado por 60 dias em casa de vegetação. Ao final, as plantas foram coletadas e analisadas quanto aos aspectos morfológicos e bioquímicos. No segundo experimento, preparações de quitosanas nativas e modificadas, de diferentes massas moleculares, foram utilizadas para embeber as sementes, que também foram semeadas em casa de vegetação e seguiram-se os mesmos passos do primeiro experimento para as análises morfológicas e bioquímicas. Os resultados encontrados no primeiro experimento mostraram que sementes inoculadas com *P. aryabhatai* apresentaram melhorias significativas nos parâmetros de massa fresca, altura da planta, diâmetro do caule e número de folhas e nos teores de clorofila (*a*, *b* e total), nitrogênio (N) e proteínas em relação às plantas do tratamento controle. Plantas tratadas com *P. megaterium* também obtiveram melhorias na massa fresca, no diâmetro do caule e nos teores de N e proteínas. Esses resultados indicam que essas BPCP são capazes de promover o crescimento de plantas de algodoeiro, demonstrando um potencial para utilização no beneficiamento dessa cultura no setor agrícola, podendo ser empregadas na elaboração de bioestimulantes. Os resultados encontrados no experimento com as quitosanas mostraram que esse biopolímero possui a capacidade de beneficiar plantas de algodão, melhorando parâmetros morfológicos de crescimento da parte aérea, da raiz e diâmetro do caule. Evidenciando que quitosanas também podem ser utilizadas no beneficiamento dessa cultura.

**Palavras-chave:** Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP); algodão; biopolímero.

## ABSTRACT

Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) are a group of microorganisms capable of improving plant growth. And chitosan is a biopolymer widely spread in nature with particular beneficial properties that are extremely useful in plant development. The use of these “green” products in agriculture has proven to be a sustainable and viable alternative, as they are effective in improving crops and do not harm the environment. Therefore, the present study aimed to evaluate the effect of inoculation with three species of PGPB (*Bacillus subtilis*, *Priestia megaterium* and *Priestia aryabhatai*) and the application of chitosan via seed on the morphological and biochemical aspects of *Gossypium hirsutum* L. (cotton). Two distinct experiments were carried out. In the first, cotton seeds were inoculated separately with bacterial suspensions of *B. subtilis*, *P. megaterium* and *P. aryabhatai*. The seeds were sown and plant growth was monitored for 60 days in a greenhouse. Finally, the plants were collected and analyzed for morphological and biochemical aspects. In the second experiment, native and modified chitosan preparations, of different molecular masses, were used to soak the seeds, which were also sown in a greenhouse and the same steps as in the first experiment were followed for morphological and biochemical analyses. The results found in the first experiment showed that seeds inoculated with *P. aryabhatai* showed significant improvements in the parameters of fresh mass, plant height, stem diameter and number of leaves and in the contents of chlorophyll (a, b and total), nitrogen (N) and proteins in relation to plants in the control treatment. Plants treated with *P. megaterium* also achieved improvements in fresh mass, stem diameter and N and protein content. These results indicate that these BPCP are capable of promoting the growth of cotton plants, demonstrating a potential for use in the processing of this crop in the agricultural sector, and can be used in the preparation of biostimulants. The results found in the experiment with chitosans showed that this biopolymer has the ability to benefit cotton plants, improving morphological parameters of growth of the shoot, root and stem diameter. Showing that chitosans can also be used to benefit this crop.

**Keywords:** Plant Prowth-Promoting Bacteria (PGPB); cotton; biopolymer.

## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 1. Bactérias promotoras de crescimento de plantas

As bactérias são um grupo dominante na comunidade de microrganismos do solo. Mesmo sendo um ambiente complexo, competitivo e com uma alta diversidade microbiana, elas são os seres mais comuns, se multiplicando rapidamente com altos níveis de atividade metabólica (PATHANIA *et al.*, 2020). Um grama de solo pode conter aproximadamente entre  $10^8$  e  $10^9$  bactérias (RUGHÖFT *et al.*, 2016). Seu metabolismo diversificado e capacidade de utilizar uma ampla gama de diferentes substâncias como fontes de nutrientes e energia, faz das bactérias um grupo influente na rizosfera (fina camada de solo ao redor das raízes das plantas), atuando em diversos processos e participando de interações importantes (OLEŃSKA *et al.*, 2020).

As bactérias que estabelecem interações com plantas podem gerar efeitos prejudiciais (geralmente consideradas como fitopatógenos), ou efeitos neutros (essas são chamadas de bactérias comensais) e, ainda, efeitos benéficos (GLICK, 2020). Dentre estas que são benéficas, encontram-se as Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP), termo introduzido por Kloepper e Schroth (1978) para denominar bactérias que são capazes de estabelecer relações benéficas com plantas e promover direta ou indiretamente o seu crescimento. Essas bactérias podem viver livremente na rizosfera, podem se ligar à superfície das raízes ou podem viver dentro da planta formando uma relação endofítica. Uma bactéria endofítica pode residir em certos tecidos como raízes e caules, dispersar-se por toda a planta ou até formar estruturas particulares como nódulos (OKAZAKI *et al.*, 2016; AFZAL *et al.*, 2019). Contudo, a raiz é o sítio de interação mais efetivo entre essas bactérias e a planta hospedeira, onde a maioria delas conseguem efetuar a colonização e se estabelecer. Essa colonização das raízes, em muitos casos, é precedida pela colonização das sementes. Quando uma semente começa a germinar, a bactéria se estabelece nela e começa a se proliferar e colonizar as raízes em crescimento no solo (PATHANIA *et al.*, 2020).

#### 1.1. Mecanismos de promoção de crescimento

As BPCP podem influenciar o crescimento e o desenvolvimento das plantas por uma série de mecanismos diretos e indiretos. Mecanismos diretos incluem estimular o crescimento vegetal através da produção de fitohormônios como auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico; aumentar a biomassa da planta através da fixação de nitrogênio, solubilização de fósforo e potássio, absorção de ferro por sideróforos bacterianos, dentre outros processos; melhorar a germinação das sementes; e atuar também na produção de metabólitos secundários.

Mecanismos indiretos referem-se a características bacterianas que inibem a ação de organismos fitopatogênicos, sejam eles fungos ou outras bactérias; incluem também a produção de antibióticos e enzimas de degradação; e aumentam a tolerância da planta a uma ampla gama de estresses ambientais (p. ex., sal, inundação, seca, temperaturas extremas, contaminantes orgânicos e inorgânicos do solo) (OLANREWAJU; GLICK; BABALOLA, 2017; GLICK; GAMALERO, 2021)

### **1.1.1. Fitohormônios**

Os fitohormônios atuam como reguladores de crescimento vegetal, influenciando a forma da planta, o tempo de floração e senescência foliar, o desenvolvimento das sementes e vários processos fisiológicos e celulares, como expressão gênica, divisão celular e respostas a estresses bióticos e abióticos (TSEGAYE; ASSEFA; BEYENE, 2017). Eles são sintetizados pelas plantas, mas muitas BPCP também são capazes de sintetizá-los e disponibilizá-los. As principais e mais estudadas classes de fitohormônios são as auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e ácido abscísico.

Auxinas como o ácido indolacético (AIA), por exemplo, influencia a divisão e diferenciação celular, estimula a germinação de sementes e tubérculos, inicia o desenvolvimento radicular, medeia o fototropismo, influencia a fotossíntese e biossíntese de diferentes metabólitos e a tolerância a vários fatores ambientais (TSUKANOVA *et al.*, 2017). Existem muitas estirpes de BPCP capazes de sintetizar AIA e disponibilizá-lo para a planta, estimulando, principalmente, o desenvolvimento de raízes secundárias, o que aumenta a área da superfície da raiz e promove uma melhor nutrição da planta e, conseqüentemente, resulta em melhor crescimento e rendimento (WAGI; AHMED, 2019). Yousef (2018) identificou seis isolados bacterianos como produtores eficientes de AIA, dos quais o isolado CW-2 de *Bacillus subtilis* se destacou como altamente eficiente na produção desse fitohormônio em uma ampla faixa de pH e até sob condições de estresse salino, demonstrando o potencial dessa BPCP (Figura 1).

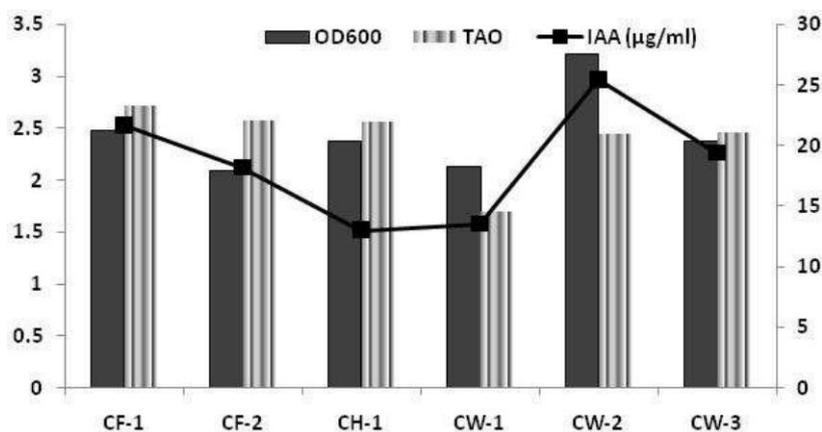


Figura 1. Produção média de ácido indolacético (IAA), antioxidante total (TAO) e densidade óptica (OD600) de 6 isolados bacterianos selecionados. Fonte: Yousef (2018).

Citocininas e giberelinas estimulam a germinação de sementes, divisão e expansão celular, formação de pelos radiculares, alongamento do caule, floração, frutificação e senescência retardada (AMARA; KHALID; HAYAT, 2015). Muitas estirpes de BPCP são capazes de sintetizar citocininas. O isolado AE016877 de *B. subtilis*, por exemplo, foi capaz de inocular raízes de *Platycladus orientalis* e aumentar o nível de citocininas, aumentando a produção de biomassa e melhorando a condutância estomática das mudas (LIU *et al.*, 2013). Além da síntese direta, algumas BPCP são capazes de alterar as concentrações de fitohormônios por outros mecanismos, como a estirpe SYST2 de *B. subtilis*, que foi capaz de aumentar a expressão dos genes de síntese de citocinina e giberelina e, conseqüentemente, aumentar o nível de produção desses fitohormônios pela própria planta (TAHIR *et al.*, 2017).

O etileno é um importante hormônio vegetal natural que está envolvido em vários processos fisiológicos, incluindo a promoção da abscisão foliar, amadurecimento de frutos, funcionamento dos meristemas apicais da raiz e da parte aérea e crescimento de pelos radiculares (TSUKANOVA *et al.*, 2017). Ele também é sintetizado em resposta a vários estresses bióticos ou abióticos, como seca, metais pesados, encharcamento, salinidade do solo e patogenicidade (PATHANIA *et al.*, 2020). No entanto, um aumento desregulado nos níveis de etileno endógeno pode afetar negativamente a planta. Por exemplo, uma alta concentração de etileno estimula a desfolha e outros processos celulares que podem levar à diminuição do rendimento da cultura e até à morte celular (CHANG, 2016). O controle dos níveis de etileno nas plantas pode ser alcançado com o auxílio de BPCP, que influenciam a homeostase do etileno vegetal afetando a expressão dos genes que codificam as enzimas de síntese desse fitohormônio (TSUKANOVA *et al.*, 2017). Diferentes estirpes de BPCP podem afetar o nível de etileno na planta, aumentando ou diminuindo sua concentração a depender das necessidades e condições ambientais em que a planta se encontra.

O ácido abscísico (ABA) é um hormônio vegetal sintetizado principalmente em resposta a estresses abióticos como seca, frio, salinidade e poluição do solo, ativando os genes responsáveis pela resistência da planta, além de ser capaz de induzir a senescência foliar, promover o fechamento estomático e afetar a arquitetura do sistema radicular (SAH; REDDY; LI, 2016). Plantas inoculadas com a BPCP *Azospirillum brasilense*, produtora de ABA, aumentou o conteúdo interno desse fitohormônio em *Arabidopsis thaliana* que se mostrou mais resistente ao estresse hídrico (COHEN *et al.*, 2015). Sendo assim, compreende-se que as BPCP afetam a homeostase desses e de outros hormônios vegetais importantes para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Elas podem sintetizá-los, metabolizá-los, bem como estimular ou inibir a sua síntese. Uma vez que essas substâncias tendem a ter múltiplas funções na planta, as alterações na sua quantidade e localização resultam em vários efeitos associados.

### 1.1.2. Nutrientes essenciais

Dentre os nutrientes essenciais às plantas, o nitrogênio (N), o fósforo (P) e o potássio (K) são conhecidos pela grande influência no crescimento e desenvolvimento das plantas e por estarem envolvidos em diversos processos fisiológicos e bioquímicos. Por exemplo, N é necessário para a produção de clorofila, proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos; P é indispensável para a divisão celular, metabolismo energético e cascatas de transdução de sinal; e K é necessário para a atividade de enzimas, resistência da planta a estresses e também é um regulador de vias metabólicas (BAKHSHANDEH *et al.*, 2020). As BPCP possuem vários mecanismos que regulam o fluxo de nutrientes e através desses mecanismos, elas são capazes de promover o crescimento das plantas.

O nitrogênio é um dos macronutrientes mais importantes para o crescimento das plantas. Apesar de sua abundância na atmosfera terrestre (aproximadamente 79%), ele precisa primeiro ser reduzido a amônia antes de ser metabolizado pelas plantas para se tornar um componente integral de proteínas, ácidos nucleicos e outras moléculas biológicas (GLICK, 2020). Essa conversão requer uma grande quantidade de energia, porque a ligação tripla que mantém as duas moléculas de nitrogênio juntas para formar o gás dinitrogênio (N<sub>2</sub>) é extremamente estável. Microrganismos diazotróficos transformam a molécula de N<sub>2</sub> trivalente diatômica em amônia (NH<sub>3</sub>), útil e disponível para a maioria dos organismos, usando um complexo enzimático composto por nitrogenase e dinitrogenase reductase, esse processo é chamado de fixação biológica do nitrogênio (FBN) (MAHMUD *et al.*, 2020). Bactérias diazotróficas produzem anualmente cerca de 60% do nitrogênio recém-fixado da Terra e muitas delas são alvos de estudos que visam lançar mão de seu potencial na agricultura, como, por

exemplo, os gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia* e *Herbaspirillum* (GLICK, 2020; GÓMEZ-GODÍNEZ *et al.*, 2023).

Contudo, existem outras maneiras pelas quais as BPCP podem aumentar a biodisponibilidade de nitrogênio indiretamente. Por exemplo, aumentando a área de superfície da raiz e sua morfologia para efetuar uma maior absorção de nitrogênio ou afetando os sistemas de transporte de nutrientes da raiz. Calvo *et al.* (2019) observaram que misturas de *Bacillus* spp. desencadearam a expressão de genes que determinaram a absorção e o transporte de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), aumentando o crescimento e o desenvolvimento da planta hospedeira *A. thaliana* (Figura 2). Jang *et al.* (2018) também demonstraram que a inoculação da estirpe JS de *B. subtilis* aumentou significativamente a concentração de nitrogênio foliar, a taxa fotossintética e a biomassa de *Populus euramericana*, provando o potencial dessa BPCP no melhoramento da acessibilidade e aquisição desse nutriente pela planta.



Figura 2. Efeitos de misturas de BPCP em áreas de roseta durante o crescimento a longo prazo de plantas de *A. thaliana*. Fotografias representativas de rosetas de *A. thaliana* de plantas expostas às diferentes misturas de BPCP aos 8, 12, 14, 16 e 19 dias após o transplante (DAT). Fonte: Calvo *et al.* (2019).

O fósforo, assim como o nitrogênio, é um macronutriente essencial para as plantas, ele atua em diversos processos metabólicos como a fotossíntese; constitui moléculas como o DNA, RNA, ATP e fosfolípidios; está envolvido na transdução de sinais; é essencial para o crescimento e desenvolvimento normal das plantas; e influencia positivamente a floração e amadurecimento das sementes (OLEŃSKA *et al.*, 2020). Além disso, também melhora a resistência a doenças, aumenta a rigidez da parte aérea e estimula o desenvolvimento do sistema radicular (RAZAQ MUHAMMAD AND ZHANG, 2017). Entretanto, a maior parte do fósforo presente no solo é encontrado em sua forma inorgânica (Pi), que, normalmente, é insolúvel para

as plantas. Apenas cerca de 4% do fósforo total no solo está disponível para as plantas em sua forma de ortofosfato, que é a mais acessível às plantas (ALORI; GLICK; BABALOLA, 2017).

Nesse sentido, as bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico (BSPi) são de grande importância, pois elas podem solubilizar fosfatos inorgânicos de várias maneiras. Uma delas é através da liberação de  $H^+$  para a superfície externa das células bacterianas em troca da absorção de cátions. Ácidos orgânicos produzidos em conjunto com seus íons carboxila e hidroxila quelam cátions ou reduzem o pH resultando na liberação de fosfatos (OLANREWAJU; GLICK; BABALOLA, 2017). Por exemplo, Costa *et al.* (2015) avaliaram a capacidade das estirpes PSB UFLA 04-21 (*Burkholderia* sp.), UFLA 03-10 (*Paenibacillus kribbensis*), UFPI B5-6 (*Enterobacter* sp.) e UFPI B5-8A (*Pseudomonas* sp.), todas consideradas BSPi, em melhorar o crescimento e o acúmulo de nutrientes em plantas de arroz (*Oryza sativa*) e observaram um aumento na matéria seca da parte aérea, radicular e total, no número de perfilhos e na absorção de P, N, Ca, Mg, S e B. Pereira e Castro (2014) também observaram a capacidade de BSPi do gênero *Pseudomonas* em aumentar o crescimento de milho (*Zea mays*) em um solo agrícola deficiente em fósforo, que foi capaz de causar um aumento na produção de biomassa e na concentração de fósforo nas raízes e na parte aérea.

O potássio é outro macronutriente essencial para o crescimento das plantas. As concentrações de potássio solúvel no solo são geralmente muito baixas e sem quantidades adequadas desse nutriente, as plantas terão raízes pouco desenvolvidas, crescerão lentamente, produzirão sementes pequenas e terão rendimentos mais baixos, pois ele é exigido em muitos processos vegetais, como regulação da taxa de fotossíntese, transporte de água e nutrientes por toda a planta e síntese de amido (KAUR *et al.*, 2021). Um agravante, nesse contexto, é que devido às aplicações desequilibradas de fertilizantes nos solos agrícolas, a deficiência de potássio está se tornando uma das principais restrições ao crescimento e produtividades de muitas culturas (YADAV, 2017). Sendo assim, a utilização de BPCP solubilizadoras de potássio é uma alternativa viável, pois elas conseguem, através da secreção de vários ácidos orgânicos, transformar o potássio insolúvel em uma forma solúvel para as plantas. Kaur *et al.* (2021) relataram um aumento na concentração de potássio e na promoção de crescimento em *Hordeum vulgare* L. inoculadas com a estirpe EU-LWNA-25 de *Pseudomonas gessardii*, evidenciando o potencial de BPCP solubilizadoras de potássio em superar os desafios de uma agricultura sustentável.

### **1.1.3. Proteção contra patógenos**

Um dos métodos indiretos pelos quais BPCP promovem o crescimento saudável e

sobrevivência das plantas é a sua capacidade de atuar como um agente de biocontrole suprimindo fitopatógenos. As BPCP são capazes de produzir metabólitos antimicrobianos sob estresse biótico, respondendo à competição rizosférica por nutrientes e exclusão de nicho (NGALIMAT *et al.*, 2021). Ali *et al.* (2020) demonstraram o potencial das estirpes FB2 de *Pseudomonas aeruginosa*, RMB5 e NS4 de *B. subtilis* em produzir vários antibióticos como surfactinas, fenazina, iturina, sendo eficaz no controle da infestação de *Pythium* em raízes de rúcula (*Eruca vesicaria*) e capaz de promover o crescimento saudável dessa planta (Figura 3). Flury *et al.* (2017) também relataram estirpes de *Pseudomonas* ssp. capazes de produzir cianeto de hidrogênio e diferentes tipos de lipopeptídeos cíclicos que foram capazes de inibir o crescimento de insetos patógenos.

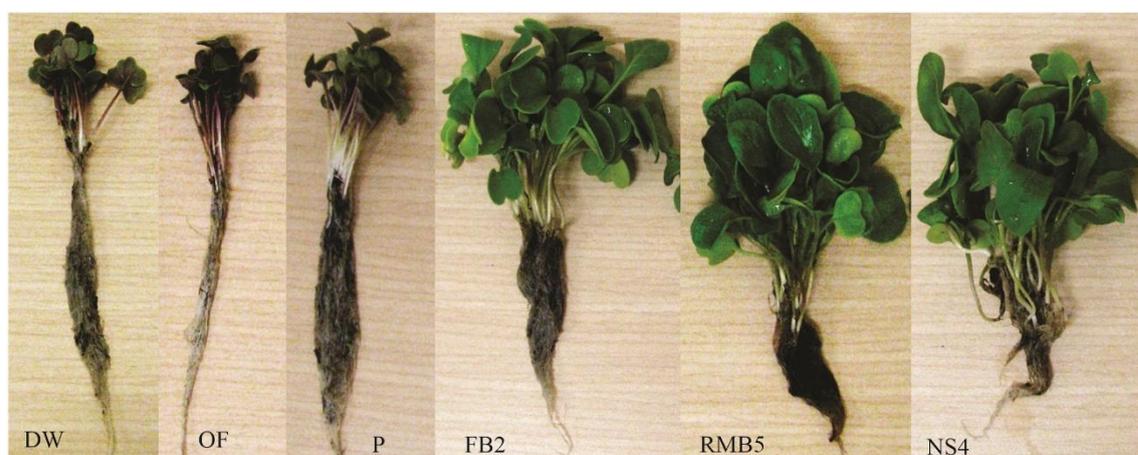


Figura 3. Crescimento vegetal e saúde radicular de plantas de rúcula cultivadas em solo infestado por *Pythium* inoculado com vários tratamentos, nomeadamente água destilada (DW), fertilizante orgânico (OF), fosfonato (P; pesticida químico), *P. aeruginosa* FB2, *B. subtilis* RMB5 e *B. subtilis* NS4. Fonte: Ali *et al.* (2020).

Algumas BPCP também produzem enzimas líticas como celulases, quitinases e proteases que degradam a parede celular de muitos fitopatógenos (GÓMEZ-GODÍNEZ *et al.*, 2023). Algumas outras podem prover um sistema de defesa antioxidante para as plantas, produzindo espécies reativas de oxigênio, que estão relacionadas ao dano celular oxidativo. *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus licheniformis*, por exemplo, produzem enzimas antioxidantes como catalase e superóxido dismutase que atuam nesse mecanismo de defesa (CHIAPPERO *et al.*, 2019). Outro mecanismo importante na proteção das plantas contra patógenos é a resistência sistêmica induzida, uma estratégia de defesa iniciada por BPCP que utilizam vias de sinalização de fitohormônios, como ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno para induzir respostas imunes rápidas e poderosas contra invasões de patógenos (YU *et al.*, 2022).

Patógenos e pragas são problemas sempre presentes nos agroecossistemas produzidos pelo homem. As práticas clássicas de manejo que utilizam pesticidas químicos, embora parcialmente eficazes, resultam em instabilidade de doenças, surtos, poluição e degradação ambiental. Sendo assim, o uso de BPCP como agentes de biocontrole é uma estratégia viável e sustentável para amenizar esse problema sem danos maiores ao meio ambiente.

#### **1.1.4. Remediação de estresses abióticos**

Estresses abióticos são condições ambientais adversas que prejudicam o crescimento e desenvolvimento das plantas, resultando em perdas consideráveis de rendimento. Esses estresses incluem seca, alta salinidade, toxicidade de metais pesados, temperaturas extremas, dentre outros. As plantas possuem diversos mecanismos de tolerância à estresses abióticos em níveis fitoquímicos, bioquímicos, morfológicos e moleculares. Nesse contexto, as BPCP são capazes de fortalecer, mediar e induzir muitos desses mecanismos, aumentando a resistência e a tolerância da planta hospedeira (LASTOCHKINA *et al.*, 2019).

A seca, por exemplo, é um dos estresses abióticos mais severos que afeta negativamente o crescimento e a produção de plantas cultivadas, principalmente nas regiões áridas e semiáridas. Aproximadamente, um terço das terras agrícolas do mundo são afetadas pelo estresse hídrico, que representa um grande desafio à produção vegetal (SINGH *et al.*, 2018). Geralmente, as plantas se aclimatam à deficiência de água no solo desenvolvendo sistemas radiculares profundos e extensos para aumentar a extração desse solvente sob condições de seca. No entanto, essa aclimação afeta o crescimento da parte aérea e a biomassa, resultando em várias mudanças nos estágios fisiológicos da planta (ABDELAAL *et al.*, 2021). Nesse sentido, a aplicação de BPCP pode melhorar a resistência e aclimação ao estresse hídrico em muitas plantas. Por exemplo, o biocondicionamento de sementes de quinoa com as estirpes MN54 de *Bacillus* sp. e MN17 de *Enterobacter* sp. resultou em melhor desenvolvimento da planta em solos com restrição hídrica, provavelmente devido a produção de exopolissacarídeos como celulose e alginato, que são usados como uma barreira para proteção das raízes e promovem um melhor desenvolvimento da planta em condições de estresse (TALEBI ATOUEI; POURBABAEE; SHORAFI, 2019).

A promoção do crescimento sob estresse hídrico também pode ser devido ao fato de que certas BPCP expressam ACC-desaminase, uma enzima que aumenta a absorção dos principais nutrientes, como N, P e K e, conseqüentemente, promovem um melhor crescimento da planta sob condições de estresse (VAISHNAV *et al.*, 2016). A atividade das BPCP *Herbaspirillum seropedicae* e *A. brasilense* melhorou a tolerância à seca no milho devido aos

aumentos da eficiência do uso da água e da atividade de enzimas antioxidantes (CURÁ *et al.*, 2017). A produção de hormônios de crescimento vegetal, como AIA e citocininas, também auxiliam as plantas a melhorarem suas taxas de crescimento em ambientes estressantes, pois promovem aumento da fixação de nitrogênio e melhoria na absorção de nutrientes (TIWARI *et al.*, 2020). Sendo assim, é notório que as BPCP atuam em diversos mecanismos que melhoram o crescimento das plantas e atenuam os efeitos do estresse hídrico.

Outro estresse abiótico que tem se configurado uma ameaça aos ecossistemas agrícolas em todo o mundo é a salinidade elevada dos solos. Muitos ambientes são afetados pela salinidade e a produtividade das culturas é severamente diminuída. As atividades antrópicas que levam à degradação das terras agrícolas também aceleraram a taxa de salinização nas regiões áridas e semiáridas. A presença de sais solúveis em excesso no solo afeta negativamente os processos fisiológicos das plantas, incluindo a germinação de sementes, fotossíntese, transporte de membrana e produção de etileno (MISHRA; MISHRA; ARORA, 2021). Sob alta salinidade, para prevenir a perda de água é necessário manter o equilíbrio osmótico na célula vegetal, e as BPCP podem produzir osmólitos (solutos de baixo peso molecular, eletricamente neutros e altamente solúveis) que melhoram o potencial hídrico e a condutividade hidráulica, afetando positivamente a abertura estomática e a taxa de transpiração na planta (ILANGUMARAN; SMITH, 2017). A aplicação de BPCP tolerantes aos altos níveis de salinidade tem se mostrado um sucesso notável no aumento da produtividade agrícola em solos salinos. Saberi-Riseh, Fathi e Moradzadeh-Eskandari (2020), por exemplo, mostraram que plantas de pepino inoculadas com estirpes de *Pseudomonas* sp. e *Bacillus* sp. possuíam níveis maiores de prolina, açúcares solúveis e compostos fenólicos totais sugerindo que o uso dessas estirpes bacterianas superou o efeito prejudicial da salinidade.

Temperaturas extremas potencialmente causadas por mudanças climáticas podem se tornar uma grande ameaça à agricultura global devido aos seus efeitos na germinação das sementes, no crescimento das mudas e no metabolismo da planta (İPEK *et al.*, 2019). Altas temperaturas também danificam a membrana celular e algumas proteínas, inativa as principais enzimas e altera a síntese de biomoléculas (MITRA *et al.*, 2021). Como uma alternativa para esse problema, existem algumas BPCP (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Pseudomonas* e *Bacillus*, por exemplo) que além de serem resistentes a temperaturas extremas, auxiliam as plantas contra esse estresse. Bactérias formadoras de esporos, por exemplo, podem resistir a condições adversas de estresse térmico formando endósporos que se dispersam e permanecem viáveis no ecossistema até que surjam condições favoráveis (VILLARREAL-DELGADO *et al.*, 2018). Algumas bactérias podem secretar exopolissacarídeos e lipopolissacarídeos ou modificar a proporção de lipídios de membrana para suportar os problemas de temperatura elevada, e

algumas produzem proteínas de choque térmico que regulam a forma de proteínas que foram desnaturadas durante condições estressantes (MITRA *et al.*, 2021).

## 2. Biofertilizantes

O potencial das BPCP em beneficiar o crescimento e o desenvolvimento das plantas tem chamado especial atenção no setor agrícola, representando uma alternativa sustentável e promissora para mitigar muitos dos problemas e desvantagens da agricultura atual e dos métodos convencionais (UMESHA; SINGH; SINGH, 2018). Segundo Barea (2015), espera-se que a demanda pela produção agrícola aumente em cerca de 70% até 2050. A conscientização das pessoas em relação às práticas agrícolas sustentáveis e à segurança alimentar é fundamental para assegurar o futuro da agricultura e do fornecimento de alimentos no planeta.

O uso prolongado de pesticidas, fertilizantes artificiais e estimulantes químicos leva a efeitos adversos nos ecossistemas. A redução sistemática da fertilidade do solo e da produção de biomassa vegetal; o aumento da erosão e contaminação de águas subterrâneas; a redução da biodiversidade e a perda de serviços ecossistêmicos, são consequências atuais que refletem um problema global urgente (OLEŃSKA *et al.*, 2020). Sendo assim, promover uma agricultura sustentável com a diminuição gradual no uso de agroquímicos sintéticos e utilização mais proeminente de biofertilizantes e substâncias menos nocivas ao meio ambiente, lançando mão do potencial biológico e genético das BPCP é uma estratégia eficaz para combater a rápida degradação ambiental (BASU *et al.*, 2021).

Um biofertilizante pode ser definido como um produto que contém componentes ativos ou substâncias orgânicas, obtido de microrganismos ou a partir da atividade destes, bem como seus derivados de origem vegetal e animal, capaz de atuar direta ou indiretamente sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, no aumento de sua produtividade ou na melhoria de sua qualidade, incluídos os processos e tecnologias derivados dessa definição (BRASIL, 2021). Os biofertilizantes são amplamente utilizados para acelerar processos importantes da germinação, crescimento e saúde das plantas, além de melhorar a fertilidade do solo através da fixação do N<sub>2</sub> atmosférico, solubilização de fosfatos insolúveis e produção de substâncias promotoras de crescimento vegetal (MAZID; KHAN, 2014).

Os biofertilizantes possuem várias vantagens sobre os seus homólogos químicos. Eles são ecologicamente corretos, são capazes de prover os nutrientes necessários para as plantas sem deteriorar o solo, exibem atividade antagonista contra vários patógenos e combatem estresses abióticos (BASU *et al.*, 2021). Vários gêneros microbianos, como por exemplo, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*,

dentre outros, têm sido comercialmente utilizados na formulação de biofertilizantes e inoculantes, com base em sua capacidade de obter nutrientes do solo, fixar N<sub>2</sub> atmosférico, solubilizar nutrientes de baixa mobilidade no solo e atuar como agentes de biocontrole (SCHÜTZ *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2019). Diversas tecnologias agrícolas inovadoras, inteligentes e sustentáveis baseadas no estudo das BPCP vêm sendo desenvolvidas e diferentes abordagens microbianas, na forma de biofertilizantes, bioestimulantes e biopesticidas, são atualmente propostas como alternativas para melhorar o rendimento das culturas ao passo que não agridem nem oferecem riscos eminentes ao meio ambiente e à saúde humana ((BARGAZ *et al.*, 2018).

### **3. Quitosana**

A quitosana é um biopolímero modificado, derivado da desacetilação parcial da quitina que, por sua vez, é um biopolímero amplamente difundido na natureza e principal componente das cutículas de insetos, paredes celulares de fungos e leveduras, presente também em cascas de caranguejo e camarão (DIVYA; JISHA, 2018). A quitosana, ao contrário da quitina, pode ser dissolvida em ácidos e possui aplicações em variadas áreas. Na engenharia de tecidos, é utilizada devido à sua biocompatibilidade, propriedades antimicrobianas, hemostáticas e biodegradáveis. Da mesma forma, pode ser usada como material de base para a fabricação de fibras eletrofiadas, esponjas, hidrogéis e membranas. Também é utilizada em embalagem de alimentos devido à sua atividade antimicrobiana, bactericida, permeabilidade e propriedades mecânicas (ROMÁN-DOVAL *et al.*, 2023).

No setor agrícola, a quitosana possui várias aplicações, pois sua versatilidade e propriedades antipatogênicas são eficazes na proteção das plantas contra fungos, bactérias e vírus; ela pode ser usada como material de revestimento de sementes de cereais, nozes, frutas e vegetais; é capaz de alterar a permeabilidade da membrana plasmática da semente, aumentando as concentrações de açúcares e prolina; aumenta as atividades de enzimas como peroxidase, fenilalanina amônia-liase e tirosina; atua como carreadora promovendo a liberação lenta dos fertilizantes; melhora a retenção de água do solo; e é capaz de remover metais pesados e corantes (PANDEY; VERMA; DE, 2018).

Além das aplicações, a extração da quitosana também representa uma solução ecológica para a poluição causada pela indústria de processamento de frutos do mar. Todos os anos, 60.000 a 80.000 toneladas de resíduos de conchas são produzidas globalmente e sua degradação é um processo lento e uma preocupação ambiental. A conversão desses resíduos em quitosana é uma solução eficaz para esse problema, gerando muitas possibilidades de aplicações

(DIVYA; SHARREL; JISHA, 2014).

### **3.1. Aplicações**

#### **3.1.1. Antimicrobiana**

Devido às suas propriedades antibacterianas e antifúngicas, a quitosana é considerada um agente antimicrobiano promissor e já é utilizada em inúmeras atividades agrícolas. Ela é um ótimo indutor de respostas de defesa da planta e possui função antimicrobiana direta contra patógenos, sendo capaz de permear a parede celular de bactérias interrompendo seu metabolismo fisiológico ou afetando diretamente sua genética, floculando e degenerando componentes intracelulares, inibindo a reprodução bacteriana e, finalmente, causando a morte do microrganismo (XING *et al.*, 2015). Os efeitos antifúngicos da quitosana também já foram documentados em várias fases do desenvolvimento do patógeno, incluindo esporulação, crescimento micelial, germinação e viabilidade de esporos (ROMÁN-DOVAL *et al.*, 2023). Marei, Rabea e Badawy (2018) observaram atividade antimicrobiana da quitosana contra importantes bactérias patogênicas de plantas (*Erwinia carotovora*) e fungos (*Aspergillus niger* e *Rhizopus stolonifer*) que tiveram seu crescimento consideravelmente inibido. Meng *et al.* (2020) também relataram que a quitosana pode afetar o crescimento e desenvolvimento de *Aspergillus ochraceus*, inibindo significativamente a germinação de esporos e o crescimento de micélios.

#### **3.1.2. Promoção de crescimento vegetal**

A quitosana pode atuar como promotora de crescimento vegetal em algumas culturas como feijão, rabanete, maracujá, batata, repolho, soja e outras. Ela aumenta a produção vegetal e tem um efeito significativo nas taxas de crescimento de raízes, brotos, floração e número de flores sendo capaz de influenciar processos fisiológicos da planta, como absorção de nutrientes, divisão celular, alongamento celular, ativação enzimática e síntese de proteínas (CHAKRABORTY *et al.*, 2020) (Figura 4). Choudhary *et al.* (2017) observaram que plantas de milho (*Zea mays* L.) tratadas com quitosana exibiram promoção acentuada de crescimento em termos de altura da planta, diâmetro do caule, comprimento da raiz, número de raízes e teor de clorofila em experimentos com vasos, além de também exibir maior altura da planta, comprimento da espiga, peso da espiga/parcela, e rendimento de grãos/parcela em experimento de campo.

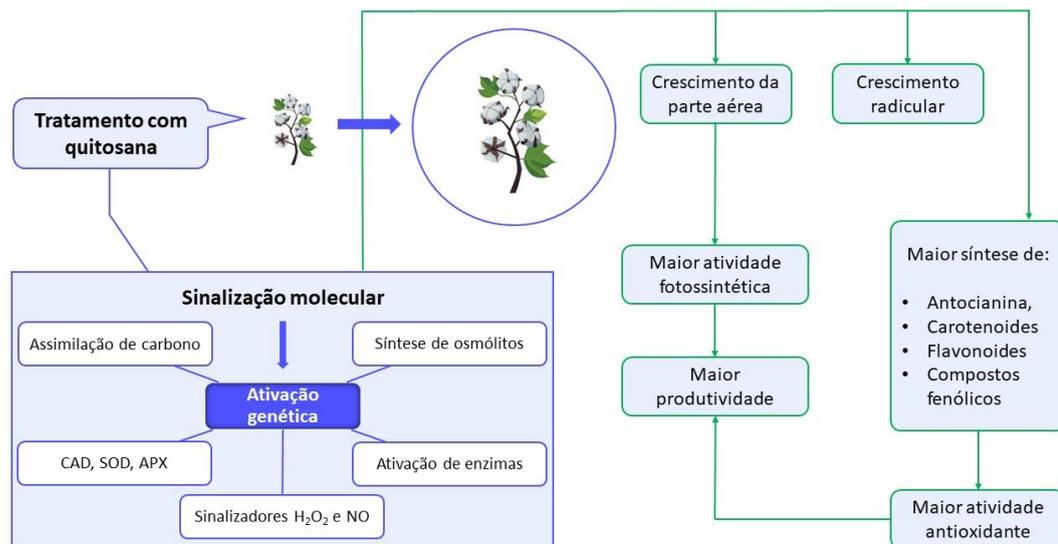


Figura 4. Uma visão geral da regulação do crescimento vegetal mediado pela quitosana. Fonte: Chakraborty *et al.* (2020).

### 3.1.3. Remediação de estresses abióticos

A quitosana tem sido utilizada nas plantas para conferir resistência contra estresses abióticos, como déficit hídrico, salinidade, estresse térmico e toxicidade de metais pesados (MALERBA; CERANA, 2015). No estresse por seca ou desidratação, o tratamento com quitosana alivia o efeito do estresse hídrico pelo aumento da produção de enzimas antioxidantes, fortalecendo a capacidade de absorção de água por meio do aumento do crescimento das raízes e das atividades fotossintéticas (HIDANGMAYUM *et al.*, 2019). A quitosana também contribui para o aumento do teor de açúcar solúvel, como glicose e frutose, que são importantes nas estratégias de mitigação da seca por meio da transdução de sinal, modulação de respostas ao estresse e aumento do crescimento e desenvolvimento da planta (HIDANGMAYUM; DWIVEDI, 2022).

O estresse salino modula a reação bioquímica e acumula espécies reativas de oxigênio, que interrompem a maquinaria celular e causam estresse oxidativo. No entanto, há relatos significativos em que a quitosana ou derivados de quitosana regulam e aliviam o estresse induzido pelo sal. O pré-tratamento com quitosana durante o estresse salino resultou em aumento das atividades das enzimas antioxidantes e menor nível de conteúdo de malondialdeído (MDA), o que reduz o efeito negativo causado pelo estresse salino em *Zea mays* (AL TAWAHA *et al.*, 2018). O estresse térmico é frequentemente considerado uma questão complicada, pois geralmente coincide com o estresse hídrico e é difícil monitorar esses dois estresses. Já foi relatado que a pulverização foliar de quitosana em combinação com zinco e ácido húmico em

*Phaseolus vulgaris* L. ajuda na tolerância à estresse térmico sob plantas semeadas tardiamente (IBRAHIM; RAMADAN, 2015).

### **3.1.4. Modificações químicas da quitosana**

Existem inúmeras modificações químicas da quitosana importantes de serem exploradas, pois tem o potencial de aumentar suas aplicações. A quitosana possui propriedades únicas de biocompatibilidade e biodegradabilidade, porém, apesar de ter muitas vantagens, sua baixa solubilidade em água, baixa área superficial e porosidade são os principais fatores limitantes em sua utilização. Este problema é provavelmente o principal fator limitante da utilização de quitosana (WANG; XUE; MAO, 2020). A modificação química é uma maneira eficaz de melhorar sua solubilidade e, ao mesmo tempo, melhorar suas propriedades físico-químicas, como estabilidade térmica, resistência à oxidação e propriedades antibacterianas (AZMY *et al.*, 2019). Assim, a aplicação da quitosana é ampliada em vários campos. Existem muitos métodos de modificação da quitosana: por carboxilação, alquilação, acilação, reação de quaternização, copolimerização do enxerto, dentre outras (WANG; XUE; MAO, 2020).

## **4. Algodão**

### **4.1. Produção de algodão no Brasil**

A cultura do algodão vem ganhando cada vez mais destaque no agronegócio brasileiro. No ano de 2018, o Brasil registrou uma produção de aproximadamente 7 milhões de toneladas (Figura 4). Isso coloca o país como o quarto produtor mundial, ficando atrás apenas da China, Índia e dos Estados Unidos (ALCANTARA; VEDANA; VIEIRA FILHO, 2023). As exportações de algodão em pluma geraram divisas externas, em 2019, de R\$ 10,6 bilhões (FAOSTAT, 2021). O Produto Interno Bruto (PIB) do agronegócio da cadeia do algodão, calculado pelo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, foi de R\$ 16,1 bilhões em 2017 (CEPEA, 2020). Esse é um cenário promissor, pois o país se encontra entre os principais produtores e também um dos maiores consumidores desse produto.

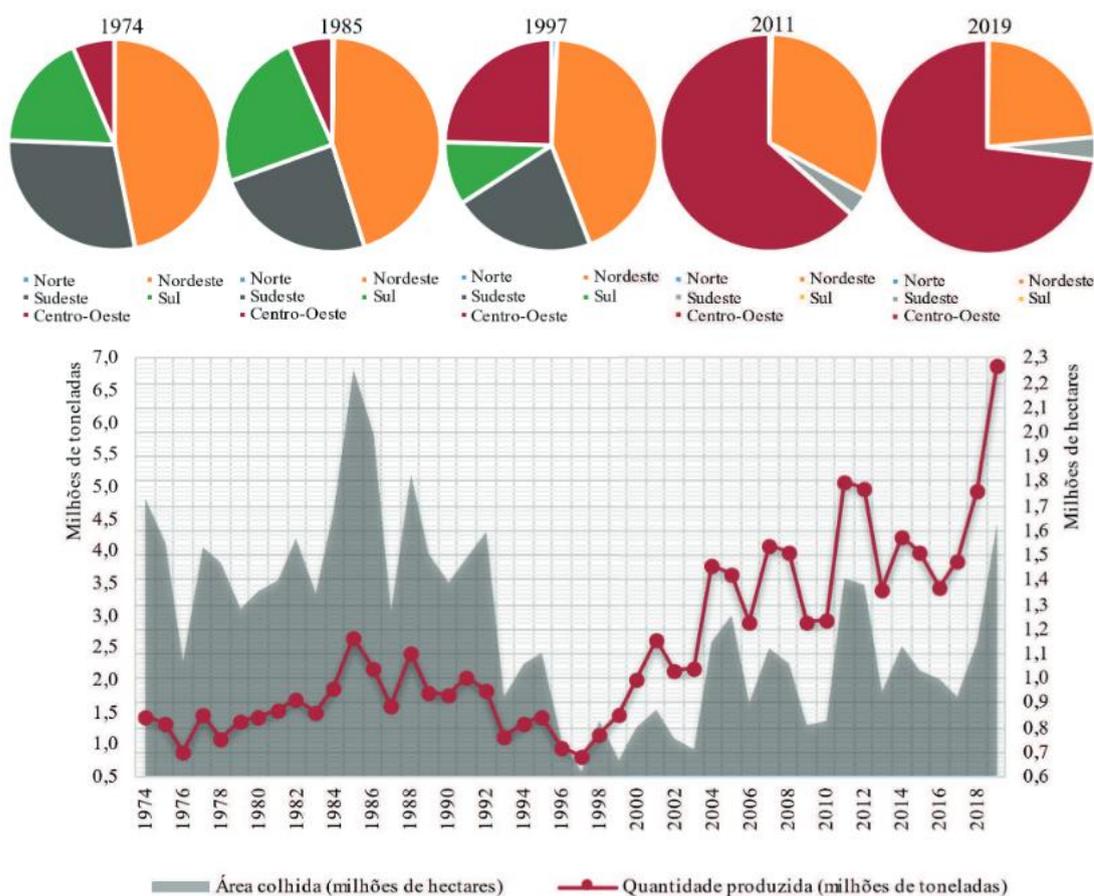


Figura 5. Área colhida (milhões de hectares) e quantidade produzida (milhões de toneladas) da cultura de algodão herbáceo no Brasil entre 1974 e 2019 e distribuição de área colhida nas regiões de planejamento (1974, 1985, 1997, 2011, 2019). Fonte: Alcantara, Vendana e Vieira Filho (2023).

Entretanto, essa crescente de produção vem acompanhada de um aumento significativo no uso de agroquímicos. A cultura do algodão já é responsável por aproximadamente 10% do total de agrotóxicos utilizados no Brasil, com aplicação média de 28 litros por hectare de área cultivada, sendo a quarta cultura que mais consome agrotóxicos no Brasil (BOMBARDI, 2017) (Figura 5). Essa perspectiva é preocupante e evidencia a necessidade de uma visão ecologicamente correta, o que faz do uso de biofertilizantes e BPCP uma alternativa interessante.

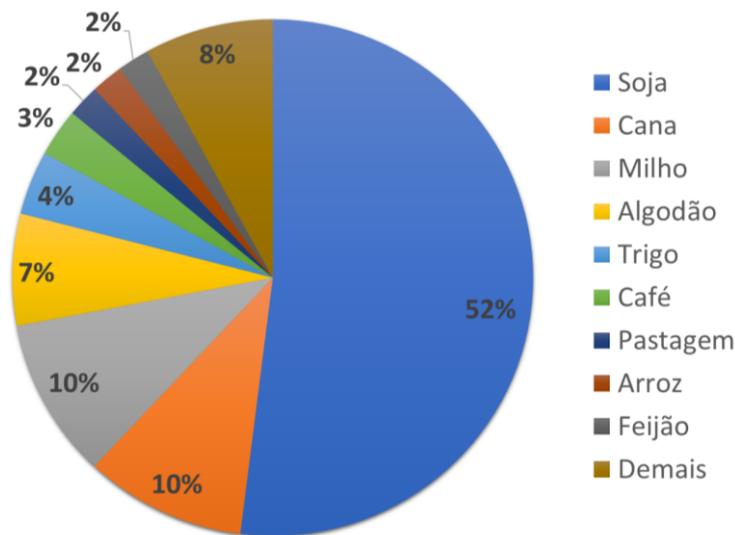


Figura 6. Venda de agrotóxicos por cultura no Brasil. Fonte: SINDIVEG (2023).

#### 4.2. Produção de algodão no semiárido nordestino

No semiárido nordestino, o algodão possui uma grande importância socioeconômica, seja devido ao beneficiamento de suas fibras para a indústria têxtil, ou do caroço, que é utilizado na produção de óleo e ração animal. Além disso, suas folhas também servem como uma importante fonte de proteína para a alimentação dos animais na época seca (ALVES *et al.*, 2019). O cultivo dessa oleaginosa enfrenta vários desafios na região, que apresenta elevadas temperaturas diurnas e baixas temperaturas noturnas, alta radiação solar, baixa umidade do ar e baixa precipitação pluviométrica. Os solos em sua grande maioria são rasos, com baixa capacidade de armazenamento de água, apresentam pH ácidos, drenagem insuficiente e escarces de nutrientes. Todas essas características limitam o cultivo das plantas e a criação de animais nessa área, com reflexo na economia regional e na qualidade de vida dos habitantes (ALVES *et al.*, 2016).

Apesar disso, o semiárido nordestino está vivenciando um processo de renascimento da cultura do algodão. Uma conjunção de fatores tem proporcionado esse novo ciclo que, embora ainda tímido em extensão territorial, apresenta um engajamento consistente ao longo de sua cadeia produtiva na região. Dentre esses fatores, pode-se incluir: a evolução do sistema de produção baseado nos princípios da agroecologia; as inovações nos serviços de assistência técnica e extensão rural; o aumento da sensibilidade de pesquisadores de centros de pesquisa, como Embrapa e universidades em buscar soluções acessíveis à agricultura familiar; as mudanças na legislação de certificação de produtos orgânicos; e um crescente interesse pela fibra de algodão orgânico por parte de empresas ligadas às indústrias têxteis, de confecções e às redes de comércio (MATTOS *et al.*, 2020).

Nesse sentido, uma abordagem sustentável e economicamente viável baseada em métodos ecologicamente corretos e acessíveis se faz relevante e necessária. O investimento em pesquisas com foco nos biofertilizantes e nas BPCP pode ser uma alternativa viável nesse cenário. Ahmed, Mona e Yehia (2020) observaram melhoria significativa no crescimento, rendimento e propriedades da fibra produzida por plantas de algodão egípcio inoculadas com estirpes de *Priestia (Bacillus) megaterium*. Estes autores relatam incremento no crescimento da planta, número de ramos de frutos, número de capulhos por planta, peso dos capulhos, rendimento de algodão em pluma e propriedades da fibra. Dados como este sugerem que a inoculação pode ser uma abordagem interessante para o cultivo do algodoeiro nas condições do semiárido brasileiro.

## REFERÊNCIAS

- ABDELAAL, K. *et al.* The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants. **Biology**, v. 10, n. 6, 2021.
- AFZAL, I. *et al.* Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological Research**, v. 221, p. 36–49, 1 abr. 2019.
- AHMED, H.S.A.; MONA, H.A.H.; YEHIA, W.M.B. Response of some egyptian cotton varieties for biofertilizer and its effect on yield, yield components and fiber traits. **Plant Archives**, v. 20, n. 2, p. 9575–9583, 2020.
- AL TAWAHA, A.R. *et al.* Using chitosan to improve growth of maize cultivars under salinity conditions. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 24, ago. 2018.
- ALCANTARA, I.R.D.; VEDANA, R.; VIEIRA FILHO, J.E.R. O Caso Emblemático da Produção de Algodão no Brasil de 1974 A 2019. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 54, n. 2, p. 139–155, 27 jun. 2023.
- ALI, S. *et al.* Functional characterization of potential PGPR exhibiting broad-spectrum antifungal activity. **Microbiological Research**, v. 232, 1 fev. 2020.
- ALORI, E.T.; GLICK, B.R.; BABALOLA, O.O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.
- ALVES, F.A.L. *et al.* Chemical and nutritional variability of cactus pear cladodes, genera *Opuntia* and *Nopalea*. **American Journal of Food Technology**, v. 12, n. 1, p. 25–34, 15 dez. 2016.
- ALVES, F.A.L. *et al.* Competição de variedades de algodão herbáceo para cultivo no agreste pernambucano. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 24, n. 1, 2019.
- AMARA, U.; KHALID, R.; HAYAT, R. Soil bacteria and phytohormones for sustainable crop production. Em: MAHESHWARI, D. K. (Ed.). **Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 87–103.
- AZMY, E.A.M. *et al.* Synthesis, characterization, swelling and antimicrobial efficacies of chemically modified chitosan biopolymer. **Journal of Molecular Liquids**, v. 284, p. 748–754, 2019.

BAKHSHANDEH, E. *et al.* Effects of plant growth promoting microorganisms inoculums on mineral nutrition, growth and productivity of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Nutrition**, v. 43, n. 11, p. 1643–1660, 2 jul. 2020.

BAREA, J.M. Future challenges and perspectives for applying microbial biotechnology in sustainable agriculture based on a better understanding of plant-microbiome interactions. **Journal of soil science and plant nutrition**, 2015.

BARGAZ, A. *et al.* Soil microbial resources for improving fertilizers efficiency in an integrated plant nutrient management system. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

BASU, A. *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. **Sustainability**, v. 13, n. 3, 2021.

BOMBARDI, L.M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. 1. ed. São Paulo: [s.n.].

BRASIL. **Ministério da Agricultura e Pecuária. Programa Nacional de Bioinsumos: Conceitos**. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitosprograma/conceitos>>. Acesso em: 4 jul. 2023.

CALVO, P. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria induce changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression of nitrate and ammonium uptake genes. **Journal of Plant Interactions**, v. 14, n. 1, p. 224–231, 1 jan. 2019.

CEPEA. **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada**. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/indicador/algodao.aspx>>. Acesso em: 20 ago. 2023.

CHAKRABORTY, M. *et al.* Mechanism of plant growth promotion and disease suppression by chitosan biopolymer. **Agriculture**, v. 10, n. 12, 2020.

CHANG, C.Q.A. How do plants respond to ethylene and what is its importance? **BMC Biology**, v. 14, n. 1, p. 7, 2016.

CHIAPPERO, J. *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. **Industrial Crops and Products**, v. 139, 1 nov. 2019.

CHOUDHARY, R.C. *et al.* Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.). **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

COHEN, A.C. *et al.* *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. **Physiologia Plantarum**, v. 153, n. 1, p. 79–90, 1 jan. 2015.

CURÁ, J.A. *et al.* Inoculation with *Azospirillum* sp. and *Herbaspirillum* sp. bacteria increases the tolerance of maize to drought stress. **Microorganisms**, v. 5, n. 3, 2017.

DIVYA, K.; JISHA, M.S. Chitosan nanoparticles preparation and applications. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 1, p. 101–112, 2018.

DIVYA, K.; SHARREL, R.; JISHA, S. **A Simple and Effective Method for Extraction of High Purity Chitosan from Shrimp Shell Waste**. Jan. 2014.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of United Nations**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/TCL/visualize>>. Acesso em: 20 ago. 2023.

FLURY, P. *et al.* Antimicrobial and insecticidal: cyclic lipopeptides and hydrogen cyanide produced by plant-beneficial pseudomonas strains CHA0, CMR12a, and PCL1391 contribute to insect killing. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.

GLICK, B.R. Introduction to plant growth-promoting bacteria. In: GLICK, B. R. (Ed.). **Beneficial plant-bacterial interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 1–37.

GLICK, B.R.; GAMALERO, E. Recent developments in the study of plant microbiomes. **Microorganisms**, v. 9, n. 7, 2021.

GÓMEZ-GODÍNEZ, L.J. *et al.* A look at plant-growth-promoting bacteria. **Plants**, v. 12, n. 8, 2023.

HIDANGMAYUM, A. *et al.* Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 25, n. 2, p. 313–326, 2019.

HIDANGMAYUM, A.; DWIVEDI, P. Chitosan based nanoformulation for sustainable agriculture with special reference to abiotic stress: a review. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 30, n. 4, p. 1264–1283, 2022.

IBRAHIM, E.A.; RAMADAN, W.A. Effect of zinc foliar spray alone and combined with humic acid or/and chitosan on growth, nutrient elements content and yield of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants sown at different dates. **Scientia Horticulturae**, v. 184, p. 101–105, 2015.

- ILANGUMARAN, G.; SMITH, D.L. Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: a systems biology perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.
- İPEK, M. *et al.* Sustainability of crop production by pgpr under abiotic stress conditions. In: KUMAR, A.; MEENA, V. S. (Eds.). **Plant growth promoting rhizobacteria for agricultural sustainability: from theory to practices**. Singapore: Springer Singapore, 2019. p. 293–314.
- JANG, J.H. *et al.* Physiological changes and growth promotion induced in poplar seedlings by the plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis* JS. **Photosynthetica**, v. 56, n. 4, p. 1188–1203, 1 nov. 2018.
- KAUR, T. *et al.* Plant growth promotion of barley (*Hordeum vulgare* L.) by potassium solubilizing bacteria with multifarious plant growth promoting attributes. **Plant Science Today**, v. 8, n. sp1, p. 17–24, 31 dez. 2021.
- KLOEPFER, J.; SCHROTH, M.N. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: **Proc. of the IV international conference on plant pathogenic bacteria, France**. p. 879–882, 1978.
- LASTOCHKINA, O. *et al.* Plant growth-promoting bacteria: biotic strategy to cope with abiotic stresses in wheat. In: HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; HOSSAIN, M.D.A. (Eds.). **Wheat production in changing environments: responses, adaptation and tolerance**. Singapore: Springer Singapore, 2019. p. 579–614.
- LIU, F. *et al.* Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 20, p. 9155–9164, 2013.
- MAHMUD, K. *et al.* Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. **Plants**, v. 9, n. 1, 2020.
- MALERBA, M.; CERANA, R. Reactive oxygen and nitrogen species in defense/stress responses activated by chitosan in sycamore cultured cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 2, p. 3019–3034, 2015.
- MAREI, G.I.K.H.; RABEA, E.I.; BADAWEY, M.E.I. Preparation and characterizations of chitosan/citral nanoemulsions and their antimicrobial activity. **Applied Food Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 69–78, 23 mar. 2018.
- MARTINS DA COSTA, E. *et al.* Phosphate-solubilising bacteria enhance *Oryza sativa* growth and nutrient accumulation in an oxisol fertilized with rock phosphate. **Ecological Engineering**, v. 83, p. 380–385, 1 out. 2015.

- MATTOS, L.C. *et al.* A saga do algodão no semiárido nordestino: histórico, declínio e as perspectivas de base agroecológica. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 55, 17 dez. 2020.
- MAZID, M.; KHAN, T.A. Future of bio-fertilizers in indian agriculture: an overview. **International Journal of Agricultural and Food Research**, v. 3, n. 3, p. 10–23, 2014.
- MENG, D. *et al.* Antifungal activity of chitosan against *Aspergillus ochraceus* and its possible mechanisms of action. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 1063–1070, 2020.
- MISHRA, P.; MISHRA, J.; ARORA, N.K. Plant growth promoting bacteria for combating salinity stress in plants – Recent developments and prospects: A review. **Microbiological Research**, v. 252, 1 nov. 2021.
- MITRA, D. *et al.* Amelioration of thermal stress in crops by plant growth-promoting rhizobacteria. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 115, 2021.
- NATH YADAV, A. Plant growth promoting bacteria: biodiversity and multifunctional attributes for sustainable agriculture. **Advances in Biotechnology & Microbiology**, v. 5, n. 5, 24 ago. 2017.
- NGALIMAT, M.S. *et al.* Plant growth-promoting bacteria as an emerging tool to manage bacterial rice pathogens. **Microorganisms**, v. 9, n. 4, 2021.
- OKAZAKI, S. *et al.* Rhizobium–legume symbiosis in the absence of Nod factors: two possible scenarios with or without the T3SS. **The ISME Journal**, v. 10, n. 1, p. 64–74, 2016.
- OLANREWaju, O.S.; GLICK, B.R.; BABALOLA, O.O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 11, p. 1–16, 2017.
- OLEŃSKA, E. *et al.* Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. **Science of The Total Environment**, v. 743, 15 nov. 2020.
- PANDEY, P.; VERMA, M.; DE, N. Chitosan in agricultural context - A review. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 7, p. 87–96, 30 jul. 2018.
- PATHANIA, P. *et al.* Role of plant growth-promoting bacteria in sustainable agriculture. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 30, 1 nov. 2020.

PEREIRA, S.I.A.; CASTRO, P.M.L. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance *Zea mays* growth in agricultural P-deficient soils. **Ecological Engineering**, v. 73, p. 526–535, 1 dez. 2014.

RAZAQ, M. *et al.* Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of *Acer mono*. **PLOS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–13, ago. 2017.

ROMÁN-DOVAL, R. *et al.* Chitosan: Properties and its application in agriculture in context of molecular weight. **Polymers**, v. 15, n. 13, 2023.

RUGHÖFT, S. *et al.* Community composition and abundance of bacterial, archaeal and nitrifying populations in savanna soils on contrasting bedrock material in Kruger National Park, South Africa. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016.

SABERI-RISEH, R.; FATHI, F.; MORADZADEH-ESKANDARI, M. Effect of some *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* strains on osmolytes and antioxidants of cucumber under salinity stress. **Journal of Crop Protection**, v. 9, n. 1, 2020.

SAH, S.K.; REDDY, K.R.; LI, J. Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.

SALOMON, M.V. *et al.* Bacteria isolated from roots and rhizosphere of *Vitis vinifera* retard water losses, induce abscisic acid accumulation and synthesis of defense-related terpenes in in vitro cultured grapevine. **Physiologia Plantarum**, v. 151, n. 4, p. 359–374, 1 ago. 2014.

SCHÜTZ, L. *et al.* Improving crop yield and nutrient use efficiency via biofertilization—A global meta-analysis. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2018.

SINDIVEG. **Mercado Total de Defensivos Agrícolas por Produto Aplicado**. Disponível em: <<https://sindiveg.org.br/mercado-total/>>. Acesso em: 22 ago. 2023.

SINGH, M. *et al.* Chapter three - Plant growth promoting rhizobacteria: Application in biofertilizers and biocontrol of phytopathogens. In: SINGH, A.K.; KUMAR, A.; SINGH, P.K. (Eds.). **PGPR amelioration in sustainable agriculture**. [s.l.] Woodhead Publishing, 2019. p. 41–66.

SINGH, V.K. *et al.* Interaction of plant growth promoting bacteria with tomato under abiotic stress: A review. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 267, p. 129–140, 15 nov. 2018.

TAHIR, H.A.S. *et al.* Plant Growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.

TALEBI ATOUEI, M.; POURBABAEI, A.A.; SHORAFI, M. Alleviation of salinity stress on some growth parameters of wheat by exopolysaccharide-producing bacteria. **Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science**, v. 43, n. 5, p. 2725–2733, 2019.

TIWARI, P. *et al.* Phytohormones producing fungal communities: Metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crops. In: YADAV, A. N. *et al.* (Eds.). **Agriculturally important fungi for sustainable agriculture: Volume 1: Perspective for diversity and crop productivity**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 171–197.

TSEGAYE, Z.; ASSEFA, F.; BEYENE, D. Properties and application of plant growth promoting rhizobacteria. **Int J Curr Trends Pharmacobiol Med Sci**, v. 2017, p. 30–43, 1 jan. 2017.

TSUKANOVA, K.A. *et al.* Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 91–102, 1 nov. 2017.

UMESHA, S.; SINGH, P.K.; SINGH, R.P. Microbial Biotechnology and sustainable agriculture. **Biotechnology for Sustainable Agriculture: Emerging Approaches and Strategies**, p. 185–205, 1 jan. 2018.

VAISHNAV, A. *et al.* PGPR-Mediated amelioration of crops under salt stress. In: CHOUDHARY, D.K.; VARMA, A.; TUTEJA, N. (Eds.). **Plant-microbe interaction: An approach to sustainable agriculture**. Singapore: Springer Singapore, 2016. p. 205–226.

VILLARREAL-DELGADO, M.F. *et al.* El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. **Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology**, v. 36, n. 1, 4 jan. 2018.

WAGI, S.; AHMED, A. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA. **PeerJ**, v. 7, 23 jul. 2019.

WANG, W.; XUE, C.; MAO, X. Chitosan: Structural modification, biological activity and application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 4532–4546, 2020.

XING, K. *et al.* Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 2, p. 569–588, 2015.

YOUSEF, N.M.H. Capability of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) for producing indole acetic acid (IAA) under extreme conditions. **European Journal of Biological Research**, 10 set. 2018.

YU, Y. *et al.* Induced systemic resistance for improving plant immunity by beneficial microbes. **Plants**, v. 11, n. 3, 2022.

## CAPÍTULO 1

### ARTIGO

***Priestia* spp.: bactérias que promovem o crescimento sustentável da cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**

**Autores:** Mateus Henrique Freire Farias; Ana Raquel Pereira de Melo; Elis Marina de Freitas; Marcos Antônio Barbosa Lima; Fernando Augusto da Silveira; Éder Galinari

**Status:** Submetido

**Revista:** Revista Brasileira de Ciências Ambientais (RBCIAMB)

**Qualis:** A3

**Normas da revista:** [https://www.rbciamb.com.br/Publicacoes\\_RBCIAMB/about/submissions](https://www.rbciamb.com.br/Publicacoes_RBCIAMB/about/submissions)

***Priestia* spp.: bactérias que promovem o crescimento sustentável da cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**

***Priestia* spp.: bacteria that promote sustainable growth of cotton crops (*Gossypium hirsutum* L.)**

**Resumo**

Estudos envolvendo bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) vêm chamando cada vez mais atenção no setor agrícola, devido ao seu potencial para melhorar o crescimento, produção e proteger as plantas dos estresses bióticos e abióticos. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de três espécies de BPCP (*Bacillus subtilis*, *Priestia megaterium* e *Priestia aryabhatai*) no crescimento e nos aspectos morfológicos e bioquímicos de plantas jovens de *Gossypium hirsutum* L. (algodão). O experimento foi conduzido em casa de vegetação com quatro tratamentos (controle e três inoculações) e cinco repetições por tratamento. As sementes foram inoculadas por imersão em suspensões bacterianas ( $10^9$  UFC/mL) e então semeadas em vasos. As plantas foram acompanhadas por 60 dias. Na coleta, as plantas foram mensuradas quanto a massa fresca das raízes e da parte aérea, a altura da parte aérea, diâmetro do caule e número de folhas. Amostras foliares foram submetidas às análises bioquímicas. Os resultados obtidos mostraram que sementes tratadas com *P. aryabhatai* tiveram melhorias significativas nos parâmetros de massa fresca, altura da planta, diâmetro do caule e número de folhas e nos teores de clorofila (*a*, *b* e total), nitrogênio (N) e proteínas em relação às plantas do tratamento controle. Plantas tratadas com *P. megaterium* também obtiveram melhorias na massa fresca, no diâmetro do caule e nos teores de N e proteínas. Esses resultados indicam um potencial dessas BPCP para utilização em culturas do algodão, podendo ser empregadas na elaboração de bioestimulantes e biofertilizantes.

**Palavras-chave:** Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP); algodão; *Bacillus subtilis*, *Priestia megaterium*, *Priestia aryabhatai*.

## Abstract

Studies involving plant growth-promoting bacteria (PGPB) are attracting increasing attention in the agricultural sector, due to their potential to improve growth, production and protect plants from biotic and abiotic stresses. The present study aimed to evaluate the effects of three species of PGPB (*Bacillus subtilis*, *Priestia megaterium* and *Priestia aryabhatai*) on the growth and morphological and biochemical aspects of young *Gossypium hirsutum* L. (cotton) plants. The experiment was conducted in a greenhouse with four treatments (control and three inoculations) and five replications per treatment. The seeds were inoculated by immersion in bacterial suspensions ( $10^9$  CFU/mL) and then sown in pots. The plants were monitored for 60 days. During collection, the plants were measured for the fresh mass of the roots and shoots, the height of the shoots, stem diameter and number of leaves. Leaf samples were collected and used in biochemical analyses. The results obtained showed that seeds treated with *P. aryabhatai* had significant improvements in the parameters of fresh mass, plant height, stem diameter and number of leaves and in the contents of chlorophyll (a, b and total), nitrogen (N) and proteins in relation to plants in the control treatment. Plants treated with *P. megaterium* also achieved improvements in fresh mass, stem diameter, N and protein content. These results indicate the potential of these PGPB for use in agriculture in crops such as cotton and can be employed in the preparation of biostimulants and biofertilizers.

**Key words:** Plant growth-promoting bacteria (PGPB); cotton; *Bacillus subtilis*, *Priestia megaterium*, *Priestia aryabhatai*.

## 1. Introdução

As bactérias constituem um dos mais diversos e dominantes grupos de microrganismos presentes no solo. O metabolismo diversificado e a capacidade de utilizar uma ampla gama de substâncias como fontes de nutrientes e energia, torna as bactérias importantes parceiras na interação com as plantas (Oleńska et al., 2020). Essas interações benéficas incluem o fornecimento de nutrientes, estimulação do crescimento, produção de fitohormônios, biocontrole de patógenos, melhoria na estrutura do solo, bioacumulação de compostos inorgânicos e biorremediação de estresses bióticos e abióticos (Singh et al., 2017).

Bactérias que beneficiam, direta ou indiretamente, o crescimento das plantas, são comumente chamadas de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP). As BPCP têm chamado particular atenção no setor agrícola, devido ao seu potencial para substituir ou reduzir o uso dos agroquímicos tóxicos e mitigar seus efeitos nocivos ao meio ambiente e à saúde humana. Nas últimas duas décadas, os termos biofertilizante ou bioinoculante vêm sendo comumente utilizados devido ao progresso alcançado nos estudos sobre a associação entre microrganismos e plantas (Basu et al., 2021).

Dentro desse grupo de bactérias, algumas espécies se destacam devido ao seu potencial para originar muitos produtos importantes para as indústrias alimentícia, farmacêutica, ambiental e agrícola. As espécies *Bacillus subtilis*, *Priestia megaterium* e *Priestia aryabhatai* são capazes de produzir uma vasta gama de moléculas biologicamente ativas e úteis na promoção de crescimento de plantas e melhoramento de parâmetros bioquímicos, demonstrando grande potencial para serem comercializadas como biofertilizantes e bioinoculantes (Nascimento et al., 2020; Sun et al., 2020; Sultana et al., 2021).

O uso de BPCP busca introduzir uma perspectiva sustentável às atividades agrícolas do semiárido brasileiro, região onde se destaca o cultivo do algodoeiro. O Brasil é o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador de algodão do mundo e a região Nordeste é a segunda maior produtora de algodão do país, contribuindo com 26% da produção (Alves et al., 2019). O avanço do setor agrícola nessa região traz consigo preocupações inerentes relacionadas à degradação dos solos e aos riscos que os agroquímicos tóxicos trazem para a saúde única. Alternativas sustentáveis nesse setor são urgentes para a conservação da biodiversidade e para a manutenção da saúde única. Sendo assim, o presente estudo se propõe a avaliar a eficiência de três espécies bacterianas (*B. subtilis*, *P. megaterium* e *P. aryabhatai*) no crescimento e nos parâmetros bioquímicos de plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.).

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Origem das sementes e das linhagens bacterianas**

As sementes de algodoeiro (*G. hirsutum* L.), cultivar BRS 286, utilizadas no experimento não possuíam nenhum tipo de tratamento prévio e foram gentilmente cedidas pela produtora de sementes de algodão Josefa Maria Francieli da Silva situada no Crato-CE (Brasil). As espécies *Bacillus subtilis* (estirpe EKO700), *Priestia (Bacillus) megaterium* (estirpe EKO701) e *Priestia (Bacillus) aryabhatai* (estirpe EKO703) foram gentilmente cedidas pela Eko Life Sciences (Brasília, DF, Brasil).

### **2.2. Preparo do inóculo bacteriano e inoculação das sementes**

Para a inoculação das sementes, as linhagens bacterianas foram ativadas e crescidas separadamente em caldo nutriente a 30 °C por 48 horas. Em seguida, todas as suspensões foram ajustadas para 10<sup>9</sup> UFC/mL. Antes da inoculação, as sementes foram descontaminadas por imersão em hipoclorito de sódio a 2% por três minutos, seguida de três lavagens com água destilada para remoção do hipoclorito de sódio residual. Em seguida, a inoculação foi realizada por imersão das sementes em um Erlenmeyer contendo uma suspensão de cada bactéria ajustada a 10<sup>9</sup> UFC/mL, permanecendo sob agitação em agitador rotatório a 130 rpm por 30 minutos.

### **2.3. Montagem do experimento em casa de vegetação**

Foram estabelecidos quatro tratamentos, sendo um controle (sementes não inoculadas); tratamento I com sementes inoculadas com *B. subtilis*; tratamento II com sementes inoculadas com *P. megaterium*; tratamento III com sementes inoculadas com *P. aryabhatai*. Após a inoculação, as sementes foram levadas para casa de vegetação e então semeadas em sacos de polietileno de 30 por 20 cm contendo uma mistura de área fina, substrato vegetal e composto orgânico na proporção de 3,5:1,5:1, totalizando 5 kg de solo em cada repetição. A análise bioquímica do solo utilizado no experimento encontra-se na Tabela 1. Para cada tratamento foram estabelecidas cinco repetições e em cada saco de polietileno (repetição) foram semeadas cinco sementes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Sete dias após a semeadura (DAS), com as plântulas já emergidas, foi realizado o desbaste mantendo-se uma planta por saco (unidade experimental). Todos os tratamentos receberam irrigação diária padronizada pela capacidade de campo do substrato. Medições da altura de cada planta foram realizadas a cada sete dias e o experimento foi conduzido até os 60 DAS.

Tabela 1: Análise bioquímica do solo utilizado no experimento.

Amostra	pH	Ca	Mg	Al	Na	K	P	C.O.	M.O.	H+Al
	1:2,5	-----cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> -----					mg/dm <sup>3</sup>	---g/kg---		cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>
Substrato	5,85	3,2	2,1	0,15	0,24	0,09	43,83	18,33	31,60	4,20

Ca: cálcio; Mg: magnésio; Al: alumínio; Na: sódio; K: potássio; P: fósforo; C.O.: carbono orgânico; M.O.: matéria orgânica; H+Al: acidez potencial.

#### 2.4. Análises morfométricas

Aos 60 DAS, as plantas foram coletadas e mensurou-se a altura de cada planta, o diâmetro do caule (medido com paquímetro 2 cm acima do solo), o número de folhas, a massa fresca da parte aérea e da raiz e a massa fresca total. Amostras de folhas de cada repetição dos tratamentos também foram coletadas, trituradas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer (-18 °C) até o momento das análises bioquímicas.

#### 2.5. Análises bioquímicas

Para a realização das análises bioquímicas, amostras foliares trituradas em nitrogênio líquido foram maceradas em etanol a 80% e centrifugadas a 5.000 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente para a obtenção do extrato etanólico. A partir desse extrato, quantificou-se as concentrações de clorofila *a* e *b* pelo método espectrofotométrico de Arnon (1949) e carotenoides pelo método espectrofotométrico de Lichtenthaler e Wellburn (1983). As leituras foram realizadas nos comprimentos de onda de 645 nm, 663 nm e 470 nm, respectivamente e os resultados foram expressos em mg/g de massa fresca (MF). A quantificação de proteínas solúveis foi realizada pelo método espectrofotométrico de Bradford (1976) utilizando uma curva-padrão com albumina de soro bovino (BSA), as leituras realizadas a 595 nm e os resultados foram expressos em mg/g de MF.

Para determinação do conteúdo total de nitrogênio (N), amostras secas das folhas foram digeridas em ácido sulfúrico P.A. e as medições feitas com base no método colorimétrico proposto por Baethgen e Alley (1989). As leituras espectrofotométricas foram feitas no comprimento de onda de 650 nm e os resultados expressos em mg/g de massa seca (MS). Para as determinações de fósforo (P) e potássio (K), amostras secas das folhas foram submetidas à extração com ácido clorídrico P.A. As medições de P foram feitas pelo método espectrofotométrico (670 nm) do vanadato-molibdato e as medições de K foram feitas por fotometria de chama (Miyazawa et al., 2009).

#### 2.6. Análise estatística

Todos os resultados foram submetidos ao teste de homoscedasticidade (Levene) e ao

teste de normalidade (Shapiro-Wilk). Aos dados que se mostraram normais aplicou-se a análise de variância (ANOVA) e *a posteriori* o teste de comparação de médias de Duncan para detectar diferenças significativas entre os tratamentos no nível de significância de 5%. Para os dados que não se mostraram normais aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis e posteriormente o teste de Dunn ajustado por Bonferroni no nível de significância de 5%. Foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) com todos os dados obtidos para determinar a associação e a correlação entre os tratamentos e os parâmetros analisados. Uma análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) baseada no índice de Bray-Curtis foi utilizada para confirmar os grupos formados na PCA. E uma análise de correlação de Pearson foi realizada para buscar correlações entre os parâmetros analisados (no nível de significância de 5%). As análises estatísticas univariadas foram realizadas no software RStudio (versão 2022.07.2+576) e as análises multivariadas foram realizadas no software Past (versão 4.14).

### **3. Resultados e discussão**

#### **3.1. Crescimento vegetativo**

O acúmulo de biomassa avaliado através da quantificação da massa fresca total das plantas de algodão coletadas 60 DAS evidenciou valores significativamente maiores nos indivíduos tratados com *Priestia aryabhatai* em relação a todos os outros tratamentos, principalmente em relação ao tratamento controle, apresentando 49,3% mais biomassa do que plantas sem nenhuma inoculação (Figura 1b). Um investimento significativamente maior no crescimento radicular também foi observado em plantas inoculadas com *P. aryabhatai*, apresentando valores 94,2% maiores do que em plantas não inoculadas (Figura 1a). A massa fresca da parte aérea evidenciou um maior incremento em plantas tratadas com *P. aryabhatai* e *P. megaterium*, com 52,5% e 48,6%, respectivamente, mais biomassa do que plantas não inoculadas (Figura 1a). Além disso, também houve um incremento significativo na altura das plantas tratadas com *P. aryabhatai*, que foram 15,7% maiores do que as plantas do tratamento controle (Figura 1c) e na quantidade de folhas, que foram 36,8% maiores (Figura 1e). O diâmetro do caule também foi maior em plantas tratadas com *P. aryabhatai* e *P. megaterium*, que foram 15,5% maiores do que no tratamento controle (Figura 1d).

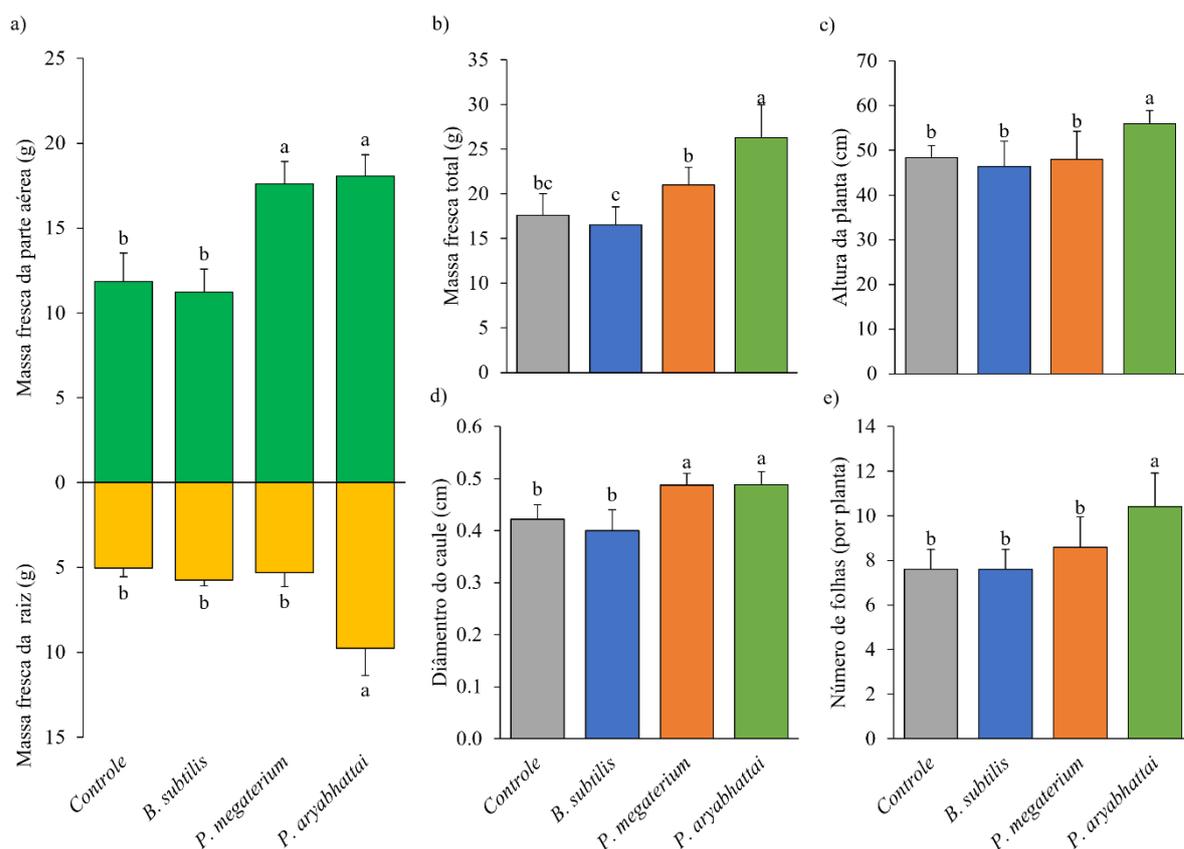


Figura 1. Massa fresca da raiz e da parte aérea (a), massa fresca total (b), altura (c), diâmetro do caule (d) e número de folhas (e) em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após semeadura. Letras distintas representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

Os efeitos positivos de *P. aryabhatai* e *P. megaterium* na biomassa das plantas de algodão podem ser atribuídos a muitos fatores interligados, como uma maior disponibilidade e acúmulo de nutrientes, maior eficiência no metabolismo primário vegetal e na produção de fitohormônios e melhor aclimação das plantas ao ambiente (Mendes et al., 2020; Munns et al., 2020). A capacidade das BPCP em promover o crescimento e aumento de biomassa nas plantas é conhecido e já foi relatado em muitas culturas vegetais economicamente importantes, estudos anteriores relataram efeitos positivos no crescimento de cana-de-açúcar, milho e soja promovidos por espécies dos gêneros *Bacillus* e *Priestia* (Antunes et al., 2017; Breedt et al., 2017; Bavaresco et al., 2020).

As raízes geralmente são mais responsivas aos efeitos das BPCP e um melhor crescimento radicular influencia diversos outros fatores importantes para o crescimento e rendimento das plantas (Bavaresco et al., 2020). Já foi relatado que o aumento de biomassa das raízes promovido por BPCP ocorre, principalmente, devido ao aumento do número de pelos radiculares, que são extremamente importantes para a absorção de água e nutrientes (Sousa et al., 2021). É provável que as BPCP em questão tenham empregado uma combinação de

mecanismos diretos e indiretos para aumentar o crescimento radicular, como síntese de ácido indolacético, um fitohormônio diretamente relacionado com o alongamento celular, e solubilização de fosfato (Mendes et al., 2020).

Incrementos na altura da parte aérea e no diâmetro do caule também podem estar relacionados a produção de fitohormônios. Tahir et al. (2017) relataram que BPCP podem induzir alterações na expressão gênica do metabolismo dos fitohormônios nos tecidos vegetais, aumentando assim, os níveis endógenos desses hormônios e influenciando as respostas de crescimento das plantas. O diâmetro do caule está relacionado com a sustentação da planta e com os processos de transporte de água e nutrientes. A translocação de fotossintatos, por exemplo, ocorre através do floema e é necessária para manter o crescimento das plantas. Sendo assim, caules mais grossos nos estágios iniciais da planta permitem um transporte mais eficiente desses fotoassimilados, resultando em maior crescimento vegetal (Lemoine et al., 2013).

*P. aryabhatai* foi relatada como promotora de crescimento vegetal pela primeira vez por Lee et al. (2012) que identificaram a promoção de crescimento em *Xanthium italicum* provocada por diferentes estirpes bacterianas dessa espécie, principalmente devido a solubilização de fosfato e produção de fitohormônios. Estudos recentes, relataram que estirpes de *P. aryabhatai* podem atuar em diversos mecanismos de crescimento vegetal, como fixação de N, produção de ácido indolacético, solubilização de fosfato, produção de sideróforos, atividade de 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase e produção de exopolissacarídeos (Farahat et al., 2020); além disso, por ser uma bactéria halotolerante, ela também é capaz de agir na aliviação de estresse salino (Sultana et al., 2021). Estirpes de *P. megaterium* também já foram relatadas como promotoras de crescimento de plantas, melhorando vários aspectos morfológicos, atuando na solubilização de nutrientes (como fósforo, potássio e zinco) e na produção de fitohormônios (Nascimento et al., 2020; Miljaković et al., 2022). No presente estudo, foi possível observar que a inoculação de plantas de algodão com *P. aryabhatai* e *P. megaterium* resultou em incrementos significativos nos parâmetros de crescimento vegetativo dessa cultura, corroborando com resultados encontrados por Bataeva et al. (2022) e Ahmad et al. (2023) que observaram o potencial dessas BPCP na promoção de crescimento e melhora no rendimento da cultura do algodão.

### **3.2. Pigmentos fotossintéticos**

O tratamento das plantas de algodão com as BPCP afetou significativamente a concentração de pigmentos fotossintéticos. Os conteúdos de clorofilas *a*, *b* e total foram maiores (16,3%, 17,2% e 16,5%, respectivamente) nas plantas inoculadas com *P. aryabhatai* do que

em plantas não inoculadas (Figura 2a). Os conteúdos de carotenoides (Figura 2b), bem como a razão clorofila *a*:clorofila *b* (Figura 2c) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos.

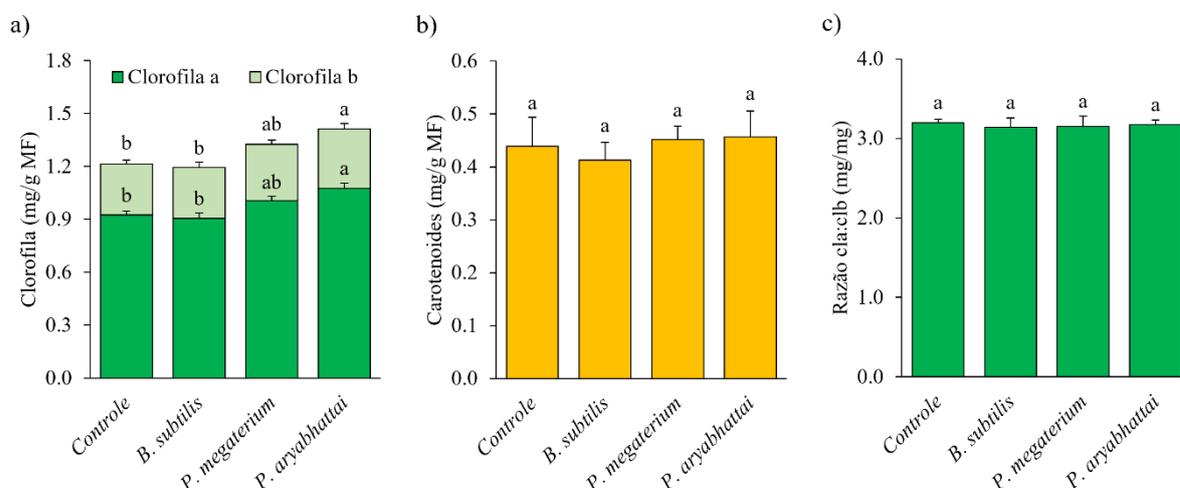


Figura 2. Conteúdos de clorofilas *a*, *b* e total (a), carotenoides (b) e razão clorofila *a*:clorofila *b* (c) em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após a semeadura. Letras distintas representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

A concentração de clorofila é um importante parâmetro fisiológico, pois está diretamente relacionado à taxa fotossintética e, conseqüentemente, ao crescimento das plantas. A clorofila *a* é o pigmento mais importante no processo da fotossíntese e o aumento do seu teor nas folhas pode evidenciar que a planta está tendo uma maior oferta de nitrogênio, principal nutriente necessário para a síntese da molécula de clorofila (Costa Neto et al., 2017). A clorofila *b* atua como pigmento acessório, contribuindo para ampliar a faixa de luz utilizada no processo de fotossíntese e, conseqüentemente, melhorando a taxa fotossintética e aumentando o crescimento e produtividade da planta (Peres et al., 2016). O aumento significativo no teor de clorofilas em plantas inoculadas com *P. aryabhatai* sugere a capacidade dessa BPCP em aumentar a assimilação de nutrientes essenciais como o nitrogênio, potencializar a atividade dos transportadores de elétrons relacionados à fotossíntese e melhorar a condutância estomática (Lima et al., 2019; Silva et al., 2019).

### 3.3. Macronutrientes e proteínas

Em relação aos principais macronutrientes da planta (N, P e K) apenas o teor de N foi significativamente afetado pela inoculação bacteriana em plantas de algodão. Nos três tratamentos com BPCP foram observados valores maiores em comparação com as plantas do tratamento controle, sendo que *P. aryabhatai*, *P. megaterium* e *B. Subtilis* foram responsáveis,

respectivamente, por um aumento de 270,9%, 248,9% e 243,1% no teor de nitrogênio em relação as plantas não inoculadas (Figura 3a).

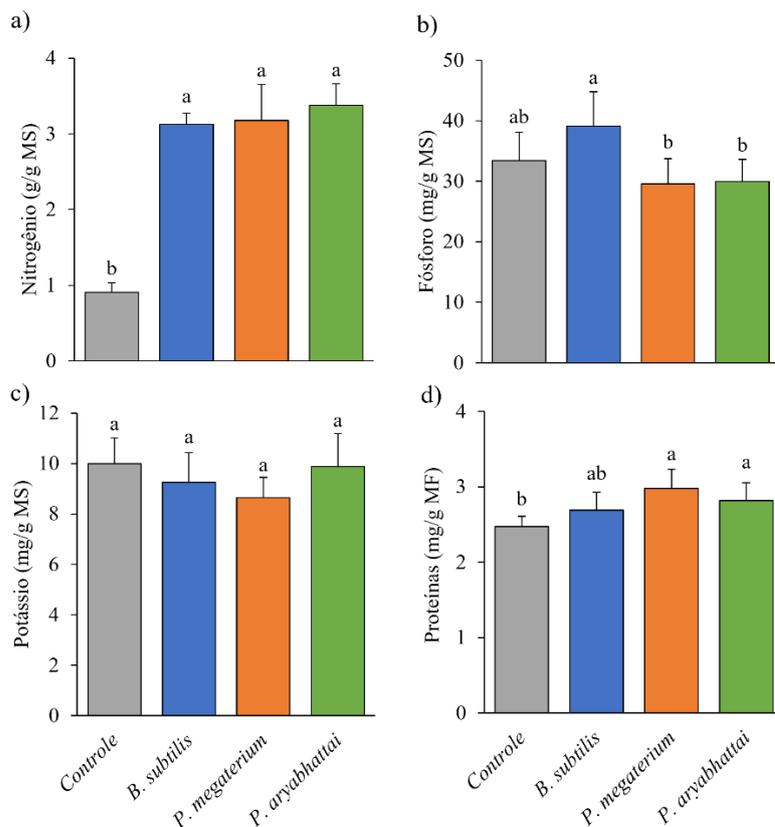


Figura 3. Teor de nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c) e proteínas em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após a sementeira. Letras distintas representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

Depois do carbono, o nitrogênio é o elemento mais abundante nas plantas e um dos nutrientes fundamentais na formação de proteínas, ácidos nucleicos, clorofilas e hormônios (Taiz e Zeiger, 2017). O nitrogênio está diretamente relacionado ao crescimento, metabolismo e produtividade de uma cultura vegetal, sendo exigido em grandes quantidades pelas plantas. Para evitar perdas e potencializar a produção, o setor agrícola faz uso da aplicação de altas doses de fertilizantes nitrogenados. No entanto, o uso intensivo desses fertilizantes tem causado a poluição, acidificação e degradação dos solos, resultando em perdas tanto para o meio ambiente como para a própria produtividade das culturas (Aquino et al., 2021). Nesse sentido, a ação de BPCP na disponibilização de N para a planta é relevante para a agricultura, tendo em vista que essas bactérias são capazes de afetar positivamente o metabolismo do N nas plantas, beneficiando uma cadeia de mecanismos importantes, melhorando a absorção de N pelo aumento da biomassa radicular, atuando na biossíntese de fitohormônios, incrementando a taxa fotossintética e a translocação de fotossintatos e auxiliando na produção de macromoléculas

como as proteínas (Bloom, 2015; Zeffa et al., 2019).

A quantificação de proteínas solúveis evidenciou que as plantas tratadas com *P. aryabhatai* e *P. megaterium* foram capazes de produzir quantidades maiores dessas moléculas (13,8% e 20,4%, respectivamente), em relação às plantas do tratamento controle (Figura 3d). As proteínas estão entre as moléculas mais abundantes nas plantas, desempenhando uma diversidade de funções e estão envolvidas em diversos aspectos do metabolismo vegetal, inclusive em mecanismos de aclimatação e adaptação a condições de estresse (Santos et al., 2018). A quantidade de proteína que uma planta possui está diretamente ligada a quantidade de nitrogênio que ela consegue assimilar (Soumare et al., 2020). No presente estudo, a quantidade de proteínas totais e o teor de N se mostraram positivamente correlacionados em plantas tratadas com *P. aryabhatai* e *P. megaterium*, evidenciando uma maior eficiência no metabolismo do N.

### **3.4. Análise de componentes principais (PCA) e correlação entre os parâmetros**

Através da PCA verificou-se os efeitos da inoculação em todos os parâmetros morfológicos e bioquímicos avaliados. Assim, essa análise destacou as diferenças encontradas entre as plantas inoculadas e não inoculadas em relação a todos os parâmetros avaliados e explicou 67,3% da variação total (Figura 4a). O primeiro componente principal (PC1) apresentou correlação positiva com a massa fresca da raiz (MFR), a massa fresca da parte aérea (MFPA), a massa fresca total (MFT), a altura da planta (ALT), o diâmetro do caule (DC), o número de folhas (NF), o teor de nitrogênio (N), o teor de proteínas (PRO) e o teor de clorofila total (CLOR). Negativamente, PC1 correlacionou-se apenas com teor de P e K. Já o segundo componente principal (PC2) apresentou correlações positivas com MFR, MFT, ALT, DC, NF, P e K. E negativamente, PC2 correlacionou-se com MFPA, N, PRO e CLOR.

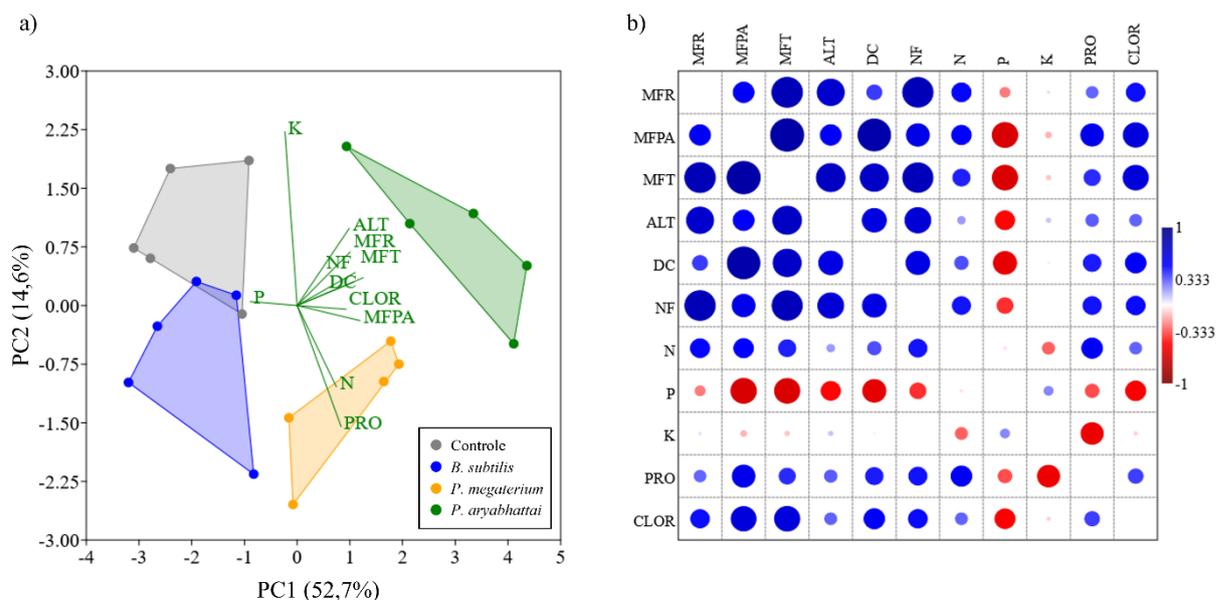


Figura 4. Análise de componentes principais (PCA) mostrando a distribuição de todas os parâmetros analisados (a) e correlograma elaborado com base na correlação de Pearson ( $p < 0,05$ ) para todas os parâmetros analisados (b). MFR: massa fresca da raiz; MFPA: massa fresca da parte aérea; MFT: massa fresca total; ALT: altura da planta; DC: diâmetro do caule; NF: número de folhas; N: nitrogênio; P: fósforo; K: potássio; PRO: proteínas; CLOR: clorofila total.

A análise PERMANOVA confirmou que as plantas tratadas com *P. aryabhatai* e *P. megaterium* formaram grupos distintos entre si e diferentes do grupo controle e do grupo tratado com *B. subtilis*, estes dois últimos não apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 2). A correlação de Pearson mostrou que todas as variáveis morfométricas se correlacionaram positivamente entre si, exceto DC e MFR. Essa análise também mostrou que o N está positivamente correlacionado com a MFR, a MFPA e com o NF. As proteínas se correlacionaram positivamente com MFPA, DC, NF e N. E a clorofila apresentou uma correlação positiva com MFR, MFPA, MFT, DC e NF (Figura 4b).

Tabela 2: Análise de variância permutacional (PERMANOVA) baseada no índice de Bray-Curtis para confirmar os grupos formados na PCA ( $F = 9,566$ ;  $p = 0,0001$ ). Valores de  $p$  para variância entre os grupos (nível de significância de 5%).

	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>P. megaterium</i>	<i>P. aryabhatai</i>
Controle		0,08	0,0221	0,0092
<i>B. subtilis</i>	0,08		0,0086	0,0112
<i>P. megaterium</i>	0,0221	0,0086		0,0155
<i>P. aryabhatai</i>	0,0092	0,0112	0,0155	

A formação de um grupo significativamente distinto do grupo controle e positivamente correlacionado com todas os parâmetros morfométricos nas plantas tratadas com *P. aryabhatai*

comprova o potencial dessa BPCP em promover o crescimento vegetativo na cultura do algodão. A correlação positiva entre os parâmetros também é importante, pois evidencia um equilíbrio no crescimento das plantas e no particionamento de nutrientes entre os órgãos vegetais (Bloom, 2015). Essa junção de evidências fortalece o potencial dessa BPCP em ser utilizada como bioinoculante na agricultura, especialmente na cultura do algodão. *P. megaterium* também formou um grupo distinto do tratamento controle e positivamente correlacionado com parâmetros de crescimento, sendo que a correlação mais forte nas plantas desse tratamento, considerando os parâmetros bioquímicos, deu-se nos teores de N e proteínas. Como o N é um nutriente fundamental na formação de proteínas, é importante que esses dois parâmetros apresentem uma forte correlação para que a planta também apresente crescimento e produtividade aumentados (Diaz et al., 2019).

#### 4. Conclusões

Surpreendentemente, a linhagem de *B. subtilis* avaliada neste trabalho não demonstrou efeitos positivos no crescimento de *G. hirsutum*, diferentemente do que é relatado na literatura para outras linhagens. Por outro lado, as BPCP *P. aryabhattai* e *P. megaterium* se mostraram capazes de beneficiar plantas de algodão, melhorando vários parâmetros morfológicos e bioquímicos, sugerindo atuar por mecanismos diretos e indiretos na promoção de crescimento e manutenção do metabolismo vegetal. Além disso, a capacidade em produzir metabólitos e formar esporos resistentes podem aumentar a viabilidade das suas células em produtos formulados comercialmente. Portanto, é possível propor que essas espécies possuem potencial para serem utilizadas na formulação de bioinoculantes e bioestimulantes na cultura do algodoeiro e configuram uma alternativa ecologicamente sustentável e economicamente viável na agricultura.

#### 5. Referências

Ahmad, I.; Ahmad, M.; Bushra; Hussain, A.; Mumtaz, M.Z.; Najm-ul-Seher; Abbasi, G.H.; Nazli, F.; Pataczek, L.; Ali, H.M., 2023. Mineral-Solubilizing Bacteria-Mediated Enzymatic Regulation and Nutrient Acquisition Benefit Cotton's (*Gossypium hirsutum* L.) Vegetative and Reproductive Growth. *Microorganisms* V. 11, (4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040861>.

Alves, F.A.L.; Cavalcante, F.S.; Oliveira-Júnior, I.S.; Ferraz, I.; Silva, S.M.S., 2019. Competição de variedades de algodão herbáceo para cultivo no agreste pernambucano.

Pesquisa Agropecuária Pernambucana, v. 24, (1). <https://doi.org/10.12661/pap.2019.003>.

Antunes, J.E.L.; Lyra, M.C.C.P.; Ollero, F.J.; Freitas, A.D.S.; Oliveira, L.M.S.; Araújo, A.S.F.; Figueiredo, M.V.B., 2017. Diversity of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane. *Genetics and Molecular Research*, v. 16, (2). <https://doi.org/10.4238/gmr16029662>.

Aquino, J.P.A.; Antunes, J.E.L.; Bonifácio, A.; Rocha, S.M.B.; Amorim, M.R.; Alcântara Neto, F.; Araujo, A.S.F., 2021. Plant growth-promoting bacteria improve growth and nitrogen metabolism in maize and sorghum. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, v. 33, (3), 249-60. <https://doi.org/10.1007/s40626-021-00209-x>.

Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, v. 24, (1), 1-15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>.

Baethgen, W.E.; Alley, M.M., 1989. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digests. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 20, (9-10), 961-969. <https://doi.org/10.1080/00103628909368129>.

Basu, A.; Prasad, P.; Das, S.N.; Kalam, S.; Sayyed, R.Z.; Reddy, M.S.; El Enshasy, H., 2021. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. *Sustainability*, v. 13, (3). <https://doi.org/10.3390/su13031140>.

Bataeva, Y.; Magzanova, D.; Baimukhambetova, A.; Grigoryan, L.; Vilkova, D., 2022. Influence of *Bacillus megaterium* to promote growing of cotton (*Gossypium Hirsutum* L.). *Dela Press Publishing House*, V. 2, (6). <https://doi.org/10.56199/dpcsebm.momz3523>.

Bavaresco, L.G.; Osco, L.P.; Araujo, A.S.F.; Mendes, L.W.; Bonifacio, A.; Araújo, F.F., 2020. *Bacillus subtilis* can modulate the growth and root architecture in soybean through volatile organic compounds. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, v. 32, (2), 99-108. <https://doi.org/10.1007/s40626-020-00173-y>.

Bloom, A.J., 2015. The increasing importance of distinguishing among plant nitrogen sources. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 25, 10-16. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.03.002>.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, (1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

Breedt, G.; Labuschagne, N.; Coutinho, T.A., 2017. Seed treatment with selected plant growth-promoting rhizobacteria increases maize yield in the field. *Annals of Applied Biology*, v. 171, (2), 229-36. <https://doi.org/10.1111/aab.12366>.

Costa Neto, V. P.; Mendes, J.B.S.; Araújo, A.S.F.; Alcântara Neto, F.; Bonifacio, A.; Rodrigues, A.C., 2017. Symbiotic performance, nitrogen flux and growth of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) varieties inoculated with different indigenous strains of rhizobia. *Symbiosis*, v. 73, (2), 117-24. <https://doi.org/10.1007/s13199-017-0475-6>.

Diaz, P.A.E.; Baron, N.C.; Rigobelo, E.C., 2019. 'Bacillus' Spp. as Plant Growth-Promoting Bacteria in Cotton under Greenhouse Conditions. *Australian Journal of Crop Science*, v. 13, (12), 2003-14. <https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.958243517246376>.

Farahat, M G, Mahmoud, M.K.; Youseif, S.H.; Saleh, S.A.; Kamel, Z., 2020. Alleviation of salinity stress in wheat by ACC deaminase-producing *Bacillus aryabhattai* EWR29 with multifarious plant growth-promoting attributes. *Plant Archives*, v. 20, (1), 417-29.

Lee, S.; Ka, J.O.; Song, H.G., 2012. Growth promotion of *Xanthium italicum* by application of rhizobacterial isolates of *Bacillus aryabhattai* in microcosm soil. *The Journal of Microbiology*, v. 50, (1), 45-49. <https://doi.org/10.1007/s12275-012-1415-z>.

Lemoine, R.; Camera, S.L.; Atanassova, R.; Dédaldéchamp, F.; Allario, T.; Pourtau, N.; Bonnemain, J.L.; Laloi, M.; Coutos-Thévenot, P.; Maurosset, L.; Faucher, M.; Girousse, C.; Lemonnier, P.; Parrilla, J.; Durant, M., 2013. Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Frontiers in Plant Science*, v. 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00272>.

Lichtenthaler, H.K.; Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, v. 11, (5), 591-592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.

Lima, B.C.; Moro, A.L.; Santos, A.C.P.; Bonifacio, A.; Araujo, A.S.F.; Araujo, F.F., 2019. *Bacillus subtilis* ameliorates water stress tolerance in maize and common bean. *Journal of Plant Interactions*, v. 14, (1), 432-439. <https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1645896>.

Mendes, J.B.S.; Costa Neto, V.P.; Sousa, C.D.A.; Carvalho Filho, M.R.; Rodrigues, A.C.; Bonifacio, A., 2020. Trichoderma and bradyrhizobia act synergistically and enhance the growth rate, biomass and photosynthetic pigments of cowpea (*Vigna unguiculata*) grown in controlled

conditions. *Symbiosis*, v. 80, (2), 133-143. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00662-y>.

Miljaković, D.; Marinković, J.; Tamindžić, G.; Đorđević, V.; Tintor, B.; Milošević, D.; Ignjatov, M.; Nikolić, Z., 2022. Bio-Priming of Soybean with *Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*: Strategy to Improve Seed Germination and the Initial Seedling Growth. *Plants*, v. 11, (15). <https://doi.org/10.3390/plants11151927>.

Miyazawa, M.; Pavan, M.A.; Muraoka, T.; Carmo, C.A.F.S.; Melo, W.J. 2009. Análise química de tecido vegetal. In: Silva, F.C. (Ed), *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Embrapa Informação Tecnológica, PP. 193-233.

Munns, R.; Passioura, J.B.; Colmer, T.D.; Byrt, C.S., 2020. Osmotic adjustment and energy limitations to plant growth in saline soil. *New Phytologist*, v. 225, (3), 1091-1096. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/nph.15862>.

Nascimento, F.X.; Hernández, A.G.; Glick, B.R.; Rossi, M.J., 2020. Plant growth-promoting activities and genomic analysis of the stress-resistant *Bacillus megaterium* STB1, a bacterium of agricultural and biotechnological interest. *Biotechnology Reports*, v. 25. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00406>.

Oleńska, e.; Małek, W.; Wójcik, M.; Swiecicka, I.; Thijs, S.; Vangronsveld, J., 2020. Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. *Science of The Total Environment*, v. 743. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.140682>.

Peres, A.R.; Rodrigues, R.A.F.; Arf, O.; Portugal, J.R.; Corsini, D.C.D.C., 2016. Co-inoculation of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* in common beans grown under two irrigation depths. *Revista Ceres*, v. 63, (2), 198-207. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201663020011>.

Santos, A. A.; Silveira, J.A.G.; Guilherme, E.A.; Bonifacio, A.; Rodrigues, A.C.; Figueiredo, M.V.B., 2018. Changes induced by co-inoculation in nitrogen–carbon metabolism in cowpea under salinity stress. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 49, (4), 685-694. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.01.007>.

Silva, L.V.D.; Oliveira,S.B.R.D.; Azevedo, L.A.D.; Rodrigues, A.C.; Bonifacio, A., 2019. Coinoculation with *bradyrhizobium* and *trichoderma* alleviates the effects of salt stress in cowpea. *Revista Caatinga*, v. 32, (2), 336-344. <https://doi.org/10.1590/1983->

Singh, H.B.; Sarma, B.K.; Keswani, C., 2017. *Advances in PGPR research*. CABI, Wallingford, 448 p.

Soumare, A.; Diedhiou, A.G.; Thuita, M.; Hafidi, M.; Ouhdouch, Y.; Gopalakrishnan, S.; Kouisni, L., 2020. Exploiting Biological Nitrogen Fixation: A Route Towards a Sustainable Agriculture. *Plants*, v. 9, (8). <https://doi.org/10.3390/plants9081011>.

Sousa, S.M.; Oliveira, C.A.; Andrade, D.L.; Carvalho, C.G.; Ribeiro, V.P.; Pastina, M.M.; Marriel, I.E.; Lana, U.G.P.; Gomes, E.A., 2021. Tropical *Bacillus* Strains Inoculation Enhances Maize Root Surface Area, Dry Weight, Nutrient Uptake and Grain Yield. *Journal of Plant Growth Regulation*, v.40, (2), 867-877. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10146-9>.

Sultana, S.; Alam, S.; Karim, M.M., 2021. Screening of siderophore-producing salt-tolerant rhizobacteria suitable for supporting plant growth in saline soils with iron limitation. *Journal of Agriculture and Food Research*, v. 4. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100150>.

Sun, B.; Bai, Z.; Bao, L.; Xue, L.; Zhang, S.; Wei, Y.; Zhang, Z.; Zhuang, G.; Zhuang, X., 2020. *Bacillus subtilis* biofertilizer mitigating agricultural ammonia emission and shifting soil nitrogen cycling microbiomes. *Environment International*, v. 144. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2020.105989>.

Tahir, H.A.; Gu, Q.; Wu, H.; Raza, W.; Hanif, A.; Wu, L.; Colman, M.V.; Gao, X., 2017. Plant Growth Promotion by Volatile Organic Compounds Produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Frontiers in Microbiology*, v. 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00171>.

Taiz, L.; Zeiger, E., 2017. *Fisiologia Vegetal*. 6o ed. Artmed, Porto Alegre. 888 p.

Zeffa, D.M.; Perini, L.J.; Silva, M.B.; Sousa, N.V.; Scapim, C.A.; Oliveira, A.L.M.; Júnior, A.T.A.; Gonçalves, L.S.A., 2019. *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. *Plos One*, v.14, (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215332>.

## CAPITULO 2

### **Influência de quitosana na promoção de crescimento sustentável da cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**

**Observação:** os dados do capítulo 2 serão melhor trabalhados posteriormente com a intenção de se formar um segundo artigo para publicação, tendo em vista que os resultados obtidos não foram satisfatoriamente conclusivos.

## 1. Introdução

A agricultura sustentável é uma questão essencial no presente século. Ao longo dos anos, o setor agrícola tem dependido extensivamente de fertilizantes químicos para o beneficiamento de culturas no mundo todo. Porém, o uso desses produtos resulta em numerosos efeitos prejudiciais, como erosão e perda de fertilidade do solo, perda de biodiversidade, contaminação de ecossistemas e impactos negativos no meio ambiente e na saúde única (AHMED *et al.*, 2020). Nesse cenário, é urgente diminuir a utilização de práticas agrícolas convencionais baseadas em produtos químicos e técnicas não sustentáveis e aumentar o foco na utilização de substâncias biogênicas e bioestimulantes.

Substâncias bioestimulantes são conhecidas e descritas como moléculas de origem biológica com efeitos positivos no crescimento e desenvolvimento de diferentes culturas, aumentando a resistência aos parâmetros de estresses biótico e abiótico e melhorando a qualidade e o rendimento das culturas (SUN *et al.*, 2023). Elas são capazes de melhorar a taxa de germinação, auxiliar no crescimento de raízes, promover um estabelecimento mais acelerado das culturas, melhorar a tolerância à estresses abióticos, promover proteção contra patógenos, aumentar a taxa de absorção de nutrientes e melhorar o rendimento e a produtividade das culturas (SUN *et al.*, 2023).

Dentre essas substâncias bioestimulantes, destaca-se a quitosana, um polissacarídeo derivado da desacetilação da quitina, um dos polímeros naturais mais abundantes, facilmente obtidos e renováveis da natureza (KATIYVAR; HEMANTARANJAN; SINGH, 2015). A quitosana tem gerado grande atenção em diversas áreas devido às suas importantes características biológicas, como biocompatibilidade e biodegradabilidade (AHMED *et al.*, 2020), além do seu potencial em gerar novos derivados, uma vez que a sua alteração química pode aumentar significativamente seus efeitos na promoção de crescimento vegetal, melhorar as suas características químicas e físicas e aumentar a sua aplicabilidade (CHAKRABORTY *et al.*, 2020). No setor agrícola, ela tem emergido como uma alternativa potencial para o progresso da agricultura sustentável devido à sua ação no crescimento vegetal e no manejo de doenças, sendo relatada por promover o crescimento de diversas culturas agrícolas, como feijão, milho, soja, dentre outras (CHAKRABORTY *et al.*, 2020).

Atualmente, a utilização da quitosana e de outros bioestimulantes ainda é modesta e limitada, pois sua atividade biológica em plantas ainda não foi completamente elucidada. A exploração do potencial dessa molécula em culturas economicamente importantes no cenário brasileiro é essencial para introduzir uma perspectiva sustentável às atividades agrícolas do país. E uma das culturas que se destaca nesse cenário é a do algodão. O Brasil é o terceiro maior

produtor e o segundo maior exportador de algodão do mundo e a região Nordeste é a segunda maior produtora de algodão do país, contribuindo com 26% da produção (ALVES *et al.*, 2019). O avanço do setor agrícola nessa região traz consigo preocupações inerentes relacionadas à degradação dos solos e aos riscos que os agroquímicos tóxicos trazem para a saúde única. Alternativas sustentáveis nesse setor são urgentes para a conservação da biodiversidade e para a manutenção da saúde única. Sendo assim, o presente estudo se propõe a avaliar a eficiência de diferentes tipos de quitosanas nativas e modificadas no crescimento e nos parâmetros bioquímicos de plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.).

## 2. Material e métodos

As sementes de algodoeiro (*G. hirsutum* L.), cultivar BRS 286, utilizadas no experimento não possuíam nenhum tipo de tratamento prévio e foram gentilmente cedidas pela produtora de sementes de algodão Josefa Maria Francieli da Silva situada no Crato-CE (Brasil). As quitosanas de baixa e média massa molecular foram adquiridas pela Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil. A modificação química da quitosana foi realizada por meio de uma conjugação molecular com ácido gálico (AG), seguindo a metodologia proposta por Cho *et al.* (2011), na qual 0,5 g de quitosana foi dissolvida em 50 mL de ácido acético 2 % (v/v) com posterior adição de 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 M, contendo 0,054 g de ácido ascórbico à solução. A quantidade de AG utilizado na reação foi de 0,1:1 (mol AG:mol de unidades repetitivas de quitosana). Após a adição do AG, a solução foi mantida a temperatura ambiente por 24 horas e depois dialisada com água destilada por 48 horas para remover o AG não reagido. A solução final, denominada “Quitosana-AG”, foi então liofilizada e armazenada para utilização nos tratamentos.

Foram estabelecidos cinco tratamentos, sendo um controle (com sementes não embebidas); tratamento I com sementes embebidas em quitosana de baixa massa molecular; tratamento II com sementes embebidas em quitosana de média massa molecular; tratamento III com sementes embebidas em quitosana AG de baixa massa molecular; tratamento IV com sementes embebidas em quitosana AG de média massa molecular. Após os tratamentos, as sementes foram levadas para casa de vegetação e então semeadas em sacos de polietileno de 30 por 20 cm contendo uma mistura de área fina, substrato vegetal e composto orgânico na proporção de 3,5:1,5:1, totalizando 5 kg de solo em cada repetição. A análise bioquímica do solo utilizado no experimento encontra-se na Tabela 1. Para cada tratamento foram estabelecidas cinco repetições e em cada saco de polietileno (repetição) foram semeadas cinco sementes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Sete dias após a semeadura (DAS), com as plântulas já emergidas, foi realizado o desbaste mantendo-se uma

planta por saco (unidade experimental). Todos os tratamentos receberam irrigação diária padronizada pela capacidade de campo do substrato. Medições da altura de cada planta foram realizadas a cada sete dias e o experimento foi conduzido até os 60 DAS.

Tabela 1. Análise bioquímica do solo utilizado no experimento.

Amostra	pH	Ca	Mg	Al	Na	K	P	C.O.	M.O.	H+Al
	1:2,5	-----cmol/dm <sup>3</sup> -----					mg/dm <sup>3</sup>	---g/kg---		cmol/dm <sup>3</sup>
Substrato	5,85	3,2	2,1	0,15	0,24	0,09	43,83	18,33	31,60	4,20

Ca: cálcio; Mg: magnésio; Al: alumínio; Na: sódio; K: potássio; P: fósforo; C.O.: composto orgânico; M.O.: matéria orgânica; H+Al: acidez potencial.

Aos 60 DAS, as plantas foram coletadas e mensurou-se a altura de cada planta, o diâmetro do caule (medido com paquímetro 2 cm acima do solo), o número de folhas, a massa fresca da parte aérea e da raiz e a massa fresca total. Amostras de folhas de cada repetição dos tratamentos também foram coletadas, trituradas em nitrogênio líquido, maceradas em etanol a 80% e centrifugadas a 5.000 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente para a obtenção do extrato etanólico. A partir desse extrato, quantificou-se as concentrações de clorofila *a* e *b* pelo método espectrofotométrico de Arnon (1949) e carotenoides pelo método espectrofotométrico de Lichtenthaler e Wellburn (1983). As leituras foram realizadas nos comprimentos de onda de 645 nm, 663 nm e 470 nm, respectivamente e os resultados foram expressos em mg/g de massa fresca (MF). A quantificação de proteínas solúveis foi realizada pelo método espectrofotométrico de Bradford (1976) utilizando uma curva-padrão com albumina de soro bovino (BSA), as leituras realizadas a 595 nm e os resultados foram expressos em mg/g de MF.

Para a determinação do conteúdo total de nitrogênio (N), amostras secas das folhas foram digeridas em ácido sulfúrico P.A. e as medições feitas com base no método colorimétrico proposto por Baethgen e Alley (1989). As leituras espectrofotométricas foram feitas no comprimento de onda de 650 nm e os resultados expressos em mg/g de massa seca (MS). Para as determinações de fósforo (P) e potássio (K), amostras secas das folhas foram submetidas à extração com ácido clorídrico P.A. As medições de P foram feitas pelo método espectrofotométrico (670 nm) do vanadato-molibdato e as medições de K foram feitas por fotometria de chama (MIYAZAWA *et al.*, 2009).

Todos os resultados foram submetidos ao teste de homoscedasticidade (Levene) e ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk). Aos dados que se mostraram normais aplicou-se a análise de variância (ANOVA) e *a posteriori* o teste de comparação de médias de Duncan para detectar diferenças significativas entre os tratamentos no nível de significância de 5%. Para os dados que não se mostraram normais aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis e posteriormente o teste de Dunn ajustado por Bonferroni no nível de significância de 5%. Foi realizada uma análise de

componentes principais (PCA) com todos os dados obtidos para determinar a associação e a correlação entre os tratamentos e os parâmetros analisados. Uma análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) baseada no índice de Bray-Curtis foi utilizada para confirmar os grupos formados na PCA. As análises estatísticas univariadas foram realizadas no software RStudio (versão 2022.07.2+576) e as análises multivariadas foram realizadas no software Past (versão 4.14).

### **3. Resultados e discussão**

O acúmulo de biomassa avaliado através da quantificação da massa fresca total das plantas de algodão coletadas 60 DAS evidenciou valores significativamente maiores nos indivíduos tratados com quitosana de baixa massa molecular (QBM) e quitosana AG de média massa molecular (QAGMM) em relação a todos os outros tratamentos, principalmente em relação ao controle, apresentando, respectivamente, 87,1% e 52% mais biomassa do que plantas não tratadas (Figura 1b). Um investimento significativamente maior no crescimento radicular também foi observado em plantas de todos os tratamentos em relação ao controle, assim como no crescimento da parte aérea (Figura 1a). Em relação a altura das plantas, não foram observadas diferenças significativas (Figura 1c). Por outro lado, plantas tratadas com QBM apresentaram diâmetros dos caules significativamente maiores do que plantas do controle (Figura 1d). Não houve diferenças nas quantidades de folhas entre os tratamentos (Figura 1e).

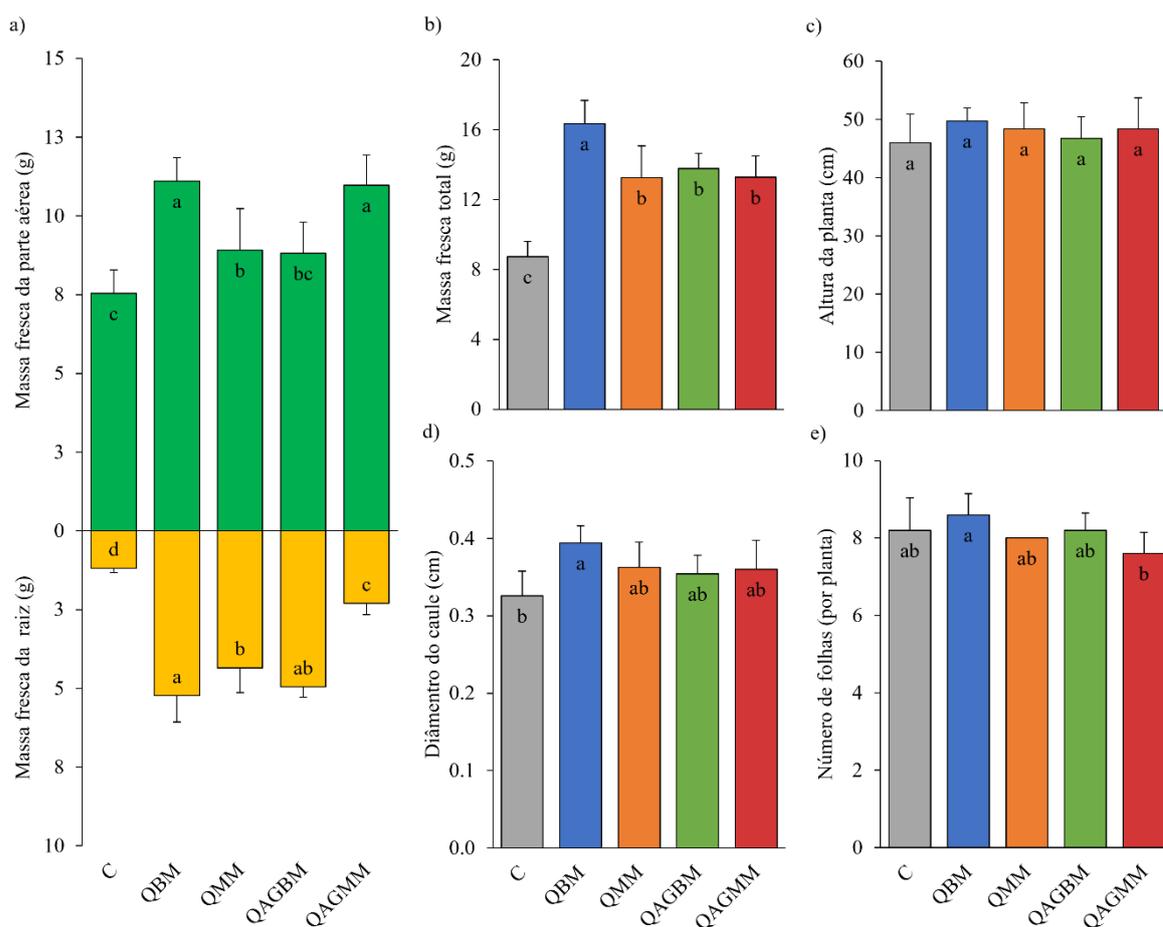


Figura 1. Massa fresca da raiz e da parte aérea (a), massa fresca total (b), altura (c), diâmetro do caule (d) e número de folhas (e) em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após a semeadura. Letras distintas representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05\%$ ).

A Análise de Componentes Principais (PCA) evidenciou os efeitos positivos dos tratamentos com quitosanas em todos os parâmetros morfológicos das plantas de algodão, explicando 74,15% da variação total (Figura 2). A análise PERMANOVA confirmou que as plantas tratadas com quitosanas formaram grupos distintos do grupo controle e que o tratamento com QBM se mostrou o mais eficiente, sendo distinto de todos os outros grupos (Tabela 2).

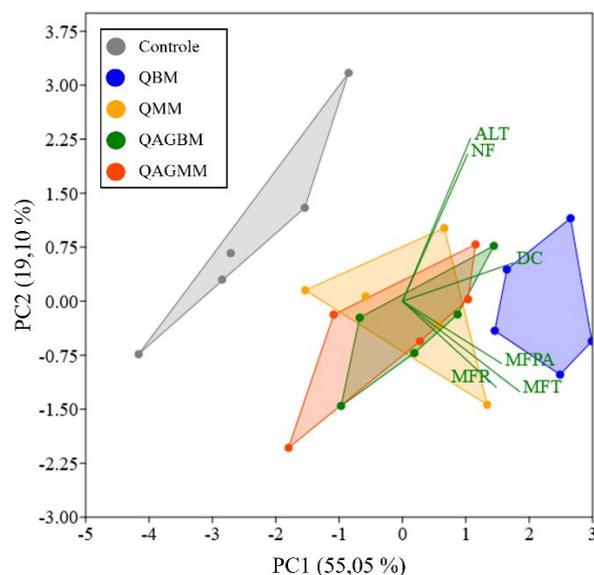


Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) mostrando a distribuição de todos os parâmetros morfológicos analisados. QBM: quitosana de baixa massa molecular; QMM: quitosana de média massa molecular; QAGBM: quitosana AG de baixa massa molecular; QAGMM: quitosana AG de média massa molecular; MFR: massa fresca da raiz; MFPA: massa fresca da parte aérea; MFT: massa fresca total; ALT: altura da planta; DC: diâmetro do caule; NF: número de folhas.

Tabela 2. Análise de variância permutacional (PERMANOVA) baseada no índice de Bray-Curtis para confirmar os grupos formados na PCA ( $F = 7,78$ ;  $p = 0,0001$ ). Valores de  $p$  para variância entre os grupos (nível de significância de 5%).

	Controle	QBM	QMM	QAGBM	QAGMM
Controle		0,0079	0,0077	0,0091	0,008
QBM	0,0079		0,032	0,0224	0,008
QMM	0,0077	0,032		0,9006	0,1143
QAGBM	0,0091	0,0224	0,9006		0,018
QAGMM	0,008	0,008	0,1143	0,018	

O efeito no crescimento vegetal promovido pela quitosana já foi relatado (em termos de comprimento da raiz, altura da parte aérea, vigor de plântulas, biomassa) em culturas de trigo, milho e soja (SHAO *et al.*, 2005; NO *et al.*, 2013; MA *et al.*, 2015). Sugere-se que ela atua nas plantas de maneira semelhante aos fitohormônios na regulação da morfogênese, crescimento e desenvolvimento de raízes e da parte aérea (HIEN, 2004). Um aumento significativo na biomassa das raízes pode ser explicado pela capacidade da quitosana em promover a divisão celular pela ativação de hormônios vegetais, como auxinas e citocininas, que levam ainda ao aumento da absorção de nutrientes (DZUNG; KAHNH; DZUNG, 2011). Além disso, ela também é capaz de aumentar a disponibilidade e absorção de água através do ajuste da pressão osmótica celular (GUAN *et al.*, 2009).

Nas análises de pigmentos fotossintéticos não foi possível observar resultados significativamente melhores nas plantas tratadas em relação ao controle. As concentrações de clorofila *a* e *b* e carotenoides nos tratamentos com quitosanas não se mostraram maiores do que o controle (Figura 4). Em relação aos principais macronutrientes da planta (N, P e K) observou-se um aumento apenas no teor de N das plantas tratadas com QMM e QAGBM em relação ao controle. Nos teores de P e K não foi possível observar melhorias significativas nas plantas tratadas com quitosanas em relação ao controle (Figura 4). A quantificação de proteínas também não evidenciou melhorias significativas nas plantas tratadas em relação ao controle (Figura 4).

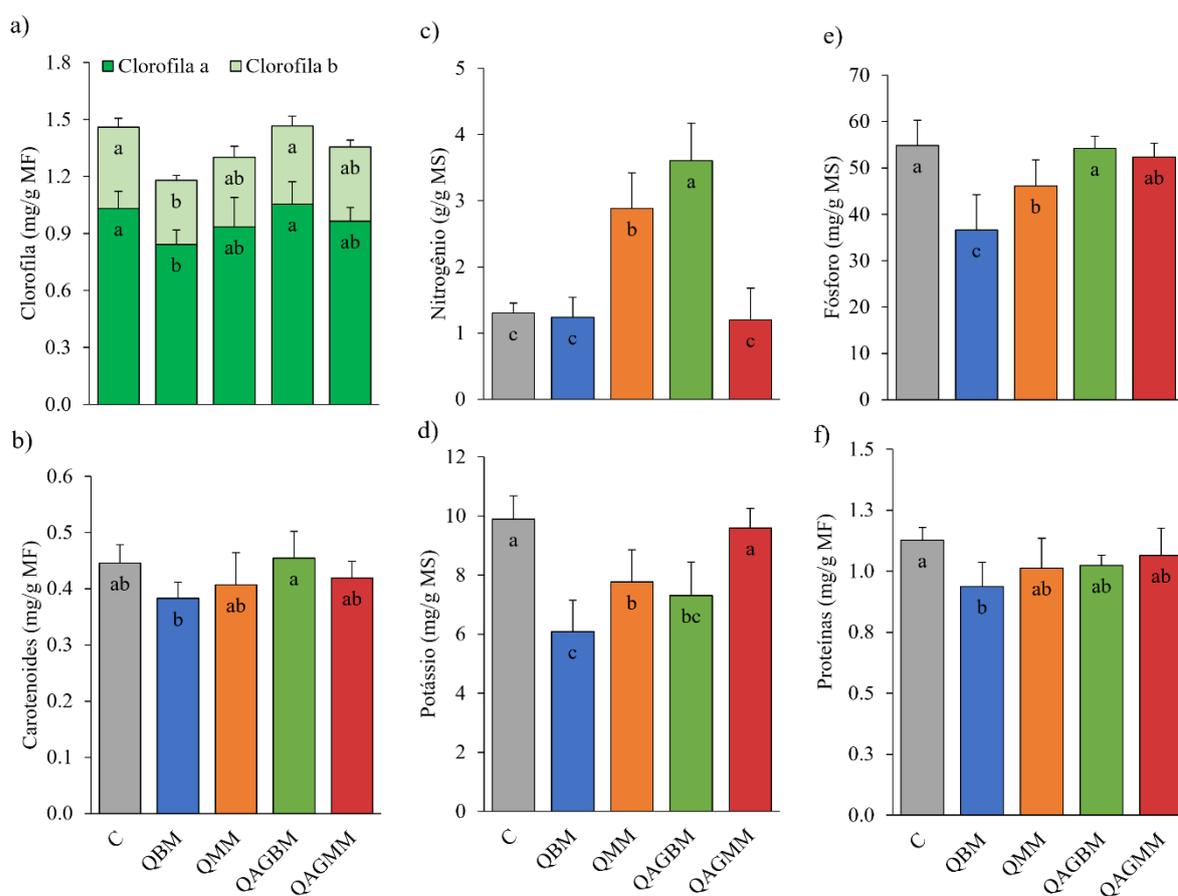


Figura 3. Conteúdos de clorofilas *a*, *b* e total (a), carotenoides (b), teor de nitrogênio (c), potássio (d), fósforo (e) e proteínas (f) em plantas de *G. hirsutum* 60 dias após a semeadura. Letras distintas representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

Os dados referentes às análises bioquímicas se mostraram inconclusivos e incoerentes com os dados observados nas análises morfológicas. Sugere-se que estas análises devem ser revistas e repetidas para uma melhor compreensão das respostas bioquímicas promovidas por quitosanas em plantas de algodoeiro.

#### 4. Conclusões

O tratamento das plantas de algodoeiro com diferentes tipos de quitosanas mostraram resultados significativamente relevantes para essa cultura, mostrando que esse biopolímero possui capacidade de beneficiar plantas de algodão, melhorando vários parâmetros morfológicos das plantas. As quitosanas modificadas, apesar de mostrarem resultados significativos no crescimento das plantas em relação ao controle, não foram satisfatoriamente melhores do que a quitosana não modificada de baixa massa molecular, que se mostrou a mais eficiente na promoção de crescimento vegetal, sendo possível supor que as características moleculares desse tipo de quitosana tem uma maior capacidade de interagir com os mecanismos de crescimento das plantas.

#### 5. Referências

AHMED, K. B. M. *et al.* Chitosan and its oligosaccharides, a promising option for sustainable crop production – a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 227, 2020.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1–15, 1 jan. 1949.

BAETHGEN, W. E.; ALLEY, M. M. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digests. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 20, n. 9–10, p. 961–969, 1 maio 1989.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 7 maio 1976.

CHAKRABORTY, M. *et al.* Mechanism of Plant Growth Promotion and Disease Suppression by Chitosan Biopolymer. **Agriculture**, v. 10, n. 12, 2020.

CHO, Y. S. *et al.* Preparation, characterization, and antioxidant properties of gallic acid-grafted-chitosans. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1617–1622, 1 fev. 2011.

DZUNG, N. A.; KHANH, V. T. P.; DZUNG, T. T. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development, and drought resistance of coffee. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 2, p. 751–755, 2011.

GUAN, Y. *et al.* Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth

in relation to physiological changes under low temperature stress. **Journal of Zhejiang University**, v. 10, n. 6, p. 427–433, 2009.

HIEN, N. Q. Radiation degradation of chitosan and some biological effects. Em: **Radiation processing of polysaccharides**. [s.l.: s.n.]. p. 67–73.

KATIYAR, D.; HEMANTARANJAN, A.; SINGH, B. Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 1, p. 1–9, 2015.

LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v. 11, n. 5, p. 591–592, 1 out. 1983.

MA, L. J. *et al.* Germination and physiological response of wheat (*Triticum aestivum*) to pre-soaking with oligochitosan. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 16, n. 4, p. 766–770, 2014.

MIYAZAWA, M. *et al.* Análise química de tecido vegetal. Em: **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. [s.l.] Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

NO, H. K. *et al.* Chitosan Treatment Affects Yield, Ascorbic Acid Content, and Hardness of Soybean Sprouts. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 2, p. 680–685, 2003.

SHAO, C. X. *et al.* Effects of seed priming with chitosan solutions of different acidity on seed germination and physiological characteristics of maize seedling. **Agriculture and Life Science**, v. 31, p. 705–708, 2005.

SUN, W. *et al.* Developing Sustainable Agriculture Systems in Medicinal and Aromatic Plant Production by Using Chitosan and Chitin-Based Biostimulants. **Plants**, v. 12, n. 13, 2023.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de produtos e técnicas sustentáveis no setor agrícola vem se mostrando cada vez mais necessária, tendo em vista os danos que os produtos químicos causam ao meio ambiente. Microrganismos e substâncias naturais que possuem propriedades de promoção de crescimento, proteção e melhoramento de culturas, são alternativas viáveis economicamente e não prejudiciais ao meio ambiente. No presente estudo foi possível observar a capacidade de *P. aryabhatai* e *P. megaterium* em promover o crescimento de plantas de algodoeiro, uma importante cultura agrícola no agronegócio brasileiro. Essas BPCP melhoraram vários parâmetros morfológicos e bioquímicos que estão diretamente ligados ao crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo possível sugerir que elas atuam por vários mecanismos diretos, como alongamento celular das raízes, absorção de água e nutrientes e síntese de fitohormônios; e indiretos, como alívio de estresses abióticos, proteção contra fitopatógenos e aclimação.

Mais estudos são necessários para compreender melhor os mecanismos pelos quais essas bactérias atuam no desenvolvimento e no metabolismo do algodoeiro. Os dados gerados por este estudo são subsídios importantes para identificação de espécies e linhagens bacterianas eficazes na promoção de crescimento do algodoeiro e que podem ser utilizadas na formulação de bioinoculantes com potencial para comercialização e utilização no setor agrícola. Além disso, elas possuem propriedades importantes que podem aumentar a sua viabilidade em produtos formulados comercialmente, como a capacidade de produzir metabólitos e formar esporos resistentes.

A quitosana é outro produto “verde” que surge como uma alternativa frente aos produtos químicos utilizados no setor agrícola. Ela é capaz de promover o crescimento vegetal em diversas culturas, como já foi relatado na literatura e possui propriedades importantes que a distingue de outras substâncias, como sua alta disponibilidade na natureza, sua capacidade de biodegradação e sua ação contra patógenos. Além disso, ela também pode agir de forma conjunta com outras substâncias ou com microrganismos, aumentando a eficácia no crescimento vegetal.

No presente estudo, foi possível observar melhorias significativas nos parâmetros morfológicos de plantas de algodão tratadas com diferentes tipos de quitosanas, sendo a quitosana de baixa massa molecular a mais eficiente. Infelizmente, os dados relacionados aos parâmetros bioquímicos se mostraram inconclusivos, sendo necessário a realização de novos testes e elaboração de novos experimentos mais detalhados e precisos para compreender melhor a ação desse biopolímero no crescimento vegetal e determinar de forma mais assertiva a sua

eficácia no melhoramento de culturas agrícolas como o algodão.