

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Agronomia

***BACILLUS* sp. E SUBPRODUTOS DO METABOLISMO BACTERIANO NA
QUALIDADE DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE BANANANEIRA**

Maria Antônia Santos de Carvalho

Maria Antônia Santos de Carvalho

***BACILLUS* sp. E SUBPRODUTOS DO METABOLISMO BACTERIANO NA
QUALIDADE DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE BANANANEIRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Prof.^a Silvia Nietsche

Montes Claros

Instituto de Ciências Agrárias – UFMG

2022

Processo:

23072.205194/2022-11

Documento:

1245684



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
SECRETARIA DO COLEGIADO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ATA DE DEFESA DE MONOGRAFIA / TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (TCC)

Aos 07 dias do mês de fevereiro de 2022, às 14 h 00 min, o/a estudante **Maria Antônia Santos de Carvalho**, matrícula **2017025890**, defendeu o Trabalho intitulado "**BACILLUS sp. E SUBPRODUTOS DO METABOLISMO BACTERIANO NA QUALIDADE DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE BANANANEIRA**" tendo obtido a média (98) noventa e oito.

Participaram da banca examinadora os abaixo indicados, que, por nada mais terem a declarar; assinam eletronicamente a presente ata.

Nota: 98 (noventa e oito)

Orientador(a): Silvia Nietsche

Nota: 98 (noventa e oito)

Examinador(a): Alcinei Místico Azevedo

Nota: 98 (noventa e oito)

Processo:

23072.205194/2022-11

Documento:

1245684

Examinador(a): Alcinei Mistico Azevedo**Nota:** 98 (noventa e oito)**Examinador(a):** Claudineia Ferreira Nunes**Nota:** 98 (noventa e oito)**Examinador(a):** Sara Malveira Costa Vieira

Documento assinado eletronicamente por **Silvia Nietzsche, Coordenador(a) de curso**, em 11/02/2022, às 10:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sara Malveira Costa Vieira, Usuário Externo**, em 11/02/2022, às 13:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Claudineia Ferreira Nunes, Professora do Magistério Superior**, em 14/02/2022, às 22:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alcinei Mistico Azevedo, Professor do Magistério Superior**, em 15/02/2022, às 13:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1245684** e o código CRC **5A3BD24B**.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar forças e me manter perseverante.

À minha família por todo apoio nos momentos de maior necessidade.

À Maria Vitória por acompanhar junto comigo os momentos de falha e de sucesso.

Ao Instituto de Ciências Agrárias da UFMG.

À prof.^a Dr.^a. Silvia Nietzsche pela excelente orientação, apoio e compreensão.

À prof.^a Dr.^a. Claudineia Ferreira Nunes por todo apoio e aconselhamento, não só durante o trabalho de conclusão de curso, mas também ao longo da graduação.

Ao prof. dr. Alcinei Místico Azedo pelo auxílio na realização do trabalho.

Ao meu colega José Victor Maurício de Jesus pela boa vontade, ajuda e companheirismo.

À Flávia Échila e ao prof. dr. Demerson Arruda pela disponibilidade e suporte.

A todos os servidores técnico-administrativos, trabalhadores terceirizados e docentes que, direta ou indiretamente, contribuíram durante o processo.

RESUMO

Atualmente, a técnica mais adequada para produção de mudas de bananeira é a micropropagação, por fornecer mudas com garantia genética e qualidade fitossanitária para os produtores. Entretanto, as mudas produzidas apresentam também redução de sua comunidade microbiana benéfica, o que pode prejudicar as plantas quando em contato com as condições adversas do campo. Dessa forma, objetivou-se com este trabalho avaliar a aplicação do isolado EB-x1 (*Bacillus* sp.) e dos subprodutos do seu metabolismo na aclimatização de mudas de bananeira 'Prata Gorutuba', a fim de contribuir para o reestabelecimento da comunidade microbiana das plantas e favorecer o desenvolvimento de mudas. Para isso, foram empregados cinco tratamentos com quatro repetições, organizados em um delineamento de blocos ao acaso, onde cada parcela foi representada por cinco plantas. Os tratamentos foram descritos da seguinte forma: (T1) manejo convencional; (T2) imersão das raízes na suspensão bacteriana antes do plantio; (T3) aplicação da suspensão bacteriana no substrato; (T4) aplicação dos subprodutos do metabolismo bacteriano via foliar e (T5) aplicação dos subprodutos do metabolismo bacteriano no substrato. A cada 30 dias foram realizadas avaliações referentes à altura da muda, diâmetro do pseudocaule e número de folhas. Aos 90 dias de aclimatização foram avaliados o índice de clorofila, a massa fresca e seca da parte aérea e da raiz + rizoma. Além disso, foi realizada a avaliação da área do sistema radicular por meio da análise de imagem realizada no programa estatístico R, e as médias obtidas de todas as avaliações foram submetidas à análise de variância no mesmo programa. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre os tratamentos para todas as características avaliadas. Entretanto, foi observado no tratamento T4, maiores valores para a massa fresca e área da raiz, indicando, portanto, que mais estudos devem ser realizados para investigar o uso do isolado como bioestimulante, bem como dos subprodutos do seu metabolismo, visto que o potencial da bactéria para promoção de crescimento já foi comprovado.

Palavras-chave: *Musa* spp. *Bacillus* sp. Metabolismo bacteriano. Micropropagação.

ABSTRACT

Currently, the most appropriate technique to produce banana seedlings is micropropagation, as it provides seedlings with genetic guarantee and phytosanitary quality for producers. However, the seedlings produced also show a reduction in their beneficial microbial community, which can harm the plants when in contact with adverse field conditions. Thus, the objective of this work was to evaluate the application of the EB-x1 isolate (*Bacillus* sp.) and its metabolism by-products in the acclimatization of 'Prata Gorutuba' banana seedlings, to contribute to the reestablishment of the microbial community of plants and favor the development of seedlings. For this, five treatments with four replications were used, organized in a randomized block design, where each plot was represented by five plants. The treatments were described as follows: (T1) conventional management; (T2) immersion of the roots in the bacterial suspension before planting; (T3) application of the bacterial suspension on the substrate; (T4) application of bacterial metabolism by-products via foliar and (T5) application of bacterial metabolism by-products on the substrate. Every 30 days, evaluations were carried out regarding seedling height, pseudostem diameter and number of leaves. After 90 days of acclimatization, the chlorophyll index, fresh and dry mass of the area and root + rhizome were evaluated. In addition, the area of the root system was evaluated through image analysis performed in the R statistical program, and the means obtained from all evaluations were submitted to analysis of variance in the same program. The results showed that there was no significant difference between treatments for all characteristics evaluated. However, it was observed in the T4 treatment, higher values for fresh mass and root area, indicating, therefore, that more studies should be carried out to investigate the use of the isolate as a biostimulant, as well as the by-products of its metabolism, since the potential of the bacteria for growth promotion has already been proven.

Keywords: *Musa* spp. *Bacillus* sp. Bacterial metabolism. Micropropagation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Sistema radicular de mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ aos 90 dias de aclimatização em viveiro, Montes Claros, Minas Gerais. (A) Tratamento convencional (T1). (B) Aplicação de suspensão bacteriana por meio da imersão das raízes antes do plantio no substrato (T2). (C) Aplicação da suspensão bacteriana no substrato (T3). (D) Aplicação dos subprodutos do metabolismo bacteriano via foliar (T4) | 23 |
| Gráfico 1 - Número de folhas aos 30, 60 e 90 dias após o plantio das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil | 15 |
| Gráfico 2 - Diâmetro do pseudocaule aos 30, 60 e 90 dias após o plantio das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB- x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil | 16 |
| Gráfico 3 - Altura das mudas aos 30, 60 e 90 dias após o plantio das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB- x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil | 17 |
| Gráfico 4 - Índice de clorofila aos 90 dias após o plantio das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil | 18 |
| Gráfico 5 - Massa fresca da parte aérea das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil | 19 |

Gráfico 6 - Massa seca da parte aérea das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil19

Gráfico 7 - Massa fresca da raiz das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB- x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil20

Gráfico 8 - Massa seca da raiz das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil20

Gráfico 9 - Área da raiz das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | | |
|------|---|---|
| FAO | – | Food and Agriculture Organization of the United Nations |
| IBGE | – | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| AIA | – | Ácido 3-indolacético |
| BPCV | – | Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal |
| TSA | – | Tryptic Soy Agar |
| TSB | – | Tryptic Soy Broth |
| NaCl | – | Cloreto de sódio |
| ACC | – | Ácido 1-aminociclopropano-carboxílico |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 09 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 10 |
| 2.1 Cultura da banana..... | 10 |
| 2.2 Bactérias endofíticas..... | 10 |
| 2.3 Aplicação das bactérias endofíticas..... | 11 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 12 |
| 3.1 Descrição da área experimental..... | 12 |
| 3.2 Obtenção do material vegetal..... | 12 |
| 3.3 Obtenção e potencial biotecnológico do isolado <i>Bacillus</i> sp..... | 12 |
| 3.4 Preparo da suspensão e metabolismo bacteriano..... | 12 |
| 3.5 Descrição dos tratamentos..... | 13 |
| 3.6 Avaliação dos tratamentos e análises estatísticas..... | 14 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 15 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 24 |
| 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 25 |

1. INTRODUÇÃO

É indubitável que a cultura da banana expressa grande importância para o desenvolvimento econômico dos países, pois é considerado um dos principais alimentos produzidos no mundo. A propagação assexuada, é o principal método de obtenção de mudas dessa frutífera, e o processo *in vitro* tem sido mais requisitado por fornecer mudas homogêneas, em maior quantidade e livres de patógenos (BORGES; SOUZA, 2004). No entanto, como a ausência de microrganismos é uma condição inerente aos protocolos de produção de mudas micropropagadas, os materiais ao final do processo vão para o campo com uma carga reduzida de microrganismos benéficos, conhecidos como promotores de crescimento, o que lhes confere maior sensibilidade às condições ambientais. (RAJAMANICKAM *et al.*, 2018).

A relação entre as plantas e os microrganismos é alvo de diversas pesquisas, pois muitos são os ganhos para as culturas mediante essa interação. Em especial, tem-se as bactérias endofíticas, que podem estabelecer uma comunicação eficiente com as plantas colonizando os espaços intercelular e intracelular (HALLMANN *et al.*, 2001). A inoculação desses microrganismos nas fases finais do processo de micropropagação, seja em condições *in vitro* ou *ex vitro*, pode favorecer o melhor desenvolvimento radicular, com aumento na produção de biomassa para crescimento da planta (raízes e caules), e também favorece o aumento na captação de nutrientes (KAVINO; MANORANJITHAM, 2018; SOUZA *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2017). Além disso, outras formas de utilização desses microrganismos também podem ser exploradas, como por exemplo, o emprego dos subprodutos do metabolismo bacteriano liberados durante o seu crescimento em meio cultura (IDRIS *et al.*, 2004; WIDONO *et al.*, 2013).

Nesse contexto, a introdução de bactérias endofíticas promotoras de crescimento no cultivo da banana, bem como a utilização dos subprodutos do seu metabolismo apresenta grande potencial para reiniciar a comunidade microbiana das mudas micropropagadas, buscando incrementar suas características fitotécnicas, produzindo assim mudas com melhor desempenho agrônomo e que possam chegar ao campo mais preparadas para as condições adversas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso do isolado EB-x1 (*Bacillus* sp.) e dos subprodutos do seu metabolismo, na fase de aclimatização de mudas de micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura da banana

A banana (*Musa spp.*) se destaca por estar entre as principais culturas produzidas no mundo, devido ao crescimento da população ao longo dos anos e consequente aumento da demanda nos países. O Brasil ocupa a quarta posição no ranking dos países com maior produção, que em sua maior parte é voltada para o mercado interno (FAO, 2018, 2019). Os estados de São Paulo, Bahia e Minas Gerais se destacam na produção da banana no país. E no estado mineiro, os municípios de Jaíba, Nova Porteirinha e Janaúba são alguns dos que apresentam os maiores valores de produção (IBGE, 2018, 2019).

No cultivo da frutífera, existem diferentes formas de propagação que podem ser divididas em dois grupos: método convencional e micropropagação. No método convencional, as mudas são produzidas a partir de brotos laterais, que são classificadas de acordo com o seu estado de desenvolvimento (mudas mais jovens ou mudas mais velhas). Já a micropropagação consiste na utilização de gemas caulinares ou florais como explantes, que são introduzidos *in vitro* e induzidos à proliferação de brotos por meio de um balanço hormonal. Essas duas formas de propagação apresentam diferenças importantes que evidenciam as vantagens da micropropagação, como por exemplo, a uniformidade e a produção de mudas em larga escala, e em curto período de tempo, além de estarem isentas de patógenos. Além desses principais benefícios, a propagação *in vitro* da bananeira possibilita a introdução e colonização de microrganismos promotores de crescimento nas mudas, previamente ao estabelecimento em campo (BORGES; SOUZA, 2004).

2.2 Bactérias endofíticas

Bactérias endofíticas são definidas como microrganismos que habitam o interior das plantas durante todo ou parte do seu ciclo de vida sem causar nenhum dano aparente (WILSON, 1995). Um dos caminhos mais descritos para a entrada desses microrganismos nos hospedeiros é a rizosfera, principalmente através dos pelos radiculares e injúrias nas raízes, devido a presença de exsudatos que os atraem, bem como a ausência de mecanismos de defesa estruturais mais complexos nessa região com tecido jovem em desenvolvimento. Para além do sistema radicular, esses microrganismos podem habitar outros órgãos da planta, como folhas, flores e frutos (HALLMANN, 2001).

Existe uma pluralidade de gêneros de bactérias endofíticas, e o gênero *Bacillus* é frequentemente descrito por apresentar diferentes mecanismos para promover o crescimento das plantas, seja influenciando nos fatores abióticos, como a produção de ACC desaminase e de ácido 3-indolacético (AIA), tal como fatores bióticos, como o controle de patógenos (JAYAKUMAR *et al.*, 2019). Essas habilidades e outras, vêm sendo avaliadas em conjunto nos trabalhos de caracterização das bactérias, para selecionar cepas com potencial biotecnológico que possam ser classificadas como BPCV (Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal), o que possibilita a investigação do seu uso em diversas formas de cultivo.

2.3 Aplicação das bactérias endofíticas

As bactérias endofíticas podem ser utilizadas em diferentes fases ao longo do crescimento vegetal e de diversas formas. No processo de micropropagação da banana, o emprego desses microrganismos tem sido observado, principalmente a partir da fase de enraizamento *in vitro*. Tal tecnologia, promove incrementos relativos ao crescimento das plantas, favorece a fase de endurecimento das mudas micropropagadas, aumenta a produtividade e auxilia na defesa contra patógenos importantes para a frutífera (KAVINO; MANORANJITHAM, 2018; MON *et al.*, 2021; RAJAMANICKAM *et al.*, 2018; SUADA *et al.*, 2015). Além da interação direta das bactérias com a planta, há também a utilização indireta, podendo ser realizada pela exposição das plantas aos compostos bacterianos voláteis (HERNÁNDEZ-SOBERANO *et al.*, 2020) ou também por meio da aplicação dos seus metabólitos produzidos em um meio de cultivo, também chamados de filtrados bacterianos. Esse filtrado é o sobrenadante obtido pela centrifugação do meio de cultura líquido onde ocorre o crescimento bacteriano, ele representa uma fonte de subprodutos do metabolismo bacteriano, como hormônios e enzimas (IDRIS *et al.*, 2004; SUADA *et al.*, 2015; WIDONO *et al.*, 2013).

Em estudos anteriores, o isolado EB-x1 (*Bacillus* sp.) foi obtido de raízes de bananeira ‘Prata Anã’ e caracterizado como bactéria endofítica que realiza fixação de nitrogênio e produz ácido 3-indolacético por Souza *et al.* (2013) e Andrade *et al.* (2014), respectivamente. Além disso, foi identificado que a bactéria apresenta alto nível de interação com o sistema radicular de mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Anã’, com agregação das células em biofilme (ROCHA *et al.*, 2019). Essa comunicação proporcionou efeitos positivos relativos ao ganho de massa seca e à altura de mudas micropropagadas que receberam o isolado na fase de aclimatização, destacando assim o seu potencial de uso como bioestimulante (SOUZA *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2017).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Descrição da área experimental

O trabalho foi realizado no Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em Montes Claros, MG. O município está localizado na região Norte do estado e se encontra nas coordenadas: Latitude 16° 43' Sul e Longitude: 43° 52' Oeste, com altitude de 646,29 m, classificado com clima tropical de savana (Aw), segundo Köppen-Geiger (KOTTEK *et al.*, 2006), com temperatura média de 22,7°C e pluviosidade média de 1029 mm ao ano. O experimento foi montado no viveiro de plantas ornamentais, com 80% de sombreamento, entre os meses de dezembro de 2020 a março de 2021.

3.2 Obtenção do Material Vegetal

Foram utilizadas mudas de bananeira da variedade 'Prata Gorutuba' que foram obtidas na empresa Multiplanta Tecnologia Vegetal localizada na cidade de Andradas, Minas Gerais. As mudas micropropagadas de raiz nua se encontravam em fase de pré-aclimatização (mudas que ainda necessitavam de tratamento em viveiro antes do plantio no campo), e possuíam cerca de 15 cm de altura e 2 a 4 folhas expandidas.

3.3 Obtenção e potencial biotecnológico do isolado *Bacillus* sp.

A bactéria endofítica nomeada EB-x1 (número no GenBank: GQ340516.1), foi isolada de raízes de bananeira 'Prata-Anã' e identificada por Souza *et al.* (2013), oriundas de quatro cidades do Norte de Minas de Gerais e de um município do estado da Bahia. O potencial biotecnológico do microrganismo foi caracterizado por Andrade *et al.* (2014), onde comprovou-se que o isolado exibe alta produção de ácido 3-indolacético (AIA) em meio de crescimento *Trypitic Soy Agar* (TSA) suplementado com L-triptofano.

3.4 Preparo da suspensão e metabolismo bacteriano

A metodologia utilizada para o preparo da suspensão está conforme retratada por Andrade *et al.* (2014). Dessa forma, a bactéria foi cultivada em meio líquido TSB (*Trypitic Soy*

Broth), condicionada à rotação de 120 rpm por 48 horas a 28°C. Após o crescimento da bactéria, realizou-se a centrifugação do meio por 15 minutos a 10000 rpm; ao descartar o sobrenadante, foi obtido o pelete utilizado no preparo da suspensão bacteriana com adição de solução 0,85% de cloreto de sódio (NaCl). A concentração da suspensão foi calibrada a uma densidade ótica de 1,0 de absorvância no comprimento de onda de 540 nm em espectrofotômetro, aproximadamente 10^8 UFC/mL.

Para a obtenção dos subprodutos do metabolismo, com a solução bacteriana calibrada, adicionou-se 12 mL da suspensão para cada 250 mL de meio TSB obedecendo as condições de crescimento descritas, seguida da etapa de centrifugação. O sobrenadante contendo os subprodutos foi submetido ao congelamento a -80°C em ultracongelador para destruição das células microbianas. No dia anterior à aplicação, o frasco com quantidade suficiente para o tratamento foi mantido em temperatura ambiente até o descongelamento total do líquido.

3.5 Descrição dos tratamentos

As mudas obtidas foram plantadas no dia 03/12/2020 em saquinhos plásticos de plantio com 15 cm de altura e 10 cm de largura contendo substrato Bioplant® e permaneceram em avaliação durante 90 dias. Os cinco tratamentos descritos a seguir, foram organizados em um delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, onde cada repetição foi representada pela média de cinco plantas totalizando 100 mudas. Foram realizadas regas manuais diárias e um mês após o plantio nos saquinhos, as mudas foram transplantadas para vasos de 3L contendo o mesmo substrato, e ao longo do experimento, foram realizadas duas adubações nitrogenadas com uréia (2,6g/L). Os tratamentos foram identificados e descritos como:

(T1) Testemunha: o material vegetal foi conduzido pelo método convencional na fase de aclimatização, sem a utilização da suspensão bacteriana ou dos subprodutos do seu metabolismo;

(T2) Inoculação da suspensão bacteriana por imersão das raízes: as raízes das mudas foram imersas em 300 mL da solução bacteriana calibrada (10^8 UFC/mL) durante 30 minutos.

(T3) Inoculação da suspensão bacteriana no substrato: foram aplicados um volume de 5mL da suspensão bacteriana calibrada (10^8 UFC/mL) na base do pseudocaule da muda. A primeira inoculação foi realizada 48h após o plantio das mudas em saquinhos e mantidos em viveiro. Quatro inoculações adicionais foram realizadas com intervalo de 15 dias.

(T4) Emprego do metabolismo bacteriano em spray foliar: foi aspergido o metabolismo bacteriano até total cobertura da área foliar da muda utilizando um borrifador de mão. A primeira aspersão foi realizada cinco dias após o plantio nos saquinhos. Foram realizadas mais três aplicações aos 15, 30 e 45 dias após a primeira aplicação.

(T5) Aplicação do metabolismo bacteriano no substrato: foram aplicados semanalmente um volume de 15mL do metabolismo bacteriano previamente preparado conforme item 3.4 na base do pseudocaule das mudas de bananeira na fase de aclimatização. A primeira inoculação ocorreu 48h após o plantio das mudas em viveiro e semanalmente as aplicações foram realizadas até completar 90 dias após o plantio.

3.6 Avaliação dos tratamentos e análises estatísticas

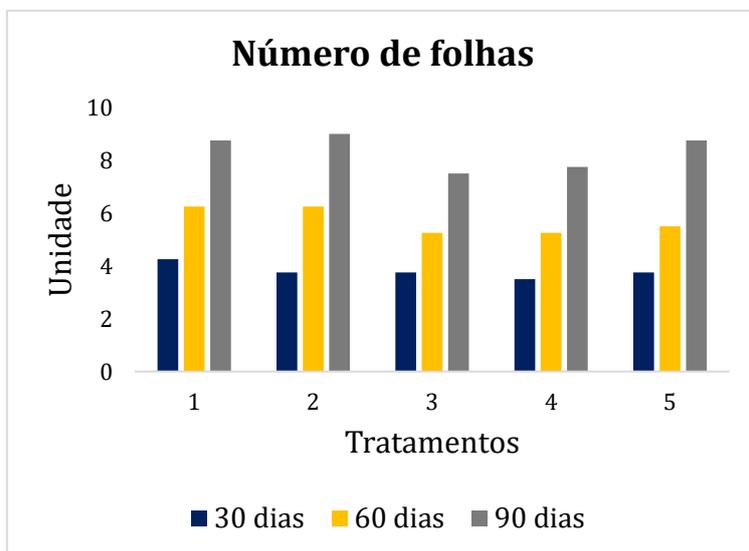
Foram realizadas avaliações a cada 30 dias, sendo esses 30 dias contados a partir do plantio das mudas. As avaliações foram relativas ao diâmetro do pseudocaule (avaliado a cerca de 2 cm do substrato), altura das mudas (mediu-se da base do pseudocaule até a base da folha mais nova totalmente expandidas) e número de folhas (contou-se todas as folhas totalmente expandidas). Para as mensurações, utilizou-se um paquímetro digital, régua e fita métrica. Ao final dos três meses em viveiro, as mudas foram avaliadas quanto ao teor de clorofila com o auxílio de um medidor de clorofila portátil clorofiLOG da marca Falker (avaliou-se a folha mais nova totalmente expandida). Realizou-se também a mensuração da massa seca e massa fresca da parte aérea e das raízes mais rizoma. Para a avaliação da massa fresca, utilizou-se uma balança digital massa seca foi obtida após a desidratação do material em estufa de circulação forçada a 65°C por 72 horas até a obtenção de peso constante. Além disso, foram realizadas avaliações para determinação da área das raízes por meio da análise de imagem. Para isso, utilizou-se um estúdio fotográfico com as dimensões de 60 x 60 x 60 cm com as laterais de cor branca e o fundo azul. Para a obtenção das imagens, foi posicionado na parte superior do estúdio um webcam Logitech C920 Full HD 1080p. Em cada imagem obtida, houve um objeto de referência, para posterior conversão da área obtida em pixels para cm². As

imagens obtidas foram analisadas com o auxílio do software R e do pacote ExpImage. Foi feita a segmentação pelo método do limiar (Treshold) a fim de isolar os pixels correspondentes às raízes (utilizando a banda de azul com limiar de 0.6) e o objeto de referência (utilizando a banda de verde e limiar de 0.8). Sabendo-se o número de pixels correspondente ao objeto de referência e sua área em centímetros quadrados, foi possível estimar a área em centímetros quadrados das raízes por regra de três. Todos os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância no programa estatístico R a 5% de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados não apresentaram diferença significativa pelo teste F a 5% de probabilidade. No que se refere às mensurações da parte aérea feitas ao longo do experimento, aos 30 dias após plantio das mudas (GRÁFICO 1), o maior número de folhas foi observado no tratamento testemunha T1 (4,25), seguido do T2, T3 e T5 com médias iguais (3,75) e o T4 com menor média (3,5). Aos 60 dias, os tratamentos T1 e T2 apresentaram os maiores valores para o número de folhas (6,25), seguido do T5 com 5,5 de média e os tratamentos T3 e T4, cada um com 5,25 de média. Já aos 90 dias, o tratamento T2 apresentou a maior média de número de folhas (9), a menor média foi para o tratamento T3 (7,5) e os demais T1, T5 e T4 apresentaram os seguintes resultados, 8,75; 8,75 e 7,75, respectivamente. Os coeficientes de variação obtidos foram: 18,61% (30 dias), 14,14% (60 dias), 9,06% (90 dias). No eixo horizontal dos gráficos, os tratamentos se encontram na seguinte ordem: T1 (testemunha), T2 (imersão das raízes na suspensão bacteriana), T3 (aplicação da suspensão bacteriana no substrato), T4 (aplicação do metabolismo bacteriano via foliar) e T5 (Aplicação do metabolismo bacteriano no substrato).

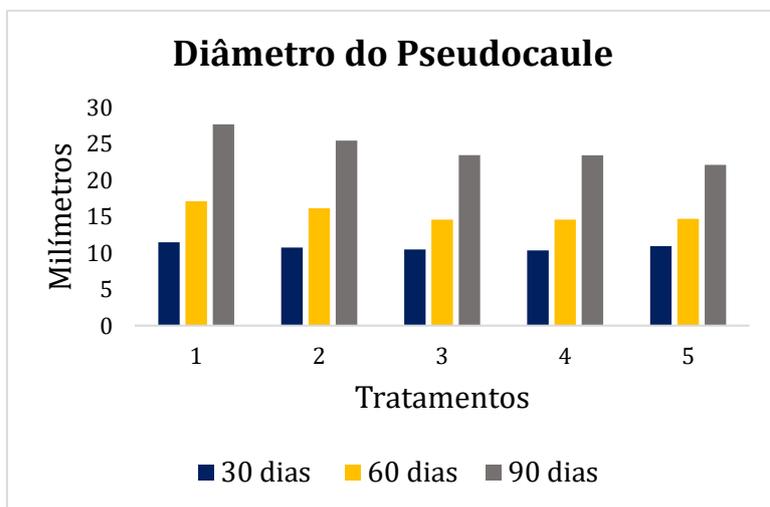
Gráfico 1 - Número de folhas aos 30, 60 e 90 dias após o plantio das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil



Fonte: CARVALHO, 2022.

Quanto ao diâmetro do pseudocaule (GRÁFICO 2), a maior média aos 30 dias foi observada para o tratamento T1 (11,46mm), seguido do tratamento T5 com 10,96mm, os tratamentos T2 e T3 com 10,73mm e 10,46mm, respectivamente e o T4 com média de 10,33mm. Aos 60 dias, o tratamento T1 também apresentou a maior média (17,11mm), seguido dos tratamentos T2 com 16,13mm, T5 com 14,69mm, T3 com 14,58mm e T4 com 14,57mm. Aos 90 dias, o T1 se manteve com maior média (27,68mm), seguido do T2 com 25,45mm, T3 com 23,45mm, T4 com 23,43 e T5 com 22,11mm. Os coeficientes de variação foram: 11,38% (30 dias), 9,86% (60 dias) e 13,8% (90 dias).

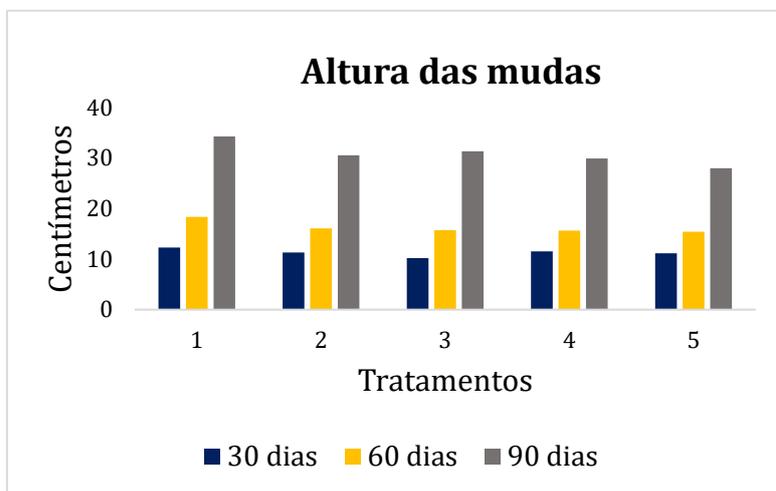
Gráfico 2 - Diâmetro do pseudocaule aos 30, 60 e 90 dias após o plantio das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB- x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil



Fonte: CARVALHO, 2022.

Em relação à altura das mudas (GRÁFICO 3), aos 30 dias, observou-se que o tratamento T1 apresentou a maior média (12,29cm), enquanto o menor valor foi encontrado no T3 com 10,10 cm. Os demais tratamentos T4, T2 e T5 apresentaram as seguintes médias: 11,53 cm, 11,29 cm e 11,15 cm, respectivamente. Aos 60 dias, o tratamento T1 se manteve com a maior média (18,36 cm), seguido do tratamento T2 com 16,07 cm, T3 com 15,72 cm, T4 com 15,63 e T5 com 15,4 cm. O tratamento T1 também apresentou a maior média aos 90 dias (34,26 cm), seguido do tratamento T3 (31,32 cm), T2 com 30,54 cm, T4 com 29,9 cm e T5 com 27,99 cm. Os coeficientes de variação foram: 19,06% (30 dias), 15,75% (60 dias) e 12,53% (90 dias).

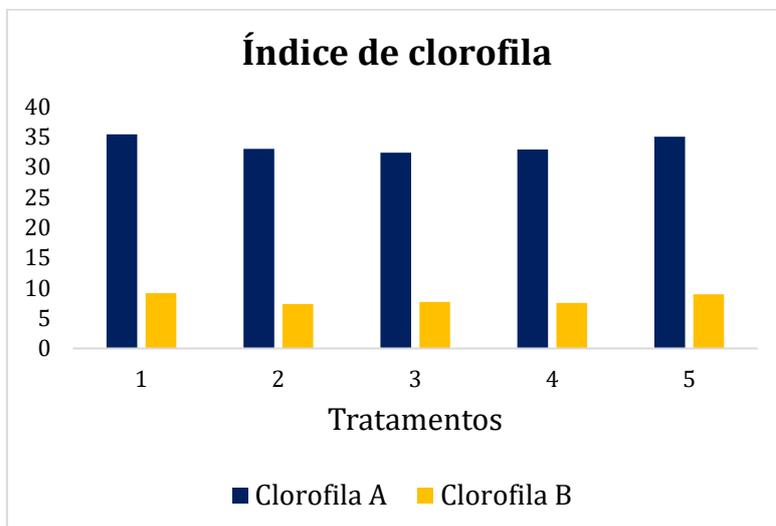
Gráfico 3 - Altura das mudas aos 30, 60 e 90 dias após o plantio das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB- x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil



Fonte: CARVALHO, 2022.

Para o índice de clorofila das plantas (GRÁFICO 4), foram encontrados os seguintes valores para a clorofila A: 35,38 (T1); 32,98 (T2); 32,34 (T3); 32,86 (T4) e 34,97 (T5), com coeficiente de variação de 6,31%. Para a clorofila B foram encontrados os valores: 9,13 (T1); 7,35 (T2); 7,67 (T3); 7,53 (T4) e 8,95 (T5), com coeficiente de variação igual a 16,37%.

Gráfico 4 - Índice de clorofila aos 90 dias após o plantio das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB- x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil

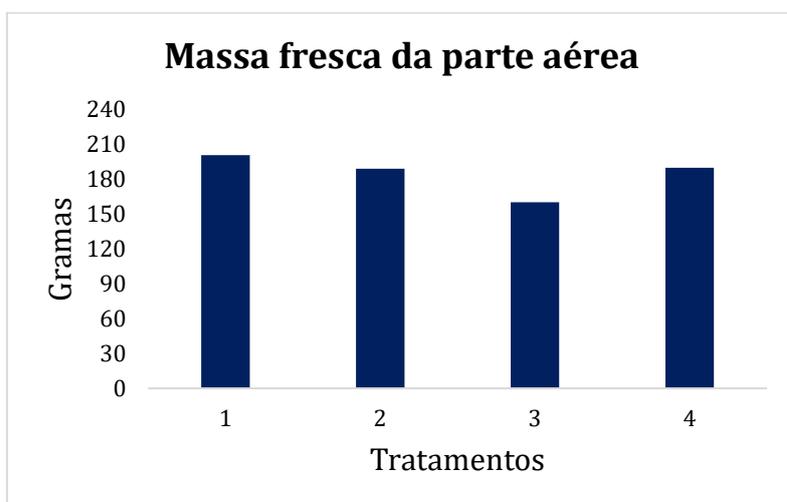


Fonte: CARVALHO, 2022.

No que se refere à massa seca e fresca da parte aérea e da raiz + rizoma, essas avaliações não foram realizadas no tratamento T5 devido às medidas de restrições de acesso aos espaços da instituição, em decorrência da pandemia do vírus SARS-CoV-2. No que se refere a parte aérea, os valores de massa fresca encontrados foram (GRÁFICO 5): 200,75g (T1); 189,13g (T2); 160,31g (T3) e 190g (T4), com coeficiente de variação de 27,78%. Já para a massa seca (GRÁFICO 6), foram observados os seguintes valores: 26,05g (T1); 25,16g (T2); 22,5g (T3) e 24,25g (T4), com coeficiente de variação de 17,02%.

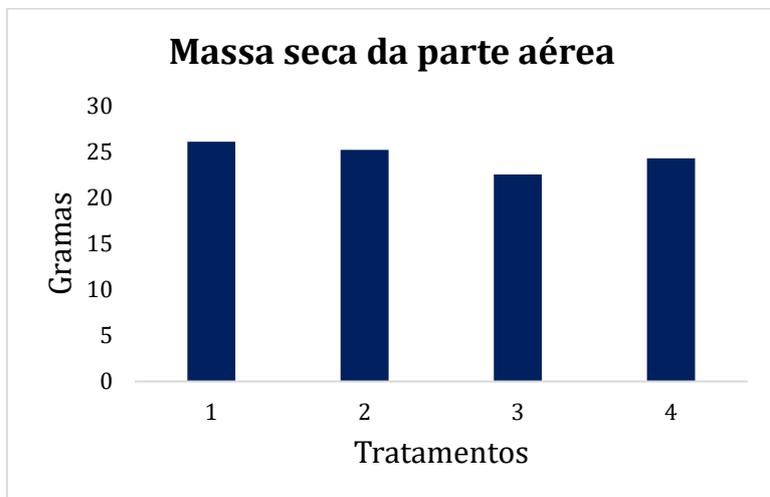
Em relação a avaliação do sistema radicular, foram encontrados os seguintes valores para massa fresca da raiz (GRÁFICO 7): 85,2 g (T1), 73,19 g (T2), 66,44 g (T3) e 87,25 g (T4), com coeficiente de variação de 24,75%. Quanto à massa seca (GRÁFICO 8), observou-se os seguintes resultados: 17,35 g (T1), 17,36 g (T2), 16,15 g (T3) e 17,5 g (T4), com coeficiente de variação de 10,96%. Por fim, tem-se os resultados obtidos na avaliação das imagens para a área do sistema radicular (GRÁFICO 9). Foram obtidos os seguintes valores: 149,5 cm² (T1), 140,11 cm² (T2), 132,94 cm² (T3) e 176,57 cm² (T4). Essas avaliações também não foram realizadas no tratamento T5 devido às medidas de restrições de acesso aos espaços da instituição, em decorrência da pandemia do vírus do SARS-CoV-2.

Gráfico 5 - Massa fresca da parte aérea das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil



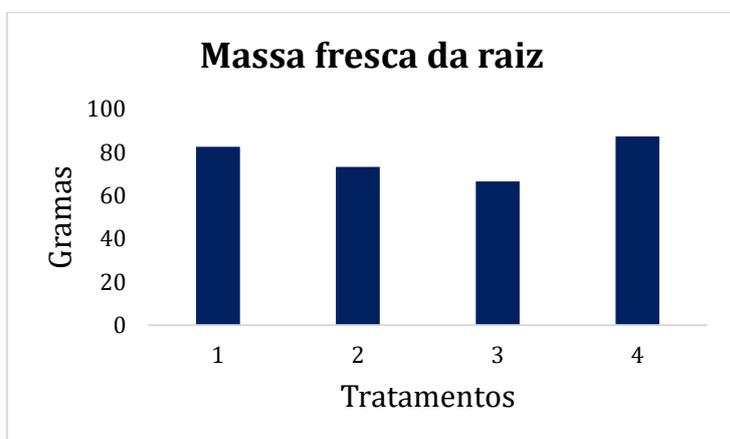
Fonte: CARVALHO, 2022.

Gráfico 6 - Massa seca da parte aérea das mudas micropropagadas de bananeira 'Prata Gorutuba' submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil



Fonte: CARVALHO, 2022.

Gráfico 7 - Massa fresca da raiz das mudas micropropagadas de bananeira 'Prata Gorutuba' submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB- x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil



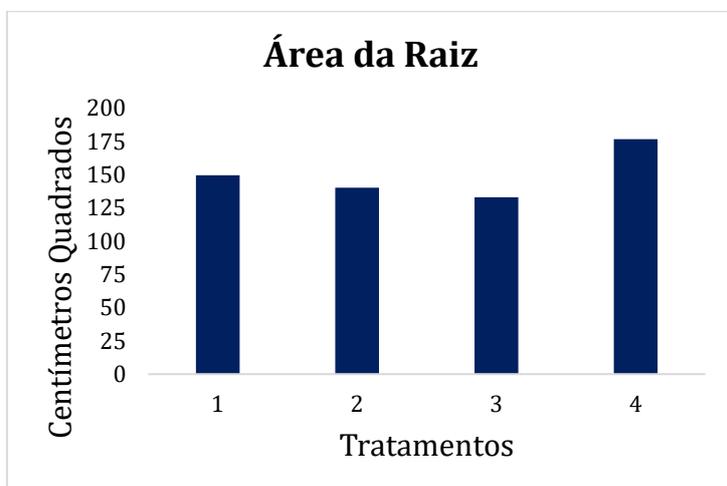
Fonte: CARVALHO, 2022.

Gráfico 8 - Massa seca da raiz das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil



Fonte: CARVALHO, 2022.

Gráfico 9 - Área da raiz das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ submetidas a diferentes tratamentos com inoculação do isolado EB-x1, dos subprodutos de seu metabolismo e manejo convencional, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil



Fonte: CARVALHO, 2022.

Em relação aos resultados observados, é importante ressaltar que, as práticas de manejo realizadas e as atividades referentes à metodologia foram parcialmente prejudicadas devido às condições de distanciamento durante a pandemia do vírus SARS-CoV-2, especialmente no período de dezembro de 2020 a abril de 2021, quando o experimento foi realizado. Nesse cenário, as irrigações que, muitas vezes eram necessárias mais de uma vez por

dia ou diariamente, não puderam ser realizadas da maneira ideal, em que atenção maior foi dedicada para as primeiras semanas de implantação, mas parte do período, o acompanhamento das mudas foi realizado a cada um dia. Além disso, no que se refere aos valores obtidos para a massa seca, salienta-se que, em decorrência das medidas de distanciamento devido à pandemia do vírus SARS-CoV-2, o processo de secagem foi interrompido e os tratamentos ficaram cerca de um mês nas estufas, o que pode ter ocasionado alguma alteração na massa das plantas.

A partir dos resultados, percebe-se que a testemunha, seguida do tratamento T2, apresentou maior crescimento da parte aérea. Esses dois tratamentos não receberam nenhuma aplicação após o plantio das mudas, em comparação aos outros tratamentos que receberam aplicações seja da suspensão bacteriana ou dos subprodutos do metabolismo ao longo do período em viveiro. Nesse contexto, é importante ressaltar que, no decorrer das primeiras aplicações, houve um crescimento fúngico na superfície do substrato em algumas plantas, principalmente em repetições dos tratamentos T3 e T5 que receberam a suspensão bacteriana no substrato e o subproduto do metabolismo bacteriano, respectivamente, além da contribuição das condições climáticas de alta umidade relativa do ar durante as primeiras semanas de aplicação (dias chuvosos). Diante disso, a justificativa para o baixo crescimento desses tratamentos é a hipótese de que esse crescimento fúngico interferiu indiretamente no pleno desenvolvimento das mudas, pois foram realizados alguns tratos culturais para eliminação do fungo, como redução da irrigação e troca de substrato. Além disso, foram realizadas duas adubações durante o experimento com ureia, e todos os tratamentos receberam a mesma quantidade por vaso, excluindo a possibilidade de que a testemunha tenha sido favorecida.

Diversos trabalhos destacam o uso de isolados bacterianos do gênero *Bacillus* e seus filtrados, como demonstrado por Patel, Naik e Amaresan (2018), que testaram diferentes isolados bacterianos para promover o crescimento de mudas de bananeira e obtiveram bons resultados, principalmente para o gênero *Bacillus*. Da mesma forma, Idris *et al.* (2004), utilizando filtrados de isolados bacterianos do gênero *Bacillus*, promoveram o alongamento de coleótilos de milho. Bem como Sauda *et al.* (2015), aplicando o sobrenadante da cultura de bactérias do gênero *Bacillus*, encurtou a etapa de endurecimento de mudas de bananeira micropropagadas. E como descrito por Widono *et al.* (2013), onde foi aplicada a suspensão bacteriana e seus filtrados de isolados do mesmo gênero e foi observado incremento significativo na parte aérea de mudas de bananeira micropropagadas. Isso ocorre, pois, bactérias desse gênero apresentam o potencial de solubilizar fosfatos, fixar nitrogênio e produzir auxinas,

especialmente o ácido 3-indolacético (AIA) (ANDRADE *et al.*, 2014; ARAÚJO *et al.* 2021; PATEL; NAIK; AMARESAN, 2018; SOUZA *et al.* 2013; WIDONO *et al.*, 2013).

Em alguns casos, como demonstrado por Mon *et al.* (2021), o melhor resultado da aplicação dos isolados na micropropagação da bananeira, é obtido quando a inoculação é feita na fase *in vitro*, previamente à aclimatização. Além disso, Araújo *et al.* (2021), constatou que os isolados inoculados em mudas de bananeira apresentaram respostas diferentes de acordo com a variedade da bananeira utilizada, indicando que alguns isolados seriam mais adequados para determinadas variedades. Essa pode ser uma hipótese para explicar a resposta não significativa em relação aos tratamentos aplicados, ressaltando então, uma provável interação não satisfatória entre a variedade utilizada, ‘Prata Gorutuba’, e o isolado EB-x1. Resultado similar foi observado por Ferrari *et al.* (2018), onde a aplicação da suspensão bacteriana de 25 isolados bacterianos produtores de AIA na aclimatização de mudas de bananeira, resultou em incrementos significativos apenas para um dos isolados.

Apesar disso, sabe-se da importância do estímulo das auxinas para o desenvolvimento do sistema radicular (KERBAUY, 2004), e tendo em vista a presença de AIA no meio de cultura da bactéria, percebeu-se que o tratamento T4 (aplicação dos subprodutos do metabolismo via foliar), apresentou médias maiores para a massa seca e fresca das raízes, bem como para sua área comparado com a testemunha, com diferenças perceptíveis entre as imagens obtidas do sistema radicular (Figura 1). Além disso, sabe-se que em estudos anteriores com o isolado EB-x1 desenvolvidos por Souza *et al.* (2016) e Souza *et al.*, (2017) com aplicação na fase de aclimatização de mudas da variedade ‘Prata Anã’ do isolado EB-x1 associado ou não com outras bactérias, demonstraram a habilidade do isolado em proporcionar incrementos significativos no crescimento das mudas. Também foram observados excelentes resultados em experimentos não publicados, para a aplicação do isolado na fase *in vitro* com respostas significativas até a fase de aclimatização de mudas de bananeira ‘Prata Catarina’. Diante disso, destaca-se a importância da realização de novas investigações do uso do isolado e dos subprodutos do seu metabolismo, isso porque os resultados encontrados neste trabalho podem acusar uma possível interferência ambiental na expressão do potencial biotecnológico do microrganismo.

Figura 1 - Sistema radicular de mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata Gorutuba’ aos 90 dias de aclimatização em viveiro, Montes Claros, Minas Gerais. (A) Tratamento convencional (T1). (B) Aplicação de suspensão bacteriana por meio da imersão das raízes antes do plantio no substrato (T2). (C) Aplicação da suspensão bacteriana no substrato (T3). (D) Aplicação dos subprodutos do metabolismo bacteriano via foliar (T4)



Legenda: A) Tratamento convencional (T1).

B) Aplicação de suspensão bacteriana por meio da imersão das raízes (T2).

C) Aplicação da suspensão bacteriana no substrato (T3).

D) Aplicação dos subprodutos do metabolismo bacteriano via foliar (T4).

Fonte: CARVALHO, 2021.

5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados, concluiu-se que a aplicação do isolado EB-x1 e dos subprodutos do seu metabolismo na fase de aclimatização da bananeira ‘Prata Gorutuba’, proporciona aumento na produção de biomassa das raízes e conseqüentemente melhor crescimento das mesmas. Entretanto, considerando as alterações ocorridas ao longo do experimento e tendo em conta os estudos anteriores de investigação do potencial biotecnológico da bactéria, ressalta-se a importância da realização de novas investigações.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA RIOS, S. *et al.* Protocolos de assepsia e comprimento de explantes de bananeira ‘Prata Anã’ sobre a produção de mudas por micropropagação. **Unimontes Científica**, Montes Claros, v. 10, n. 1/2, p. 46-52, jan. 2011.

ANDRADE, L. F. *et al.* Analysis of the abilities of endophytic bacteria associated with banana tree roots to promote plant growth. **Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 27-34, jan. 2014.

ARAÚJO, R. C. *et al.* Acclimatization of *Musa* spp. seedlings using endophytic *Bacillus* spp. and *Buttiauxella agrestis* strains. **Microbiological Research**, v. 248, p. 126750, jul. 2021.

BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da bananeira**. 1. ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279p. Disponível em: <<http://www.frutvasf.univasf.edu.br/images/banana2.pdf>>. Acesso em: 16 mai. 2020.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Banana Market Review 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/ca9212en/ca9212en.pdf>>. Acesso em: 13 mai. 2020.

FAOSTAT – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Statistics 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity>. Acesso em: 13 mai. 2020.

FERRARI, E. *et al.* Potential of auxinary production bacterium in promoting the growth of micropropagate banana plant. **Scientific Electronic Archives**, Rondonópolis, v. 11, n. 4, p. 1-6, ago. 2018.

HALLMANN, J. Plant Interactions with Endophytic Bacteria. *In*: JEGER, M. J.; SPENCE, N. J. (Org.). **Biotic interactions in plant-pathogen associations**. United Kingdom: CABI Publishing, 2001. Cap. 3, p. 87-119.

HERNÁNDEZ-SOBERANO, C.; RUÍZ-HERRERA, L. F.; VALENCIA-CANTERO, E. Endophytic bacteria *Arthrobacter agilis* UMCV2 and *Bacillus methylotrophicus* M4-96 stimulate achene germination, in vitro growth, and greenhouse yield of strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). **Scientia Horticulturae**, Amsterdã, v. 261, p. 109005, fev. 2020.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agrícola municipal 2019. Minas Gerais, 2018.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola 2020. Brasil, 2020.

IDRIS, E. E. et al. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. VI. Phytohormonelike action of culture filtrates prepared from plant growth-promoting *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, FZB42, FZB45 and *Bacillus subtilis* FZB37. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Berlin, v. 111, n. 6, p. 583-597, jan. 2004.

JAYAKUMAR, A. *et al.* Plant growth enhancement, disease resistance, and elemental modulatory effects of plant probiotic endophytic *Bacillus* sp. Fc11. **Probiotics and antimicrobial proteins**, Nova Iorque, v. 11, n. 2, p. 526-534, abr. 2019.

KAVINO, M.; MANORANJITHAM, S. K. In vitro bacterization of banana (*Musa* spp.) with native endophytic and rhizospheric bacterial isolates: Novel ways to combat Fusarium wilt. **European Journal of Plant Pathology**, Países Baixos, v. 151, n. 2, p. 371-387, nov. 2018.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: Guanabara, 2004.

KOTTEK, M. *et al.* World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 15, n. 3, p. 259-263, jun. 2006.

MON, Yin Yin *et al.* Evaluation of Plant Growth Parameters by In Vitro and Ex Vitro Inoculation of Micropropagated Banana Plantlets with Rhizospheric and Endophytic Bacterial Inoculum. **Journal of Scientific and Innovative Research**, v. 10, n. 1, p. 16-22, 2021.

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

OLIVEIRA, J. A. A. et al. Aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira em diferentes substratos e recipientes. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 9, n. 1, p. 72-78, nov. 2014.

PATEL, Devanshi Hareshbhai; NAIK, Jinal Hardik; AMARESAN, Natarajan. Synergistic effect of root-associated bacteria on plant growth and certain physiological parameters of banana plant (*Musa acuminata*). **Archives of Agronomy and Soil Science**, Londres, v. 64, n. 7, p. 1021-1031, nov. 2018.

- RAJAMANICKAM, S. *et al.* Biohardening of micropropagated banana using endophytic bacteria to induce plant growth promotion and restrain rhizome rot disease caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum*. Coimbatore, **Scientia horticultrae**, Amsterdã v. 231, p. 179-187, jan. 2018.
- ROCHA, J. S. *et al.* Endophytic interaction of *Bacillus* sp. in micropropagated banana plantlets. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 3, ago. 2019.
- SOUZA, G.L.O.D. *et al.* Triple combinations with PGPB stimulate plant growth in micropropagated banana plantlets. **Applied Soil Ecology**, Amsterdã, v. 103, p. 31-35, jul. 2016.
- SOUZA, G.L.O.D. *et al.* Bactérias endofíticas como bioinoculantes para mudas micropropagadas de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 39, n. 2, jun. 2017.
- SUADA, E. P. *et al.* Phytostimulatory and hardening period-reducing effects of plant-associated bacteria on micropropagated *Musa acuminata* cv. Grand Naine. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 51, n. 6, p. 682-687, set. 2015.
- WIDONO, Salim *et al.* Vigor of plantlet from microplantlet treated by filtrate and cell suspension of some isolates of *Bacillus* and resistance to banana wilt pathogen after acclimatization. **International Journal of Phytopathology**, v. 2, n. 2, p. 70-75, 2013.
- WILSON, D. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. **Oikos**, Lund, v. 73, n. 2, p. 274-276, jun. 1995.

