



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANANDA COVRE DA SILVA

**INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO EM ORQUÍDEAS EPÍFITAS NA FASE DE
ACCLIMATIZAÇÃO**

Londrina-PR
2021

ANANDA COVRE DA SILVA

**INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO EM ORQUÍDEAS EPÍFITAS NA FASE DE
ACLIMATIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Tadeu de Faria

Londrina-PR
2021

ANANDA COVRE DA SILVA

**INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO
EM ORQUÍDEAS EPÍFITAS NA FASE DE ACLIMATIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção do título de mestre

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Roberto Jun Takane
Universidade Federal do Ceará

Dr. Rodrigo Thibes Hoshino
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Orientador Dr. Ricardo Tadeu de Faria
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 25 de fevereiro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que provê todas as coisas.

Ao Prof. Ricardo Tadeu de Faria, meu orientador que me acompanhou e auxiliou durante todo o processo de desenvolvimento do presente trabalho, contribuindo com sua experiência.

Ao Prof. André Luiz Martinez de Oliveira por disponibilizar seu conhecimento, tempo e materiais para que este estudo pudesse ser realizado.

Ao parceiro de profissão Helio Fernandes Ibanhes Neto pela ajuda durante a execução do experimento.

DA SILVA, Ananda Covre. **Inoculação de bactérias promotoras de crescimento em orquídeas epífitas na fase de aclimatização**. 2021. 44 folhas. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Departamento de Agronomia – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inoculação com bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento de *Phalaenopsis* sp. em fase de aclimatização. Mudas de *Phalaenopsis* sp. em fase de aclimatização foram padronizadas e mantidas em casa de vegetação onde receberam os seguintes tratamentos: T1: Água (testemunha) T2: *Bacillus* sp., T3: *Streptomyces* sp. estirpe 102, T4: Adubação química + *Bacillus* sp., T5: Adubação química + *Streptomyces* sp. estirpe 102, T6: Adubação química. Foram realizadas três avaliações, aos 2, 4 e 6 meses após a instalação do experimento para análise das variáveis: número de folhas e de raízes, comprimento de raiz, comprimento e largura da maior folha, área foliar, massa seca radicular, e massa fresca de parte aérea, sistema radicular e total. Com os resultados obtidos realizou-se o cálculo do índice de aumento para cada variável através da fórmula proposta por Edignton et al., 1971. Os resultados indicam que na primeira avaliação houve incremento de 10,67% no comprimento de raiz e 146,76% na massa fresca de parte aérea em comparação a testemunha nos tratamentos com *Bacillus* sp. e *Bacillus* sp. associado a adubação química respectivamente. Após a segunda avaliação a utilização da adubação química foi superior a testemunha para a maioria das variáveis com exceção do comprimento radicular, massa fresca e seca de raiz. Contudo, sua associação com *Streptomyces* sp. estirpe 102 resultou em maior número de folhas. Na terceira avaliação observou-se que a combinação da adubação química aos inoculantes foi prejudicial para as variáveis massa seca de raiz e massa fresca total, quando comparada com a adubação química isolada. A adubação associada ao *Streptomyces* sp. promoveu 128,57% de aumento no número de folhas, enquanto que sua associação com *Bacillus* sp. aumentou 72,41% e 80,34% na largura e área foliar respectivamente com relação a testemunha. Concluiu-se que a utilização do microrganismo isolado não promoveu nenhum ganho significativo com relação as variáveis analisadas ao longo do experimento, e que após seis meses a adubação química promoveu os melhores resultados na promoção do crescimento das mudas de *Phalaenopsis* sp. durante a fase de aclimatização.

Palavras-chave: *Phalaenopsis* sp.: propagação: *Bacillus* sp.: *Streptomyces* sp.

DA SILVA, Ananda Covre. **Inoculation of growth-promoting bacteria in epiphytic orchids in the acclimatization phase**. 2021. 44 pages. Dissertation (Master in Agronomy) - Department of Agronomy - Center for Agricultural Sciences. Londrina State University, Londrina, 2021.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of inoculation with growth-promoting bacteria on the development of *Phalaenopsis* sp. undergoing acclimatization. Seedlings of *Phalaenopsis* sp. in the acclimatization phase, they were standardized and kept in a greenhouse where they received the following treatments: T1: Water (control) T2: *Bacillus* sp., T3: *Streptomyces* sp. strain 102, T4: Chemical fertilization + *Bacillus* sp., T5: Chemical fertilization + *Streptomyces* sp. strain 102, T6: Chemical fertilization. Three evaluations were carried out, at 2, 4 and 6 months after the installation of the experiment to analyze the variables: number of leaves and roots, root length, length and width of the largest leaf, leaf area, root dry mass, and fresh mass aerial part, root system and total. With the results obtained, the increase index for each variable was calculated using the formula proposed by Edington et al., 1971. The results indicate that in the first evaluation there was an increase of 10.67% in the root length and 146.76 % in the fresh weight of shoots compared to the control in treatments with *Bacillus* sp. and *Bacillus* sp. associated with chemical fertilization respectively. After the second evaluation, the use of chemical fertilization was superior to the control for most of the variables, with the exception of root length, fresh and dry root mass. However, its association with *Streptomyces* sp. strain 102 resulted in a greater number of leaves. In the third evaluation, it was observed that the combination of chemical fertilizer with inoculants was harmful for the dry root mass and total fresh mass variables, when compared with the chemical fertilization alone. Fertilization associated with *Streptomyces* sp. promoted a 128.57% increase in the number of leaves, while its association with *Bacillus* sp. increased 72.41% and 80.34% in the width and leaf area respectively with respect to the control. It was concluded that the use of the isolated microorganism did not promote any significant gain in relation to the variables analyzed during the experiment, and that after six months the chemical fertilization promoted the best results in promoting the growth of the seedlings of *Phalaenopsis* sp. during the acclimatization phase.

Key-words: *Phalaenopsis* sp.: propagation: *Bacillus* sp.: *Streptomyces* sp.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Estruturas botânicas da flor da orquídea *Phalaenopsis* sp.....14
- Figura 2** – Segunda avaliação de plantas de *Phalaenopsis* sp. após quatro meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento e sua associação com adubação química (AQ). Londrina/ 202030
- Figura 3** – Terceira avaliação de plantas de *Phalaenopsis* sp. após seis meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento e sua associação com adubação química (AQ). Londrina/ 202032

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Análise de variância para as características número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento de raiz (CR), largura foliar (LF), comprimento foliar (CF), área foliar (AF), massa fresca de raiz (MFR), massa fresca de parte aérea (MFA), massa fresca total (MFT), e massa seca de raiz (MSR) referentes as três avaliações de crescimento de *Phalaenopsis* sp. tratadas com bactérias promotoras de crescimento.....27
- Tabela 2** – Médias das variáveis do crescimento e respectivos índices de aumento em *Phalaenopsis* sp. após dois meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento na fase de aclimatização.....28
- Tabela 3** – Médias das variáveis do crescimento e respectivos índices de aumento em *Phalaenopsis* sp. após quatro meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento na fase de aclimatização.....29
- Tabela 4** – Médias das variáveis do crescimento e respectivos índices de aumento em *Phalaenopsis* sp. após seis meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento na fase de aclimatização.....31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	FAMÍLIA ORCHIDACEAE.....	12
2.2	GÊNERO <i>PHALAENOPSIS</i> SP.....	13
2.3	ASPECTOS ECONÔMICOS DA CULTURA.	14
2.4	PROPAGAÇÃO DE ORQUÍDEAS	15
2.5	ACLIATIZAÇÃO DE MUDAS	17
2.6	MICROORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO	18
2.7	MICROORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM ORQUÍDEAS	19
2.8	HORMÔNIOS VEGETAIS	21
2.9	AUXINAS	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1	OBTENÇÃO DAS MUDAS	24
3.2	INOCULAÇÃO	24
3.3	AVLIAÇÃO DE CRESCIMENTO	25
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
4	RESULTADOS.....	26
5	DISCUSSÃO	33
6	CONCLUSÃO	36
	REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

A grande diversidade de espécies de orquídeas permite que essas plantas sejam encontradas em várias regiões do mundo. No Brasil elas estão presentes em todos os biomas, com destaque em biodiversidade nas florestas tropicais, e podem ser classificadas como epífitas, rupícolas ou terrícolas.

As orquídeas possuem grande valor no mercado de plantas ornamentais, e podem ser vendidas como flor de corte ou como flor de vaso. *Phalaenopsis* sp. é um dos gêneros mais comercializado no mundo, devido a sua variedade de cores, a possibilidade de indução de florescimento, e a durabilidade da flor, características que chamam a atenção de produtores e consumidores.

Na natureza a germinação das sementes de orquídeas é dependente da simbiose com fungos e bactérias, devido as sementes serem muito pequenas e desprovidas de endosperma. Tal fato torna a taxa de germinação muito baixa, por isso a eficiência de propagação para fins comerciais é dependente de técnicas de laboratório, como a cultura de tecidos e semeadura *in vitro*.

O processo de produção *in vitro* de mudas de orquídeas é lento e exige diversos equipamentos a nível laboratorial, portanto é necessário dominar as etapas do processo de semeadura em meio de cultura, cultivo, aclimatização e transplântio em vasos. A aclimatização é uma das fases considerada crítica no processo de produção, pois as mudas são expostas a condições adversas do ambiente *ex vitro* muitas vezes afetando sua sobrevivência.

A inoculação de plantas com microrganismos promotores de crescimento tem sido uma estratégia para auxiliar diversas espécies vegetais a se desenvolverem. A associação simbiótica entre vegetal e microrganismo permite uma troca que favorece desde a germinação de sementes, absorção de nutrientes, além de mitigar estresses bióticos e abióticos, aumentando a tolerância a seca, salinidade, pragas e doenças.

A simbiose entre microrganismos e orquídeas é conhecida a bastante tempo, pois é a através da colonização por fungos que os nutrientes são fornecidos permitindo a germinação das sementes na natureza. Muitas orquídeas epífitas mesmo após o desenvolvimento inicial mantem a relação simbiótica durante a sua vida adulta.

Estudos relacionados com a utilização de microrganismos promotores

de crescimento principalmente nas espécies de maior valor ornamental são de suma importância, por isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inoculação com bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento de *Phalaenopsis* sp. em fase de aclimatização.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FAMÍLIA ORCHIDACEAE

A família Orchidaceae é uma das maiores famílias do grupo das Angiospermas, no mundo podem ser encontrados mais de 20 mil espécies de orquídeas e no Brasil aproximadamente 2 mil. A diversidade de formas das estruturas vegetativas torna possível a distribuição cosmopolita dessas plantas, mas é nas florestas tropicais que elas são mais abundantes, como por exemplo na Mata Atlântica brasileira (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2019).

A orquídeas são plantas herbáceas e perenes que podem ser epífitas, terrestres, rupestre ou saprófitas. Seu crescimento pode ser simpodial, a partir de um rizoma do qual se originam novas raízes e brotos a cada estação formando vários pseudobulbos, como é o caso das *Cattleyas* sp., ou monopodial com um único caule que cresce no sentido vertical indefinidamente. Neste último as raízes são formadas a partir dos nós caulinares como é o caso da *Vanda* sp. e da *Phalaenopsis* sp. (WITHNER et al. 1974; RODRIGUES, 2011).

O pseudobulbo das orquídeas funciona como órgão de reserva e possui diversas formas e tamanhos. Se o pseudobulbo apresenta apenas um entrenó ele é classificado como heteroblástico, e quando possui mais de um entrenó é classificado como homoblástico. As folhas apresentam variação no formato, mas geralmente são dísticas, simples e inteiras (WITHNER et al. 1974). Podem ter textura membranosa, coriácea ou carnosa com capacidade de armazenamento de água (BRAGA, 1977).

As flores normalmente são zigomorfas, hermafroditas e trímeras, com uma pétala formando o labelo. Podem ser axilares, laterais ou terminais no caule, dispostas em inflorescências, espigas ou panículas, eretas ou penduradas (RODRIGUES, 2011). Em sua maioria o florescimento das orquídeas ocorre uma vez ao ano, salvo exceções como os gêneros *Vanda* sp. e *Phalaenopsis* sp. que chegam a florir duas vezes no mesmo ano (FARIA et al., 2012b).

A raízes das orquídeas podem ser entumecidas, clorofiladas, grossas ou pilosas (RODRIGUES, 2011), e algumas espécies apresentam o velame, que é uma epiderme externa constituída de células suberificadas que além de oferecerem

proteção física, ajudam a reduzir a taxa de transpiração, e auxiliam na absorção de águas e sais minerais (PRIDGEON, 1986; BENZING, 1987). Normalmente fungos micorrízicos se associam ao sistema radicular das orquídeas e auxiliam em seu crescimento, principalmente no estágio inicial de desenvolvimento dessas plantas (DE BRITO; CRIBB, 2005).

2.2 GÊNERO *PHALAEENOPSIS* SP.

Phalaenopsis sp. é um gênero pertencente à família Orchidaceae que possui cerca de 66 espécies e cinco subgênero divididos de acordo com o tamanho das plantas e as características florais (CHRISTENSON, 2001). Seu centro de origem é o sudeste da Ásia, e os países Índia e Austrália (RITTERSHAUSEN; RITTERSHAUSEN, 2004).

O nome *Phalaenopsis* deriva a partir de duas palavras gregas: “phalaina” (borboleta) e “opsis” (semelhança), uma alusão ao fato de as flores parecerem borboletas voando (ROXANA, 2012).

As plantas desse gênero geralmente são epífitas e apresentam folhas dísticas, grossas e carnosas que podem atingir até 60 cm de comprimento e 20 cm de largura. As raízes também são carnosas com coloração verde e tem a capacidade de crescer dentro do substrato ou fora dele de forma aérea. Além disso, o sistema radicular das *Phalaenopsis* apresenta uma fina camada branca em sua superfície compostas de células mortas e vivas, estas últimas responsáveis pela entrada de água e nutrientes para o interior da planta. (ROXANA, 2012; TAKANE et al., 2015)

As inflorescências do tipo racemo são produzidas a partir das gemas axilares e as flores fixadas a uma haste floral que pode atingir cerca de 1 m de comprimento. A flor é composta por 3 sépalas e 2 pétalas laterais que podem ser iguais ou diferentes das sépalas em tamanho e cor (TAKANE et al, 2015).

O formato do labelo apresenta variação dentro do gênero, de acordo com Faria et al, 2010 o labelo é uma pétala modificada na região central da flor que auxilia na identificação da espécie. Segundo Lee et al., 2018 o labelo oferece uma plataforma de aterrisagem para os polinizadores.

Figura 1. Estruturas botânicas da flor da orquídea *Phalaenopsis* sp.



Fonte: orquidariouel.com.br

O sistema de crescimento das *Phalaenopsis* sp. é monopodial, ou seja, o crescimento se dá verticalmente em um caule único através da atividade da gema apical, sem produzir ramos laterais. Por isso a utilização do meristema apical para propagação *in vitro* dessa orquídea pode comprometer a sobrevivência da planta (MINAMIGUCHI, 2007).

Um grande atrativo aos produtores e amantes do cultivo de orquídea é o fato de as plantas deste gênero apresentarem curto período juvenil o que faz com que o tempo entre o plantio da muda e a floração seja de aproximadamente 18 meses. Na região sul do Brasil a floração ocorre de forma natural entre os meses de setembro a outubro, mas com a indução floral artificial através da diminuição da temperatura ambiente ou transplântio é possível fazer a *Phalaenopsis* sp. florescer até duas vezes no ano (CHEN; LIN, 2012; TAKANE et al, 2015; CARDOSO et al., 2012).

2.3 ASPECTOS ECONÔMICOS DA CULTURA

A *Phalaenopsis* sp. é uma das plantas mais produzidas e comercializadas no mundo, os grandes produtores são a Holanda, Alemanha, China,

Taiwan, Estados Unidos e Japão. O melhoramento genético feito por produtores e por diversas empresas do setor levam ao mercado inúmeras variedades de tipos de flores, grande parte dos híbridos atuais são produzidos principalmente na Holanda e em Taiwan (TAKANE, 2015). Recentemente existem 34.112 híbridos registrados na Sociedade Real de Horticultura da Grã-Bretanha (HSU et al., 2018).

No Brasil o cultivo de orquídeas se profissionalizou principalmente a partir da década de 90, a planta vem ganhando cada vez mais mercado devido o encanto das inflorescências que apresentam diversidade de formatos, cores e tamanhos (TAKANE et al. 2015). Em 2018 foram comercializadas 1.549 toneladas de orquídeas na Feira das Flores do Ceagesp, maior feira de venda de produtos de floricultura do país, a planta ficou em segundo lugar no ranking das flores mais vendidas desse mesmo ano (ENTREPOSTO, 2019).

O gênero *Phalaenopsis* sp. tem papel de destaque na cadeia brasileira de produção e comercialização de orquídeas, segundo dados do Mercado de Flores e Plantas Ornamentais da Central de Abastecimento de Campinas- SP cerca de 1,2 milhões de vasos de orquídeas foram comercializadas em 2016, deste montante 30,81% foram de *Phalaenopsis* sp., superando os demais gêneros como *Dendrobium* sp. e *Cymbidium* sp. que foram responsáveis por 18,18% e 15,65% respectivamente (ABRACEM, 2019).

O grande atrativo para o mercado é a durabilidade das flores que podem manter seu bom aspecto por meses. A versatilidade da planta permite sua comercialização como flor de vaso ou flor de corte para confecção de arranjos (TAKANE et al., 2015).

Segundo Takane *et al.*, (2015) no Brasil existem mais de 50 produtores que estão concentrados principalmente no estado de São Paulo, nas cidades de Holambra e Atibaia. As condições climáticas do país, favoráveis ao cultivo de orquídeas, tornam o negócio ainda mais viável para esses produtores.

2.4 PROPAGAÇÃO DE ORQUÍDEAS

Para suprir a demanda por mudas de orquídeas a propagação *in vitro* é imprescindível para a produção em escala comercial. Neste modelo de cultivo as plantas se desenvolvem dentro de um recipiente contendo meio de cultura responsável por fornecer nutrientes e água para a planta. Este método é uma

excelente estratégia para produzir mudas de qualidade e livres de doenças (FARIA *et al.*, 2012b).

A produção de mudas de orquídeas *in vitro* deve ser feita em condições laboratoriais, com a produção de um meio de cultura asséptico para o desenvolvimento das mudas (CALDAS *et al.*, 1998). Os principais meios utilizados são Murashige e Skoog (1962), Knudson (1946) e Vancin e Went (1949).

Dentre os nutrientes exigidos pelas orquídeas podemos citar fosforo (P), Magnésio (Mg), Nitrogênio (N) e Cálcio (Ca), mas além disso, deve ser fornecida uma fonte de carbono como a sacarose e vitaminas, pois as plantas *in vitro* não são capazes de produzir todas as substâncias necessárias para sua sobrevivência (FARIA *et al.*, 2012b).

A utilização da banana e água de coco no meio de cultura é uma boa estratégia para incorporar nutrientes e vitaminas ao meio (GUERRA; NODARI, 2006). O carvão ativado também deve ser incorporado para estimular o enraizamento das plantas cultivadas *in vitro* (FARIA *et al.*, 2002).

A propagação pode ser feita com sementes imaturas ou maduras semeadas diretamente no meio de cultura (STANCATO, 1996) que favorece 100% dos embriões zigóticos germinarem (JUNGHANS; SOUZA, 2009).

Além da propagação por sementes, as orquídeas também são multiplicadas através da clonagem, contudo para isso é necessária uma planta matriz que forneça explantes como brotos, ápices radiculares, fragmentos de folhas (CHAMPAGNAT *et al.*, 1970; TISSERAT; JONES, 1999) ou gemas florais (VENDRAME *et al.*, 2007).

O cultivo através de sementes pode ser feito com elas ainda imaturas (verdes) ou já maduras quando a capsula se rompe, para ambas condições é necessário seguir um protocolo de desinfecção da capsula ou das sementes para que não ocorra contaminação durante o cultivo *in vitro*. Após a desinfecção as sementes são semeadas em meio de cultura para germinarem (FARIA *et al.*, 2012b).

De acordo com Faria *et al.*, (2012b) quando as plântulas atingirem cerca de 1 a 2 centímetros de altura é necessário fazer a repicagem, processo este que consiste na transferência das plântulas para novos frascos contendo meio de cultura, a quantidade de plântulas transferidas para cada frasco deve ser de acordo com o tamanho do mesmo para que não haja competição.

Em casos que o objetivo é a clonagem, o cultivo é feito utilizando

explantes, estes são introduzidos no meio de cultura para o início da fase de estabelecimento por cerca de 30 dias. As mudas que sobreviverem devem ser repicadas em um novo meio contendo reguladores vegetais para que se possa fazer a multiplicação e o enraizamento, esta etapa consiste em uma sequência de subcultivos (DEBERGH E READ, 1990). Após o desenvolvimento de parte aérea e raízes vigorosas as mudas podem ser aclimatizadas.

2.5 ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS

A aclimatização é uma fase do processo de propagação *in vitro* no qual a muda é retirada do meio *in vitro* e é exposta ao ambiente *ex vitro* para que ocorra sua adaptação climática ao novo ambiente (GUERRA & NODARI, 2006). Contudo, esse processo é realizado de maneira controlada, pois esta é uma etapa crítica, uma vez que, muitas mudas não sobrevivem a esta mudança (ROGALSKI et al., 2003).

Baixas taxas de sobrevivência já foram observadas em plantas da família Orchidaceae. Rodrigues et al., (2018) avaliaram a aclimatização da orquídea *Oncidium baueri* Lindl em diferentes substratos a base de resíduos agrícolas e constataram uma taxa média de sobrevivência de 30%. Resultado semelhante foi obtido por Miller et al., 2007 ao testar substratos de origem vegetal na aclimatização de plântulas de *Milltonia flavescens*, no qual os autores observaram percentual de 37% de sobrevivência quando utilizado substrato comercial.

Um dos problemas que tornam a fase de aclimatização crítica é a desidratação das mudas. O ambiente *in vitro* tem maior umidade relativa e menor intensidade luminosa quando comparado ao *ex vitro*, onde ocorre a diminuição da umidade e o aumento da intensidade luminosa. Essas mudanças resultam no incremento do fluxo respiratório da plântula e maior perda de água que levam ao déficit hídrico, agravado pela inexistência de cutículas nas folhas e estômatos não funcionais (FARIA et al., 2012b).

Ademais, as plântulas provenientes do cultivo *in vitro* apresentam diferenças morfológicas internas e externas com relação as mudas cultivadas a campo. A nível celular algumas organelas não estão bem desenvolvidas, o que dificulta a transição da fase heterotrófica, onde ela recebe carboidratos através dos

açúcares do meio de cultura, para uma fase autotrófica, no qual a fotossíntese é essencial (GUERRA; NODARI, 2006).

Externamente, as raízes das mudas micropropagadas não são funcionais, ou seja, para sobreviver elas precisam emitir novas raízes para iniciar a absorção de água e nutrientes de forma eficiente e satisfatória. Além disso, a fragilidade do tecido radicular aliada ao um sistema imune deficiente, resultado da falta de pressão de inóculo no ambiente *in vitro*, que por sua vez, facilita a infecção por patógenos e compromete a taxa de sobrevivência das mudas (DEBERGH; MAENE, 1981; GUERRA & NODARI, 2006; FARIA et al., 2012).

2.6 MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO

Os microrganismos são capazes de colonizar as raízes, folhas, caule e a rizosfera, e interagir de diferentes maneiras com a planta. A interação entre planta e microrganismo pode ser prejudicial quando envolve microrganismos fitopatogênicos, mas também pode ser muito benéfica quando estes auxiliam no desenvolvimento da planta hospedeira (MENDES *et al.*, 2013).

Os Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas - MPCP são benéficos e podem atuar no transporte e mobilização de nutrientes, na absorção das raízes, aumentar a resistência a seca e a salinidade, estimular a produção de fito-hormônios e compostos que favorecem a proteção das plantas contra patógenos, (CASTIGLIONI *et al.*, 2008). Em contrapartida a planta disponibiliza aminoácidos e substâncias úteis para a manutenção do metabolismo microbiano (MOE, 2013).

Estes organismos podem ser encontrados associados ou não a planta. Os microrganismos endofíticos são conhecidos por estabelecerem uma relação íntima com o tecido radicular. Segundo Wilson, (1995) bactérias e fungos endofíticos são aqueles que penetram o tecido vegetal para concluir parcial ou totalmente seu ciclo de vida, causando infecções que não apresentam danos nem sintomas aparentes, ou seja, sem patogenicidade.

Por outro lado, mesmo sem colonizar o tecido vegetal alguns organismos tem a capacidade de promover crescimento, como é o caso das rizobactérias de vida livre ou de rizosfera. Esta última, coloniza a região de encontro entre o solo e a planta, conhecida como rizosfera (OLIVEIRA; URQUIAGA; BALDANI,

2003; BENIZRI et al, 2001; STEENHOUDT; VARDERLEYDEN, 2000). Microrganismos que apresentam maior resistência a estresses tem maiores chances de sobrevivência durante a colonização. Bactérias gram-negativas como o *Azospirillum* sp. e algumas gram-positivas como os *Bacillus* sp. são exemplo de microrganismos promotores de crescimento de plantas aplicados a agricultura com o objetivo de reduzir custos e aumentar a produtividade (CARDOSO et al., 2010; MENDES et al., 2013).

2.7 MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM ORQUÍDEAS

A capacidade das orquídeas se associarem a microrganismos endofíticos é conhecida a bastante tempo. A presença de fungos micorrizicos nas raízes de Orchidaceae foi observada pela primeira vez em 1824 por Heinrich Friedrich, mas foi em 1899 que Noel Bernard descobriu que os fungos desempenhavam papel importante no processo de germinação das sementes de orquídeas (ARDITTI, 1992).

As sementes das orquídeas além de possuírem um embrião muito pequeno também não desenvolvem cotilédones e endosperma. Com a ausência de tecidos de reservas a germinação só possível devido a colonização e formação de estruturas fúngicas intracelulares (pelotons) nos tecidos do embrião que fornecem nutrientes para o seu desenvolvimento. Após a germinação os pelotons podem ser observados em células da raiz e nos protocormos, comprovando a existência da interação endofítica entre micorrizas e planta (PETERSON et al., 1998; PETERSON et al., 2004).

Mesmo após adquirirem capacidade de produzir seu próprio alimento através da fotossíntese algumas orquídeas clorofiladas continuam obtendo minerais durante a fase adulta através da relação micorrízica (DEARNALEY, 2007). O mesmo acontece com as plantas aclorofiladas que dependem dessa relação para seu desenvolvimento durante seu ciclo de vida completo (PETERSON, 1998; RASMUSSEN; RASMUSSEN, 2009).

Estudos indicam que as orquídeas apresentam especificidades quanto ao gênero de fungo em que ela irá estabelecer relação micorrízica. Plantas que são compatíveis com uma diversidade maior de gêneros de fungos são capazes de colonizar substratos diferentes, e assim se distribuem melhor na natureza, já as orquídeas que apresentam maiores especificidades normalmente são raras (OTERO

et al., 2007; PEREIRA, 2009; SWARTS; DIXON, 2009).

Bactérias também são capazes de estabelecerem simbiose com orquídeas e promoverem a germinação de sementes como relatado por SUN *et al.* (2009) em *Cymbidium goeringii* e por VENDRAMIN *et al.* (2010) em *Orchis militaris*.

Outro uso potencial das bactérias é como promotoras de crescimento de plântulas principalmente no processo de aclimatização de mudas obtidas por micropropagação, processo este que tem se mostrado problemático no cultivo comercial (CHUGH *et al.*, 2009; DIAS *et al.*, 2009). O crescimento das mudas é favorecido porque as bactérias podem produzir ácido indol acético (IAA) que possui função importante no crescimento vegetal, estimulando o enraizamento (TSAVKELOVA *et al.*, 2007).

Faria *et al.* (2012a) testou 12 cepas de bactérias do gênero *Paenibacillus* isoladas de tecido de *Cymbidium eburneum* e observou que todas as elas foram capazes de aumentar a taxa de sobrevivência e promover o crescimento de mudas de *Cattleya* sp. durante o processo de aclimação. Segundo o autor isso foi possível porque essas bactérias produziam ácido indol-3-acético, substância esta que promove o aumento da quantidade de raízes e consequentemente influencia no crescimento das mudas.

Gontijo *et al.* (2008) evidenciou o potencial da utilização de bactérias promotoras de crescimento como bioestimulantes durante o processo de aclimatização de orquídeas. O autor observou aumento do percentual de massa seca de *Cymbidium* sp. inoculadas com *Herbaspirillum frisingense* e *Stenotrophomonas maltophilia*.

Muitas espécies de orquídeas estão incluídas na lista de espécies ameaçadas do IBAMA, por isso desenvolver técnicas que favoreçam a conservação dessas espécies é muito importante, e além disso, o desenvolvimento de inoculantes, para aperfeiçoar o cultivo e a produção comercial de orquídeas é uma ferramenta benéfica não somente do ponto de vista comercial mais também ecológico (PEREIRA; VALADARES, 2012) e para a produção de mudas comercialmente (PEREIRA *et al.*, 2002).

2.8 HORMÔNIOS VEGETAIS

Crescimento, amadurecimento, e floração são exemplos de fenômenos vegetais que estão relacionados a ação de fito-hormônios (ROLCIK et al., 2005). Atualmente a giberelina, etileno, citocinina e ácido abscísico são alguns dos hormônios vegetais conhecidos, mas foram as auxinas os primeiros a serem descobertos em 1881 por Charles Darwin (TAIZ; ZEIGER, 2017)

Os hormônios vegetais são substâncias naturais produzidas nas células vegetais e normalmente agem em local diferente de onde são produzidos. As principais funções dos hormônios são a regulação de processos fisiológicos, como ativação ou inibição de crescimento e desenvolvimento, e a regulação de resposta ao ambiente. Além disso sua ação isolada ou em conjunto age na diferenciação de órgão, e em processos de senescência e maturação (RODRIGUES; FIOREZI, 2015).

As giberelinas desempenham papel importante no crescimento do caule, altura de planta, floração, desenvolvimento de frutos, e germinação de sementes. Este está presente nas folhas mais novas, nas raízes e nas sementes quando iniciam seu processo de germinação (LAVAGNINI, 2014; de MELO, 2002).

O etileno é o hormônio envolvido no desenvolvimento de raiz e parte aérea, maturação e senescência de frutos, abscisão de folhas, quebra de dormência entre outros. Sua produção ocorre em resposta a estresses bióticos e abióticos. Por ser um gás esse hormônio não se desloca através de vasos condutores e sim por difusão através dos espaços entre as células do tecido vegetal (TAIZ E ZEIGER, 2017; de MELO, 2002).

A citocinina é produzido por embriões, frutos e nas raízes, seu transporte através da planta ocorre através do xilema. Juntamente com a auxina esse hormônio age na divisão celular e no controle da dominância apical (MAGALHÃES, 2021).

O ácido abscísico (ABA) é responsável por induzir o fechamento estomático, e com isso ativar mecanismos de defesa vegetal contra estresse hídrico (MUNEMASA, 2015). Além disso, o ABA auxilia na absorção de água pela raiz através da alteração do potencial osmótico do tecido radicular (MELO et al., 2019).

Atualmente existem nove grupos de hormônios vegetais, entre eles alguns estão citados acima. O conhecimento a respeito desses hormônios permitiu

avanços em técnicas de cultura de tecidos *in vitro*, ferramenta está de suma importância para a agricultura (RODRIGUES E FIOREZI, 2015; de MELO, 2002) como para o cultivo *in vitro* de orquídeas.

2.9 AUXINAS

O ácido indol-3-acético (AIA) atualmente é a auxina mais importante e que está ligada a processos como alongamento e divisão celular, dominância apical, e desenvolvimento de brotos (WURST *et al.*, 1984). Sua estrutura simples permitiu que pesquisadores fossem capazes de formular diversas outras moléculas sintéticas com ação auxínica, como por exemplo o 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) aplicado na agricultura como herbicida ou hormônio vegetal (TAIZ; ZEIGER., 2017).

A síntese do AIA acontece em tecidos que tem capacidade de se dividirem mais rapidamente como os meristemas apicais, folhas e frutos novos (WACHOWICZ; CARVALHO, 2002). O AIA é sintetizado em duas etapas, na primeira o triptofano é convertido em indol-3-piruvato por enzimas triptofano aminotransferases, e na segunda o indol-3-piruvato é convertido em AIA pelas enzimas flavinas monooxigenases (TAIZ; ZEIGER., 2017).

Outra via biossintética de AIA são os próprios microorganismos associados as plantas, muitas bactérias endofíticas como os *Bacillus* sp., por exemplo, são capazes de sintetizar AIA auxiliando assim no crescimento vegetal (PATTEN e GLICK, 2002; TSAVKELOVA *et al.*, 2006).

Sabe-se que a relação planta bactéria pode ser mutualística, mas a causa exata de como essas bactérias são capazes de produzir auxinas ainda é desconhecida. A planta fornece para as bactérias, açúcares e aminoácidos e as bactérias produzem AIA através da conversão do triptofano. O AIA produzido estimula o enraizamento vegetal que resulta em melhorias no seu desenvolvimento. Essas melhorias favorecem as bactérias devido a maior disponibilidade de açúcares e aminoácidos por meio da planta (SOLANO *et al.*, 2008).

Independente da via biossintética as auxinas conferem as células vegetais uma maior plasticidade que resulta no alongamento celular. Alguns autores se apoiam na ideia de que a expansão celular tem relação com a absorção ativa de água pela célula (ROSA, 2002). Outro papel importante das auxinas é com relação a

sua capacidade de estimular o enraizamento de estacas, atualmente é comum o uso de fitorreguladores que estimulam a formação de raízes adventícias, principalmente quando se pensa em produção comercial (COSTA; COSTA, 2003).

A dominância apical também é um fenômeno atribuído a presença de AIA nas plantas, sua alta concentração nas gemas apicais impedem que as gemas laterais se desenvolvam, principalmente pelo fato de estimular o transporte de nutrientes para a região apical. Além disso, o crescimento das gemas laterais é inibido devido a presença de ABA (ácido abscísico) nestas regiões (TAIZ; ZEIGER, 2017).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS MUDAS

O experimento foi conduzido entre os meses de julho de 2019 e janeiro de 2020 em casa de vegetação. Mudanças da orquídea *Phalaenopsis* sp. oriundas do cultivo *in vitro* e em fase de aclimatização em bandejas com substrato esfagno, foram selecionadas e padronizadas para posterior inoculação com bactérias promotoras de crescimento. As mudas foram transplantadas em vaso tamanho pote 11 (7,4 cm de altura, 10,4 cm e 7,3 cm de diâmetro superior e inferior respectivamente) com substrato a base de casca de pinus, carvão e chips de coco na proporção 2:1:1 e mantidas durante 6 meses em casa de vegetação modelo Van der Hoeven® no Departamento de Agronomia da Universidade de Londrina sob condições controladas.

A casa de vegetação possui cobertura de policarbonato e um sistema de refrigeração úmida que é acionada automaticamente sempre que a temperatura interna atinge 28 °C e é desligada quando a temperatura atinge 26 °C.

As mudas apresentavam em média $2,2 \pm 0,4$ folhas, $7 \pm 1,8$ raízes, e $7,34 \pm 1,4$ cm de comprimento de raiz. Além disso, as folhas mediam $1,86 \pm 0,3$ cm de largura, $2,6 \pm 0,7$ cm comprimento, e a área foliar era igual a $4,65 \pm 0,6$ cm². A massa fresca de raiz, massa fresca de parte aérea e a massa fresca total tinham respectivamente em média $2,19 \pm 0,5$ g, $1,14 \pm 0,3$ g e $3,40 \pm 0,8$ g

3.2 INOCULAÇÃO

Foram utilizadas as bactérias *Bacillus* sp. e *Streptomyces* sp. estirpe 102, ambas componentes da coleção de Bactérias Promotoras de Crescimento da Universidade Estadual de Londrina. Os tratamentos foram compostos pela inoculação uma única vez através de rega de 50 ml de inoculante por vaso na concentração de 1×10^7 células por ml, sendo T1: Testemunha (água) T2: *Bacillus* sp., T3: *Streptomyces* sp. estirpe 102, T4: Adubação química + *Bacillus* sp., T5: Adubação química + *Streptomyces* sp. estirpe 102, T6: Adubação química. A adubação química foi realizada através da aplicação mensal do produto comercial Peters, formulação NPK 20 20 20, na diluição de 1 g L⁻¹, sendo que em cada vaso eram aplicados 50 ml do diluído.

3.3 AVALIAÇÃO DE CRESCIMENTO

Após a inoculação foram realizadas três avaliações com intervalos de 2 meses entre elas, sendo a primeira em 26 de setembro de 2019 e as demais em 26 de novembro de 2019 e 26 de janeiro de 2020 respectivamente. Avaliou-se o número de folhas e de raízes, comprimento radicular, comprimento, largura e área da maior folha de 10 plantas por tratamento. Para as variáveis de massa, fresca e seca, dos tecidos, radicular, parte aérea e total, foram avaliadas 5 plantas por tratamento.

A largura foliar e os comprimentos de raiz e folha foram realizado com auxílio de uma régua milimétrica e expresso em centímetros (cm). A área foliar foi estimada através da multiplicação dos valores obtidos na medição de largura e comprimento. A massa fresca foi determinada com a utilização de uma balança analítica e os resultados expressos em gramas (g).

O índice de aumento foi calculado para cada variável analisada, levando em conta a fórmula proposta por Edington *et al.* (1971) no qual: $IA = [(TR - T) / T]100$; onde: TR = valor obtido para o tratamento; T = valor obtido para a testemunha, e os resultados expressos em porcentagem (%).

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os dados testados quanto aos pressupostos estatísticos normalidade e homogeneidade (Shapiro-wilk e Bartley). A análise de variância e a comparação das médias realizada através do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS

De acordo com a análise de variância foi possível identificar diferenças estatísticas entre os tratamentos, com microrganismos promotores de crescimento, para algumas das variáveis morfológicas avaliadas, nas três avaliações realizadas (Tabela 1).

Tabela1. Análise de variância para as características número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento de raiz (CR), largura foliar (LF), comprimento foliar (CF), área foliar (AF), massa fresca de raiz (MFR), massa fresca de parte aérea (MFA), massa fresca total (MFT), e massa seca de raiz (MSR) referentes as três avaliações de crescimento de *Phalaenopsis* sp. tratadas com bactérias promotoras de crescimento.

1º avaliação					
		Tratamento	Resíduo	CV %	Média geral
GL		5	54		
	NF	1,56	0,42	22,23	2,94
	NR	1,49	5,35	24,14	9,58
QM	CR	24,85*	2,92	17,39	9,84
	LF	0,72	0,33	22,75	2,53
	CF	0,58	0,41	20,35	3,16
	AF	20,86	10,7	39,71	8,23
GL		5	24		
	MFR	0,51	2,44	39,54	3,95
QM	MFA	2,96*	0,66	42,43	1,92
	MFT	2,98	4,98	37,98	5,87
	MSR	0,01	0,01	47,44	0,22
2º avaliação					
		Tratamento	Resíduo	CV %	Média geral
GL		5	54		
	NF	9,31*	0,34	18,65	3,16
	NR	23,87*	6,00	23,08	10,61
QM	CR	3,49	15,89	33,43	11,92
	LF	2,52*	0,36	20,87	2,87
	CF	7,53*	0,60	20,72	3,75
	AF	125,24*	10,75	30,98	10,58
GL		5	24		
	MFR	3,56*	1,25	22,87	4,90
QM	MFA	14,23*	1,15	37,25	2,88
	MFT	31,41*	3,54	24,17	7,78
	MSR	0,02	0,03	47,38	0,38
3º avaliação					
		Tratamento	Resíduo	CV %	Média geral
GL		5	54		
	NF	12,01*	0,55	22,07	3,38
	NR	174,40*	22,84	33,38	14,31
QM	CR	70,88	31,84	31,70	17,79
	LF	6,30*	0,37	19,72	3,12
	CF	17,48*	0,98	23,74	4,18
	AF	10,70*	0,53	20,27	3,61
GL		5	24		
	MFR	46,26*	6,8	35,27	7,39
QM	MFA	37,05*	2,8	41,23	4,05
	MFT	156,70*	7,85	24,48	11,45
	MSR	0,30	0,03	31,30	0,57

Na primeira avaliação efetuada dois meses após a instalação do experimento, foi possível observar que o *Bacillus* sp. isoladamente apresentou comprimento radicular de 11,51 cm, com incremento de 10,67% em relação a testemunha, todavia ao ser combinado com a adubação química, o comprimento da raiz foi reduzido para 7,33 cm, indicando que para esta variável a combinação foi prejudicial (Tabela2 e Figura 2).

Entretanto para a variável MFA, os resultados observados foram o oposto do ocorrido com comprimento radicular, uma vez que a combinação com adubação química foi sinérgica. Na utilização isolada do *Bacillus* sp. os incrementos foram de 11,51%, já sua combinação com adubação química resultou em incrementos médios de 146,76%.

Tabela 2. Médias das variáveis do crescimento e respectivos índices de aumento em *Phalaenopsis* sp. após dois meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento na fase de aclimatização.

Tratamento	1º avaliação					
	T ³	B	S	B+AQ	S+AQ	AQ ⁴
	Médias					
NR ²	9,5 a ¹	9,1 a	9,3 a	9,6 a	9,8 a	10,2 a
IA ⁵	0	0	0	1,05	3,15	7,36
CR	10,4 ab	11,51 a	8,53 bc	7,33 c	10,56 ab	10,73 ab
IA	0	10,67	0	0	1,53	3,17
MFR	3,86 a	4,19 a	3,38 a	3,91 a	4,08 a	4,28 a
IA	0	8,54	0	1,29	5,69	10,88
MSR	0,27 a	0,20 a	0,21 a	0,22 a	0,18 a	0,26 a
IA	0	0	0	0	0	0
NF	2,6 a	2,6 a	2,5 a	3,2 a	3,3 a	3,4 a
IA	0	0	0	23,07	26,92	30,76
LF	2,26 a	2,44 a	2,7 a	2,96 a	2,27 a	2,56 a
IA	0	7,96	19,46	30,97	0,44	13,27
CF	3,21 a	3,17 a	2,93 a	3,61 a	3,00 a	3,07 a
IA	0	0	0	12,46	0	0
AF	7,31 a	7,77 a	8,25 a	11,03 a	7,00 a	8,05 a
IA	0	6,29	12,85	50,88	0	10,12
MFA	1,39 b	1,55 b	1,96 ab	3,43 a	1,43 b	1,75 b
IA	0	11,51	41	146,76	2,87	25,89
MFT	5,25 a	5,75 a	5,35 a	7,34 a	5,52 a	6,04 a
IA	0	9,52	1,9	39,8	5,14	15,04

¹Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste Tukey (5%). ² NR= número de raízes; CR= comprimento de raiz (cm); MFR= massa fresca de raiz (g); MSR= Massa seca de raiz (g); NF= número de folhas; LF= Largura foliar (cm); CF= comprimento foliar (cm); AF= área foliar (cm²); MFA= massa fresca de parte aérea (g); MFT= massa fresca total (g); ³ T= Testemunha; B= *Bacillus* sp.; S = *Streptomyces* sp. estirpe 102.; B+AQ= *Bacillus* sp. aliado. ⁴ Adubação química- produto comercial Peters NPK 20-20-20, 1g/l de água uma vez por mês. ⁵ IA: Índice de aumento (%) calculado para todas as variáveis respectivamente.

Após a segunda avaliação (Tabela 3) observou-se que a utilização isolada dos inoculantes (*Bacillus* sp. e *Streptomyces* sp.), não diferiram da testemunha em nenhuma das variáveis utilizadas.

A utilização da adubação química foi superior a testemunha para a maioria das variáveis com exceção do comprimento radicular, massa fresca e seca de raiz. Além disso, sua aplicação combinada aos inoculantes (B+AQ e S+AQ) diferiu da sua aplicação isolada (AQ) apenas no número de folhas, em que a combinação entre *Streptomyces* sp. e adubação foi superior, entretanto para o número de raiz está associação apresentou-se inferior (Figura 3).

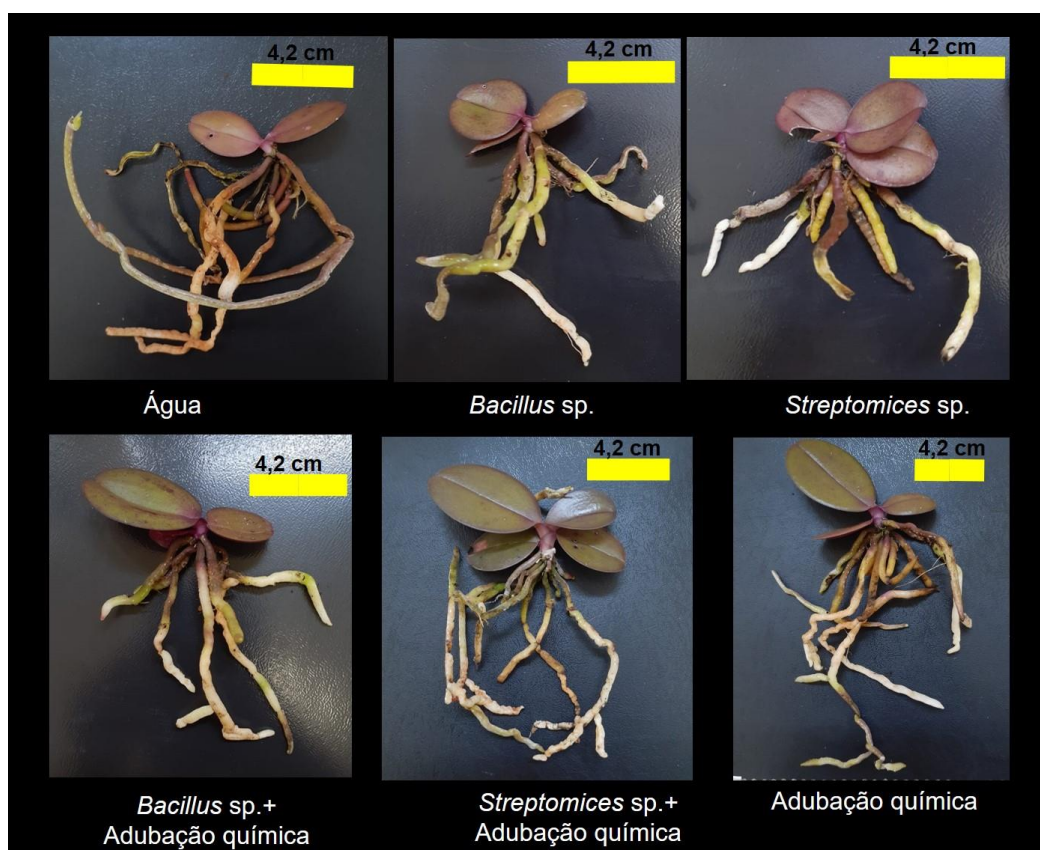
Tabela 3. Médias das variáveis do crescimento e respectivos índices de aumento em *Phalaenopsis* sp. após quatro meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento na fase de aclimatização.

Tratamento	2º avaliação					
	T ³	B	S	B+AQ	S+AQ	AQ ⁴
Médias						
NR ²	10,0 b ¹	9,4 b	9,9 b	11,4 ab	9,5 b	13,4 a
IA ⁵	0	0	0	14	0	34
CR	12,09 a	12,62 a	11,47 a	11,12 a	11,75 a	12,52 a
IA	0	4,38	0	0	0	3,55
MFR	4,45 ab	3,74 b	4,50 ab	5,10 ab	5,55 ab	6,08 a
IA	0	0	1,12	14,6	24,71	36,62
MSR	0,37 a	0,34 a	0,36 a	0,36 a	0,33 a	0,51 a
IA	0	0	0	0	0	37,83
NF	2,3 c	2,3 c	2,4 c	3,6 b	4,6 a	3,7 b
IA	0	0	4,34	56,52	100	60,86
LF	2,39 c	2,3 c	2,68 bc	3,28 ab	3,07 abc	3,55 a
IA	0	0	12,13	37,23	28,45	48,53
CF	3,06 c	2,80 c	3,19 bc	4,29 a	4,13 ab	5,03 a
IA	0	0	4,24	40,19	34,96	64,37
AF	7,42 c	6,52 c	8,69 bc	14,16 a	11,85 ab	14,84 a
IA	0	0	17,11	90,83	59,7	100
MFA	1,33 c	1,24 c	1,65 bc	3,60 ab	4,47 a	5,02 a
IA	0	0	24,06	170,67	236,09	277,44
MFT	5,78 bc	4,98 c	6,14 bc	8,70 ab	10,02 a	11,10 a
IA	0	0	6,22	50,51	73,35	92,04

¹Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste Tukey (5%). ²NR= número de raízes; CR= comprimento de raiz (cm); MFR= massa fresca de raiz (g); MSR= Massa seca de raiz (g); NF= número de folhas; LF= Largura foliar (cm); CF= comprimento foliar (cm); AF= área foliar (cm²); MFA= massa fresca de parte aérea (g); MFT= massa fresca

total (g); ³ T= Testemunha; B= *Bacillus* sp.; S = *Streptomyces* sp. estirpe 102.; B+AQ= *Bacillus* sp. aliado. ⁴ Adubação química- produto comercial Peters NPK 20-20-20, 1g/l de água uma vez por mês. ⁵ IA: Índice de aumento (%) calculado para todas as variáveis respectivamente.

Figura 2. Segunda avaliação de plantas de *Phalaenopsis* sp. após quatro meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento e sua associação com adubação química (AQ). Londrina/ 2020



Fonte: próprio autor.

Os resultados da última avaliação (Tabela 4) evidenciaram que as plantas tratadas com adubação química isolada ou associada a *Bacillus* sp. e *Streptomyces* sp. não se diferenciaram entre si e apresentaram médias superiores a testemunha quanto ao número de folha, massa fresca de parte aérea, largura, comprimento e área foliar (Figura 4).

Apesar de serem iguais estatisticamente a adubação com *Streptomyces* sp. promoveu 128,57% de aumento no número de folhas, enquanto que sua associação com *Bacillus* sp. aumentou 72,41% e 80,34% na largura e área foliar respectivamente com relação a testemunha.

A combinação da adubação química aos inoculantes (B+AQ e S+AQ), foi prejudicial, para as variáveis massa seca de raiz e massa fresca total, quando comparada com a adubação química isolada (AQ)

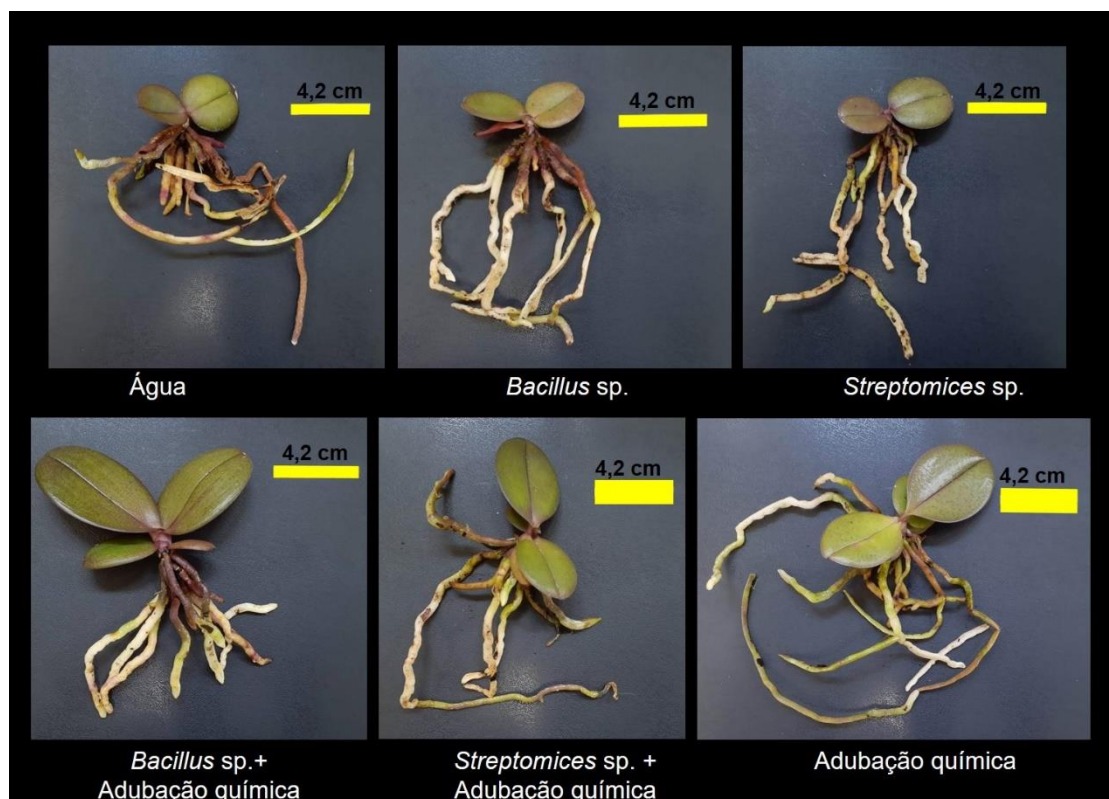
As inoculações não tiveram efeito isolado, quando comparadas com a testemunha, contudo, quando combinadas a AQ, o efeito dos inoculantes foi negativo, de forma mais evidente na última avaliação.

Tabela 4. Médias das variáveis do crescimento e respectivos índices de aumento em *Phalaenopsis* sp. após seis meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento na fase de aclimatização.

Tratamento	3º avaliação					
	T ³	B	S	B+AQ	S+AQ	AQ ⁴
	Médias					
NR ²	14,2 abc ¹	9,8 bc	9,0 c	15,8 ab	19,0 a	18,1 a
IA ⁵	0	0	0	11,26	33,8	27,46
CR	16,76 a	16,72 a	16,35 a	15,00 a	19,75 a	22,21 a
IA	0	0	0	0	17,84	32,51
MFR	5,68 b	4,74 b	5,13 b	7,79 b	8,08 ab	12,92 a
IA	0	0	0	37,14	42,25	127,46
MSR	0,53 b	0,45 b	0,32 b	0,58 b	0,51 b	1,04 a
IA	0	0	0	9,43	0	96,22
NF	2,1 b	2,8 b	2,4 b	4,2 a	4,8 a	4,0 a
IA	0	33,33	14,28	100	128,57	90,47
LF	2,32 b	2,56 b	2,36 b	4,00 a	3,61 a	3,90 a
IA	0	10,34	1,72	72,41	55,6	68,1
CF	2,94 b	3,02 b	3,04 b	5,54 a	4,96 a	5,63 a
IA	0	2,72	3,4	88,43	68,7	91,49
AF	2,60 b	2,77 b	2,66 b	4,69 a	4,26 a	4,68 a
IA	0	6,53	2,3	80,34	63,84	80
MFA	1,32 b	1,68 b	1,89 b	6,28 a	5,71 a	7,46 a
IA	0	27,27	43,18	375,75	332,57	465,15
MFT	7,00 c	6,42 c	7,02 c	14,07 b	13,79 b	20,38 a
IA	0	0	0,28	101	97	191,14

¹Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste Tukey (5%). ² NR= número de raízes; CR= comprimento de raiz (cm); MFR= massa fresca de raiz (g); MSR= Massa seca de raiz (g); NF= número de folhas; LF= Largura foliar (cm); CF= comprimento foliar (cm); AF= área foliar (cm²); MFA= massa fresca de parte aérea (g); MFT= massa fresca total (g); ³ T= Testemunha; B= *Bacillus* sp.; S = *Streptomyces* sp. estirpe 102.; B+AQ= *Bacillus* sp. aliado. ⁴ Adubação química- produto comercial Peters NPK 20-20-20, 1g/l de água uma vez por mês. ⁵ IA: Índice de aumento (%) calculado para todas as variáveis respectivamente.

Figura 3. Terceira avaliação de plantas de *Phalaenopsis* sp. após seis meses de inoculação com bactérias promotoras de crescimento e sua associação com adubação química (AQ). Londrina/ 2020



Fonte: próprio autor.

5. DISCUSSÃO

Como evidenciado neste estudo o efeito positivo da aplicação do microrganismo isolado aconteceu no início do experimento, e com o passar do tempo o seu efeito ocorreu apenas quando este estava associado a adubação química. Tal fato coloca em questão os mecanismos de colonização e sobrevivência dessas rizobactérias no ambiente rizosférico e endofítico.

Segundo Freitas, (2007) a colonização do tecido por microrganismos depende de uma colonização eficiente da rizosfera. A sobrevivência e estabelecimento de rizobactérias nessa região de contato solo/planta está sujeita as condições bióticas, como a competição com a microbiota existente e abióticas, como temperatura e tipo de solo (BENIZRI et al., 2001). De acordo com Sturz e Nowak, (2000) bactérias endofíticas tem maior facilidade em se estabelecerem, uma vez que, no ambiente endofítico não estão expostas diretamente as condições adversas do meio.

A colonização da rizosfera e do sistema radicular por microrganismos promotores de crescimento é influenciada pelo status nutricional do solo, pois a microbiota usa os exsudatos radiculares para sua nutrição e em contrapartida fornece nutrientes para o crescimento da planta (VIEIRA JÚNIOR et al., 2013; BRUNETTA, 2006).

De acordo com Andreola e Fernandes, (2007), a colonização e manutenção desses microrganismos na rizosfera e nas raízes é limitada pela disponibilidade de nutrientes. Além das diversas condições de estresse, a restrição de nutrientes faz com que apenas 15% a 30% das bactérias estejam em estado ativo, portanto o manejo adequado com a manutenção da fertilidade do solo permite a conservação da atividade microbiana.

Deve-se levar em conta também o fato de que a as rizobactérias inoculadas competem por nutrientes e espaço com a microbiota nativa, por isso costumam se deslocar para regiões onde a concentração de alimento é maior, como a rizosfera (BRANDÃO, 1989).

A disputa entre microrganismos inoculados e nativos trazem benefícios indiretos na promoção do crescimento vegetal através do controle biológico de fitopatógenos pela atividade antagonista das rizobactérias. (IKEDA et al., 2014) Estas por sua vez reduzem a quantidade de carbono e nitrogênio disponíveis

dificultando a germinação de esporos fúngicos (FILONOW; LOCKWOOD, 1983; ELAD; BAKER, 1985).

Quanto ao fator especificidade microrganismo/hospedeiro, Galdiano junior. (2009), ao avaliar o efeito da inoculação de *Bacillus* sp. na aclimatização *ex vitro* da orquídea *Cattleya walkeriana*, espécie epífita como as *Phalaenopsis* sp. utilizada neste estudo, percebeu uma taxa de sobrevivência de 80% contra 60% da testemunha. Além disso, *Bacillus* sp. já foi descrito associado a espécies de orquídeas terrestres e epífitas (TSAVKELOVA *et al.*, 2007a; ZHANG e SONG 2012).

Quanto a possibilidade de espécies da família Orchidaceae serem colonizadas por rizobactérias do gênero *Streptomyces* sp., Chen *et al.*, (2011) ao isolar microrganismos a partir de 10 espécies de *Dendrobium* sp. identificou este gênero a partir da espécie *Dendrobium candidum* Wall.ex Lindl.

Em suma, Hallmann & Kloepper (1997) indicam que pode não haver especificidade entre bactéria e hospedeiro permitindo que estas sejam inoculadas em diversas espécies vegetais. Santos *et al.*, (2005) ao testar isolados de feijão em *Heliconia psittacorum* observaram o incremento da massa seca de parte aérea e área foliar dessas plantas.

Após abordar os fatores relacionados com a colonização e o comportamento dos microrganismos na rizosfera e no sistema radicular é importante ressaltar como esses microrganismos podem promover o crescimento das mudas de *Phalaenopsis* sp. aclimatizadas.

Na primeira avaliação, conforme observado, o *Bacillus* sp. isoladamente apresentou comprimento radicular com incremento de 10,67% em relação a testemunha. Isso é possível devido a capacidade de cerca de 80% das rizobactérias presentes na rizosfera sintetizarem fito hormônios como as auxinas. O resultado da presença da auxina na promoção do crescimento vegetal é o alongamento das raízes (PATTEM; GLICK,2002)

Faria *et al.*, (2013) testaram o efeito de 8 cepas da bactéria endofítica *Paenibacillus* sp. durante a fase de aclimatização da orquídea *Cattleya loddigesii* e observaram que quatro cepas promoveram o aumento da matéria seca de raiz enquanto que 7 delas aumentaram o comprimento radicular. Os autores creditam tal fato a capacidade dessas cepas bacterianas produzirem ácido indol-3 acético (AIA).

De acordo com Araújo e Marchesi, (2009) a produção de fito reguladores gera também efeito na parte aérea das plantas. Os autores observaram o aumento da biomassa de parte aérea de tomateiro após serem tratados com *Bacillus subtilis*. Além disso, o incremento no crescimento vegetal pode ser atribuído a capacidade das rizobactérias fixarem nitrogênio, solubilizarem fosfato e diversos minerais do solo (Mariano & Kloepper 2000).

6. CONCLUSÃO

A utilização do microrganismo isolado não promoveu nenhum ganho significativo com relação as variáveis analisadas ao longo do experimento.

Após seis meses de experimento a adubação química promoveu os melhores resultados na promoção do crescimento das mudas de *Phalaenopsis* sp. durante a fase de aclimatização.

REFERÊNCIAS

- ARDITTI, J. **Fundamentals of orchid biology**. John Wiley & Sons, 1992.
- ANDREOLA, F.; FERNANDES, S. A. P. A microbiota do solo na agricultura orgânica e no manejo das culturas. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**, p. 21, 2007.
- ARAÚJO, F. F.; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1558-1561, 2009.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS CENTRAIS DE ABASTECIMENTO- ABRACEM. **Orquídeas**, paixão à primeira vista! Disponível em: <https://abracen.org.br/noticias/orquideas-paixao-a-primeira-vista/>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- BENIZRI, E.; BAUDOUIN, E.; GUKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, v. 11, n. 5, p. 557-574, 2001.
- BENZING, D. H. Vascular epiphytism: taxonomic participation and adaptive diversity. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, p. 183-204, 1987.
- BRAGA, P. I. S. Anatomia ecológica foliar de espécies com metabolismo CAM de uma campina da Amazônia central. **Aspectos ecofisiológicos de Orchidaceae da Amazônia II**. Acta Amazônica. [s.l.], 1977.
- BRANDAO, E. M. **Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas de milho**. 1989. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- BRUNETTA, J. M. F. C. **Isolamento e seleção de rizobactérias para a produção de mudas de Pinus spp.** 2006.
- CARDOSO, I. C. M.; KLAUBERG FILHO, O.; MARIOTTO, J. R.; MIGUELUTTI, D. J.; VICENTE, D.; Neves, A. N. Ocorrência de bactérias endofíticas do gênero *Azospirillum* em arroz irrigado no estado de Santa Catarina. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 9(2), 178-186, 2010.
- CARDOSO, J. C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Ácido giberélico na indução e qualidade do florescimento de orquídea *Phalaenopsis* 'White Dream'. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, p. 135-140, 2012.
- CASTIGLIONI, P.; WARNER, D.; BENSEN, R. J.; ANSTROM, D. C.; HARRISON, J.; STOECKER, M.; ABAD, M.; KUMAR, G.; SALVADOR,

S.; D'ORDINE, R.; NAVARRO, S.; BACK, S.; FERNANDES, M.; TARGOLLI, J.; DASGUPTA, S.; BONIN, C.; LUETHY, M. H.; HEARD, J. Bacterial RNA chaperones confer abiotic stress tolerance in plants and improved grain yield in maize under water-limited conditions. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 147, n. 2, p. 446-455, 2008.

CHEN, C.; LIN, R. CO₂ uptake patterns in *Phalaenopsis amabilis*. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 1, p. 128-141, 2012.

CHEN, J.; Hu, K. X.; Hou, X. Q.; Guo, S. X. Endophytic fungi assemblages from 10 *Dendrobium* medicinal plants (Orchidaceae). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 27(5), 1009-1016, 2011.

CHRISTENSON, E. A. *Phalaenopsis*. **Timber Press**, Portland, OR, USA, p. 330, 2001.

CHUGH, S.; GUHA, S.; RAO, I. U. Micropropagation of orchids: a review on the potential of different explants. **Scientia Horticulturae**, v. 122, n. 4, p. 507-520, 2009.

COSTA, A. de F.S.; COSTA, A. N. da. Seleção de Plantas Matrizes de Goiaba, Produção de mudas e normas de condução de viveiros. **Tecnologias para produção de goiaba**. Vitória: Incaper, p.65-88, 2003.

DEARNALEY, J. D. W. Further advances in orchid mycorrhizal research. **Mycorrhiza**, v. 17, n. 6, p. 475-486, 2007.

DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia horticulturae**, v. 14, n. 4, p. 335-345, 1981.

DEBERGH, P. C.; READ, Paul. E. Micropropagation. In: DEBERGH, P. C., ZIMMERMANN, P. C. (ED's) **Micropropagation- Technology and application**. Kluwer: Academic Publishers, p. 1-13, 1990.

DE BRITO, A. T.; CRIBB, P. **Orquídeas da Chapada Diamantina**. Editora Nova Fronteira, 2005.

DE MELO, N. F. Introdução aos hormônios e reguladores de crescimento vegetal. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINÁRIO CODA DE NUTRIÇÃO VEGETAL, 1., 2002, Petrolina. Anais... Petrolina: CODA, 2002., 2002.

DIAS, A. C.; COSTA, F. E.; ANDREOTE, F. D.; LACAVA, P. T.; TEIXEIRA, M. A.; ASSUMPTÇÃO, L. C.; MELO, I. S. Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, n. 2, p. 189-195, 2009.

EDNGTON, L.V.; KHEW, K.L.; BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology** 61: 42-47, 1971.

ELAD, Y.; BAKER, R. Possible role of competition for iron e carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. **Phytopathology**, v. 75, p. 1053-1059, 1985.

ENTREPOSTO. Top 5: **As flores mais vendidas do Ceagesp**. Disponível em: <https://www.jornalentreposto.com.br/noticias/3584-top-5-as-flores-mais-vendidas-da-ceagesp/>. Acesso em: 20 ago. 2020.

FARIA, D. C.; DIAS, A. C. F.; MELO, I. S.; CARVALHO C., F. E. Endophytic bacteria isolated from orchid and their potential to promote plant growth. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 2, p. 217-221, 2012a.

FARIA, D. C.; DIAS, A. C. F.; MELO, I. S.; COSTA, F. E. C. Endophytic bacteria isolated from orchid and their potential to promote plant growth. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 29(2), 217-221, 2013.

FARIA, R. T.; SANTIAGO, D. C.; SARIDAKIS, D. P.; ALBINO, U. B.; ARAÚJO, R. Preservation of the Brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breeding an Applied Biotechnology**. V. 2, n.3, p. 489- 492, 2002.

FARIA, R. T.; DE ASSIS, A. M.; DE CARVALHO, J. F. R. P. **Cultivo de Orquídeas**. Londrina: Mecenass, 208p, 2010.

FARIA, R. T.; DE ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L. K.; DE CARVALHO, J. F. R. P. Polinização e obtenção de sementes. In: **FARIA, R. T. et al. Produção de Orquídeas em Laboratório**. Londrina: Mecenass, p. 50, 2012b.

FILONOW, A. B.; LOCKWOOD, J. L. Mycostasis in relation to the microbial nutrient sinks of five soils. **Soil biology and Biochemistry**, v. 15, n. 5, p. 557-565, 1983.

FREITAS, S. S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: **SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p. 1-20.

JÚNIOR, R. F. G. **Isolamento, identificação e inoculação de bactérias produtoras de auxinas associadas às raízes de orquídeas**, 2009.

GONTIJO, J. B.; ANDRADE, G. V. S.; BALDOTTO, M. A; BALDOTTO, L. E. B. Bioprospecting and selection of growth-promoting bacteria for *Cymbidium* sp. orchids. **Scientia Agrícola**, v. 75, n. 5, p. 368-374, 2018.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Apostila de biotecnologia**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2006.

HALLMANN, J.; KLOEPPER, J. W.; RODRIGUEZ-KABANA, R. Application of the Scholander pressure bomb to studies on endophytic bacteria of plants. **Canadian journal of microbiology**, v. 43, n. 5, p. 411-416, 1997.

HSU, C. C.; CHEN H. H. CHEN W. H. *Phalaenopsis*. In: Van Huylenbroeck J. (eds) **Ornamental Crops**. Handbook of Plant Breeding, vol 11. Springer, Cham, 2018.

IKEDA, A. C.; HUNGRIA, M.; KAVA- CORDEIRO, V.; GLIENKE, C.; GALLI-TERASAWA, L. V. Bactérias endofíticas e rizobactérias como promotoras de crescimento em plantas de milho. In **Embrapa Soja-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: MOSTRA ANUAL DE PESQUISA DO SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS" CIÊNCIA NO ESPELHO", 1., Curitiba, 2014. Resumos. Curitiba: UFPR, 2014.

JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. **Aspectos práticos de micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 385, 2009.

KNUDSON, L. A. A new nutrient solution for germination of orchid seed. **American Orchid Society Bulletin**, v. 15, n. 5, p. 214-217, 1946.

LAVAGNINI, C. G.; CARNE C. A. V.; CORREA, F.; HENRIQUE, F.; TOKUMO L. E.; SILVA M. H.; SANTOS P. C. F. Fisiologia vegetal-hormônio giberelina. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia, Garças**, v. 25, n. 1, p. 48-52, 2014.

LEE, C. Y.; VISWANATH, K. K.; HUANG, J. Z.; LEE, C. P.; LIN, C. P.; CHENG, T. C.; CHANG, B. C.; CHIN, S. W.; CHEN, F. C. PhalDB: A comprehensive database for molecular mining of the *Phalaenopsis* genome, transcriptome and miRNome, **Genetics and Molecular Research** 2018.

MAGALHÃES, L. **Hormônios Vegetais**. Toda Matéria, 2021. Disponível em <<https://www.todamateria.com.br/hormonios-vegetais/>>

MARIANO, R. L. R.; KLOEPPER, J. W. Método alternativo de biocontrole: resistência sistêmica induzida por rizobactérias. **Revisão anual de patologia de plantas**, v. 8, p. 121-137, 2000.

MELO, H. C.; RODRIGUES F. J.; QUEIRÓS, S. F.; PORTES T. A. A aplicação exógena foliar de ácido abscísico desencadeia mecanismos de tolerância à deficiência hídrica em seringueira. **Ciência Florestal**, v. 29, n. 1, p. 40-49, 2019.

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant-beneficial, plant pathogenic and human-pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 37, p. 634-663, 2013.

MINAMIGUCHI, J. Y.; NETO, N B. M. EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DIRETA EM FOLHAS DE PHALAENOPSIS: ORCHIDACEAE. In: **Colloquium Agrariae**. ISSN: 1809-8215. p. 07-13, 2007

MOE, I. A. Amino acids in the rhizosphere: from plants to microbes. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 100, n. 9, p. 1692-1705, 2013.

MUNEMASA, S.; HAUSER F.; PARK J.; WAADT, R.; BRANDT B.; SCHROEDER, J. Mechanisms of abscisic acid-mediated control of stomatal aperture. **Current opinion in plant biology**, v. 28, p. 154-162, 2015.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissues culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473- 497, 1962.

DE OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal. **Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E)**, 2003.

OTERO, J. T.; FLANAGAN, N. S.; HERE, E. A.; ACKERMAN, J. D.; BAYMAN, P. Widespread mycorrhizal specificity correlates to mycorrhizal function in the neotropical, epiphytic orchid *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). **American Journal of Botany**, v. 94, n. 12, p. 1944-1950, 2007.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 8, p. 3795–801, 2002.

PEREIRA, O.L.; ROLLEMBERG, C.L.; KASUYA, M.C.M. Associações micorrízicas em orquídeas: perspectivas e utilização em programas de propagação simbiótica. **Orquidário**, v.16, p.40-44, 2002.

PEREIRA, M. C.; PEREIRA, O. L.; COSTA, M. D.; ROCHA, R. B.; KASUYA, M. C. M. Diversity of mycorrhizal fungi Epulorhiza spp. isolated from *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 5, p. 1187-1197, 2009.

PEREIRA, M. C.; VALADARES, R. B. S. Diversidade e aplicação dos fungos micorrizicos de orquídeas brasileiras. **Biodiversidade em foco**, p. 69, 2012.

PETERSON, R. Larry.; UETAKE, Y.; ZELMER, C. Fungal symbioses with orchid protocorms. **Symbiosis. Philadelphia, Pa. (USA)**, 1998.

PETERSON, R. L.; MASSICOTE, H. B.; MELVILLE, L. H. Mycorrhizas: **Anatomy and Cell Biology**. NRC Research Press, p. 173, 2004.

PRIDGEON, A. M. Anatomical adaptations in Orchidaceae. **Lindleyana**, v. 1, n. 2, p. 90-101, 1986.

RASMUSSEN, H. N.; RASMUSSEN, F. N. Orchid mycorrhiza: implications of a mycophagous life style. **Oikos**, v. 118, n. 3, p. 334-345, 2009.

RITTERSHAUSEN, B.; RITTERSHAUSEN W. Growing orchids. **Southwater**, p. 256. London, 2004.

RODRIGUES, D.; ASSIS A. M.; PEIL, R. M.N.; SCHURCH M. W. Resíduos agrícolas para aclimatização de *Oncidium Baueri* Lindl. **Revista Científica Rural**, v. 20, n. 2, p. 102-112, 2018.

RODRIGUES, J. D.; FIOREZE, S. L. Reguladores são, para muitos cultivos, indispensáveis ao alcance de bons níveis. **Visão Agrícola**, v. 13, n. 1, p. 35-39, 2015.

RODRIGUES, V. T. **Orchidaceae juss. aspectos morfológicos e taxonômicos**. São Paulo, 2011

ROGALSKI, M.; MORAES, L. K. A.; FELISBINO, C.; CRESTANI, L.; GUERRA, M. P.; SILVA, A. L. Aclimatização de porta-enxertos de *Prunus* sp. micropropagados. **Revista Brasileira de fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 279-281, 2003.

ROLCIK, J.; RECINSKA, J.; STRNAD, M.; PRINSEN, ELS. Purification of 3-indolylacetic acid by solid phase extraction. **Journal of Separation Science**, v.28, p. 1370- 1374, 2005.

ROSA, F. A. F. **Síntese e avaliação da atividade reguladora de crescimento vegetal de novos compostos indólicos derivados do safrol e relacionados ao ácido indol-3-acético**. 2002. 144 f. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

ROXANA, David; BĀLA, M. Preliminary results on the influence of growth hormones on the in vitro regeneration of *Phalaenopsis* flower stalks. **Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology**, v. 16, n. 4, p. 24-27, 2012.

SANTOS, M. H. L. C.; MARIANO, R. D. L. R.; CAMARA, T. R.; ANDRADE, A. D.; WILLADINO, L.; LIMA, G. P. P. **Bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento de *Heliconia psittacorum* Lf. *Hoehnea***, 32, 1-8, 2005.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. Princípios de Análise Instrumental. **Bookman**, ed. 5, Porto Alegre, 2002.

SOLANO, B. R.; BARRIUSO, J.; GUTIERREZ-MANERO, F.J. Physiological and molecular mechanisms of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). In: AHMAD, I.; PICHTEL, J.; HAYAT, S. **Plant-Bacteria Interactions** - strategies and techniques to promote plant growth. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., p.41-54, 2008.

STANCATO, G. C. Aspectos da germinação em sementes de orquídeas. **Orquidário**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 14, p. 114- 118, 1996.

STEENHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS microbiology reviews**, v. 24, n. 4, p. 487-506, 2000.

STURZ, A.V.; NOWAK, J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 183-190, 2000.

SUN, L.; XIAOBAOB, BI.; LUBIN, LI. Primary research on the isolation method of root endophytic bacteria of *Cymbidium goeringii*. **Journal of Agricultural University of Hebei**, 2009.

SWARTS, N. D.; DIXON, K. W. Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. **Annals of botany**, v. 104, n. 3, p. 543-556, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TAKANE, R. J.; YANAGISAWA, S. S.; VENDRAME, W. A. **Cultivo moderno de orquídeas: Phalaenopsis e seus híbridos**. Fortaleza: CE. Expressão Gráfica e Editora Ltda, 200 p., 2015.

TISSERAT, B.; JONES, D. Clonal propagation of orchids. In: Hall, R. D. (ed.) **Plant cell culture protocols. Methods in molecular biology**. Totowa: Humana Press, p. 127- 143, 1999.

TSAVKELOVA, E. A.; CHERDYNTSEVA, T. A.; KLIMOVA, S. Y.; SHESTAKOV, A. I.; BOTINA, S. G.; NETRUSOV, A. I. Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. **Archives of Microbiology**, v. 188, n. 6, p. 655-664, 2007.

UNIVERSIDADE DE COIMBRA. **Fundamentos**. Disponível em: http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?option=com_content&task=view&id=103&Itemid=451. Acesso em: 23 jun. 2019.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. **A família Orchidaceae**. Disponível em: <http://sites.ffclrp.usp.br/lbmbp/index.php/p/familia>. Acesso em: 28 jun. 2019.

VANCIN, E.; WENT, F. W. Some pH changes in nutrient solutions. **Botanical Gazette**, v. 110, p. 605- 613, 1949.

VENDRAME, W. A.; MAGUIRE, I.; CARVALHO, V. S. *In vitro* propagation and plant regeneration from *Doritaenopsis* purple gem 'Ching Hua' flowers explant. **Hortscience**, v.42, n. 5, p. 1256-1258, 2007.

VENDRAMIN, E.; GASTALDO, A.; TONDELLO, A.; BALDAN, B.; VILLANI, M. C.; SQUARTINI, A. Identification of two fungal endophytes associated with the endangered orchid *Orchis militaris* L. **J. Microbiol. Biotechnol**, v. 20, n. 3, p. 630-636, 2010

VIEIRA, J. G. Z.; UNEMOTO, L. K.; YAMAKAMI, J. K.; NAGASHIMA, G. T.; FARIA, R. T.; AGUIAR, R. S. Propagação *in vitro* e aclimação de um híbrido de *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) utilizando polpa de banana e água de coco. **Científica**, v. 37, p. 37- 42, 2009.

VIEIRA JUNIOR, J. R.; FERNANDES, C. D. F.; ANTUNES JÚNIOR, H.; da SILVA, M. S.; da SILVA, D. S. G.; da SILVA, U. O. Rizobactérias como agentes de controle biológico e promotores de crescimento de plantas. **Embrapa Rondônia-Documentos (INFOTECA-E)**, 2013.

WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. **Fisiologia vegetal: produção e pós-colheita**. Curitiba: Editora Universitária Champagnat, p. 424, 2002.

WILSON, D. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. **Oikos**, p. 274-276, 1995.

WITHNER, C. L.; NELSON, P.K.; WWJKSNORA, P.J. The anatomy of orchids. **The orchids: scientific studies**. [s.n]. Nova York, 1974.

WURST, M.; PŘIKRYL, Z.; VOKOUN, J. High-performance liquid chromatography of plant hormones: II. Determination of plant hormones of the indole type. **Journal of Chromatography A**, v. 286, p. 237-245, 1984.

ZHANG, P.; SONG, X. Advances in diversity and promotion mechanism of endophytic bacteria associated with orchids. **Journal of Tropical and Subtropical Botany**, 20(1), 92-98, 2012.