

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DE POSSÍVEL EFEITO SINÉRGICO PELA
ASSOCIAÇÃO ENTRE
EXTRATO DE *Cyperus rotundus* e *Bacillus subtilis* SOBRE O
ENRAIZAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus
vulgaris***

**Matheus Toller Pires da Costa
Biomédico**

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO DE POSSÍVEL EFEITO SINÉRGICO PELA
ASSOCIAÇÃO ENTRE
EXTRATO DE *Cyperus rotundus* e *Bacillus subtilis* SOBRE O
ENRAIZAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus
vulgaris***

Discente: Matheus Toller Pires da Costa

Orientador: Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

C837a

Costa, Matheus Toller Pires da

Avaliação de possível efeito sinérgico pela associação entre extrato de *Cyperus rotundus* e *Bacillus subtilis* sobre o enraizamento e desenvolvimento de *Phaseolus vulgaris* / Matheus Toller Pires da Costa. -- Jaboticabal, 2025

39 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Everlon Cid Rigobelo

Coorientador: Carlos Henrique Barbosa Santos

1. Microbiologia. 2. Extratos vegetais. 3. Enraizamento. 4. *Bacillus subtilis*.
5. *Cyperus rotundus*. I. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DE POSSÍVEL EFEITO SINÉRGICO PELA ASSOCIAÇÃO ENTRE EXTRATO DE *Cyperus rotundus* e *Bacillus subtilis* SOBRE O ENRAIZAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus vulgaris*

AUTOR: MATHEUS TOLLER PIRES DA COSTA

ORIENTADOR: EVERLON CID RIGOBELLO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **EVERLON CID RIGOBELLO**
Data: 14/01/2026 14:41:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. EVERLON CID RIGOBELLO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Vegetal / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
 **FABIO CAMILOTTI**
Data: 15/01/2026 16:26:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FÁBIO CAMILOTTI (Participação Virtual)
Departamento de Tecnologia em Biocombustível / Fatec Jaboticabal - Nilo de Stéfani

Documento assinado digitalmente
 **TATIANE CARLA SILVA**
Data: 21/01/2026 09:17:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pós-doutoranda TATIANE CARLA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Genética / FCFRP USP Ribeirão Preto/SP

Jaboticabal, 12 de novembro de 2025.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Matheus Toller Pires da Costa, nascido em 1998, natural de Ribeirão Preto, São Paulo, nacionalidade brasileira, filho de Ana Elisa de Moraes Toller Pires da Costa e Evandro Henrique Pires da Costa. Nome em citações bibliográficas: Costa, M.T.P. Identificadores: Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5799359145177095>; ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8030-6016>.

Bacharel em Ciências Biomédicas pela Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP-FMRP, 2022), onde desenvolveu trabalho de conclusão de curso na área de neuropsicofarmacologia, com ênfase em marcadores neuronais e experiência em técnicas de imunohistoquímica. Atualmente é mestrando em Microbiologia Agropecuária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/FCAV (2023–presente), desenvolvendo pesquisa sobre a associação entre *Bacillus subtilis* e extrato de *Cyperus rotundus* no enraizamento vegetal e em atividades antioxidantes.

Participou de bancas de trabalhos de conclusão de curso e coorientou trabalho de conclusão de curso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Evandro e Ana Elisa, e à minha irmã Marina, pelo amor incondicional, apoio constante e incentivo em todas as etapas da minha trajetória acadêmica e pessoal. Amo vocês incondicionalmente.

Sou grato também aos meus grandes amigos, que sempre estiveram presentes nessa e em todas as fases da minha vida até aqui. E especial àqueles com quem tive a oportunidade de compartilhar moradia em Jaboticabal. Entre eles, deixo um agradecimento especial ao Hugo, que esteve ao meu lado em todas as etapas deste trabalho — desde a concepção da ideia, execução dos experimentos até a redação final. Mais do que um amigo, foi coautor efetivo desta pesquisa.

Ao professor Everlon, agradeço pela confiança e pela oportunidade de desenvolver este trabalho em seu laboratório, ao acolher uma ideia inicial e transformá-la em pesquisa.

Agradeço ainda ao Carlos, pelo apoio constante, pela paciência e por todos os ensinamentos transmitidos ao longo dos experimentos e protocolos, que contribuíram de forma decisiva para o amadurecimento deste trabalho.

Estendo minha gratidão a todos os colegas e participantes do Laboratório de Microbiologia do Solo, pelo convívio, pela troca de conhecimentos e pela colaboração que enriqueceram cada etapa da pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Brasil, Código de Financiamento 001, a quem expresso meu sincero agradecimento pelo incentivo à pesquisa.

SUMÁRIO

RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objetivos específicos.....	5
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	5
3.1 Estirpe Bacteriana.....	5
3.2 Cyperus rotundus.....	5
3.3 Cultura analisada.....	6
3.4 Procedimentos experimentais.....	6
3.4.1 Experimento I: Preparação do extrato.....	6
3.4.2 Experimento II: Teste de compatibilidade.....	6
3.4.3 Experimento III: Análise de germinação em Germitest.....	7
3.4.4 Experimento IV: Análise de Germinação em células.....	7
3.4.5 Experimento V: Análise de desenvolvimento de P vulgaris em vaso.....	7
3.4.6 Experimento VI: Férric Reducing Antioxidant Power (FRAP)	8
3.4.7 Experimento VII: Determinação de Nitrogênio da parte aérea e raízes de P vulgaris.....	8
3.4.8 Experimento VIII: Expectrometria de massas.....	9
3.5 Análise dos resultados.....	10
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	10
4.1 Teste de Susceptibilidade.....	10
4.2 Análise de germinação em folha e medição do comprimento das maiores raízes.....	11
4.3 Análise de germinação em células.....	12
4.3.1 Número de sementes germinadas e percentual de formação de plântulas.....	13

4.3.2	Comprimento da maior raiz.....	14
4.3.3	Massa seca da parte aérea.....	15
4.3.4	Massa seca das raízes.....	16
4.4	Análise de desenvolvimento de <i>P vulgaris</i> em vasos.....	16
4.4.1	Massa seca da parte aérea e das raízes.....	17
4.4.2	Disponibilidade de nitrogênio da parte aérea e das raízes.....	18
4.5	Atividade antioxidante.....	18
4.6	Espectrometria de massas.....	19
4.6.1	Caracterização e Aplicabilidade dos Compostos.....	21
5	CONCLUSÃO.....	25
6	REFERENCIAS.....	26
APÊNDICES		

AVALIAÇÃO DE POSSÍVEL EFEITO SINÉRGICO PELA ASSOCIAÇÃO ENTRE EXTRATO DE *Cyperus rotundus* SOBRE O ENRAIZAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus vulgaris*

RESUMO – O extrato de *Cyperus rotundus*, popularmente conhecida como tiririca, apresenta uma composição complexa e contém alta concentração de compostos fenólicos. Essas substâncias são capazes de induzir a produção e disponibilidade hormonal endógena em vegetais, o que pode potencializar seu enraizamento e desenvolvimento. Outra estratégia amplamente utilizada para tais fins é a inoculação de probióticos em culturas agrícolas, entre eles, destaca-se a bactéria *Bacillus subtilis*. Diversos estudos descrevem ações positivas no crescimento das plantas devido ao aumento da disponibilidade de nutrientes, produção de fito-hormônios e enzimas, além do controle de patógenos. Dado o contexto, o presente estudo objetiva avaliar um possível efeito sinérgico no enraizamento e desenvolvimento vegetal proporcionado pela associação do extrato de *C. rotundus* e *B. subtilis*. Para tanto, a bactéria foi adicionada a meios de cultura contendo diferentes concentrações do extrato: 0%, 25%, 50% e 75%. Tais amostras foram plaqueadas para realizar teste de compatibilidade por contagem bacteriana. Posteriormente, o composto associado nas diferentes concentrações descritas foi utilizado para realizar testes de germinação em papel e células de germinação, além de inoculação em vasos a fim de verificar possíveis alterações na biomassa da parte aérea e radicular. O estudo foi realizado em vasos localizados em casa de vegetação com condições ambientais controladas. Os resultados preliminares em teste de susceptibilidade indicam que o extrato de *C. rotundus* pode atrasar, mas não impedir o desenvolvimento de *B. subtilis*, com maior crescimento observado no grupo CRE 75%, sugerindo possível adaptação metabólica da bactéria. Além disso, a taxa de germinação em papel germinativo revelou influência dos tratamentos, com 96% para BS (controle) 98% para CRE 25%, 84% para CRE 50%, 88% para CRE 75%, 78% para CRE 100%. Já os tratamentos aplicados em vaso, não surtiram efeitos significativos.

Palavras-chave: *Cyperus rotundus*, extrato vegetal, enraizadores, microbiologia, *Bacillus subtilis*, associação, probiótico.

EVALUATION OF POSSIBLE SYNERGISTIC EFFECT BY THE ASSOCIATION BETWEEN *Cyperus rotundus* EXTRACT ON THE ROOTING AND DEVELOPMENT OF *Phaseolus vulgaris*

ABSTRACT - The extract of *Cyperus rotundus*, commonly known as nutgrass, has a complex composition and contains a high concentration of phenolic compounds. These substances can induce the production and availability of endogenous hormones in plants, potentially enhancing rooting and development. Another widely used strategy for these purposes is the inoculation of probiotics in agricultural crops, among which the bacterium *Bacillus subtilis* stands out. Several studies describe positive effects on plant growth due to increased nutrient availability, production of phytohormones and enzymes, and pathogen control. Given this context, the present study aims to evaluate a possible synergistic effect on rooting and plant development provided by the association of *C. rotundus* extract and *B. subtilis*. For this purpose, the bacterium was added to culture media containing different concentrations of the extract: 0%, 25%, 50%, and 75%. These samples were plated to conduct a compatibility test through bacterial counting. Subsequently, the combined compound at the described concentrations was used for germination tests on paper and germination cells, as well as inoculation in pots to assess potential changes in aerial and root biomass. The study was conducted in pots located in a greenhouse under controlled environmental conditions. Preliminary results from the susceptibility test indicate that the *C. rotundus* extract may delay but does not inhibit the development of *B. subtilis*, with greater growth observed in the CRE 75% group, suggesting possible metabolic adaptation of the bacterium. In addition, the germination rate on germination paper revealed treatment influence, with 96% for BS (control), 98% for CRE 25%, 84% for CRE 50%, 88% for CRE 75%, and 78% for CRE 100%. The treatments applied in pots did not produce significant effects.

Keywords: *Cyperus rotundus*, plant extract, rooting agents, microbiology, *Bacillus subtilis*, association, probiotic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC mL⁻¹). Os dados estão representados como a média de quatro amostras por tratamento. * Indica $P < 0,01$. 11

Figura 2. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre o comprimento da raiz mais longa de *Phaseolus vulgaris* no ensaio em papel de germinação. Os dados são apresentados como médias das repetições por tratamento. * $P < 0,01$. 12

Figura 3. Painel de imagens das plântulas formadas durante o experimento de germinação em células. 13

Figura 4. Representação gráfica do número de sementes germinadas e daquelas que progrediram para o estágio de plântula em cada tratamento. Os percentuais sobrepostos indicam a proporção de sementes germinadas que se desenvolveram com sucesso em plântulas. 14

Figura 5. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre o comprimento da raiz mais longa de *Phaseolus vulgaris* germinadas em bandejas de mudas. Os dados são apresentados como a média do número de plântulas formadas por tratamento. * Indica $P < 0,01$. 15

Figura 6. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre a massa seca da parte aérea de *Phaseolus vulgaris*. Os dados são apresentados como a média do número de plântulas formadas por tratamento. * Indica $P < 0,01$. 16

Figura 7. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre a massa radicular de *Phaseolus vulgaris*. Os dados são apresentados como a média do número de plântulas formadas por tratamento.

Figura 8. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *Cyperus rotundus* (CRE) em associação com *Bacillus subtilis* sobre a biomassa seca da parte aérea e das raízes de *Phaseolus vulgaris*. Os dados são apresentados como a média do número de amostras por tratamento. 17

Figura 9. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *Cyperus rotundus* (ET) em combinação com *Bacillus subtilis* sobre o teor de nitrogênio nas raízes e na parte aérea de *Phaseolus vulgaris*. Os dados são expressos como o peso médio de nitrogênio por amostra de tratamento. 18

Figura 10. Curva de absorbância produzida a partir de leitura em espectrofotômetro mediante a diferentes concentrações do extrato. Quantificação indireta da conversão de íons férrico Fe (III) em íons ferroso Fe (II). 19

Figura 11. Capacidade Antioxidante Total (TAC) do extrato de *C. rotundus* em diferentes concentrações, determinada pelo ensaio FRAP. 19

Figura 12. Identificação de compostos no extrato etanólico de *Cyperus rotundus* por análise de ESI MS/MS. 20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS – 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ensaio antioxidante)

AIB – Ácido Indolbutírico

ANOVA – Análise de Variância

APX – Ascorbato Peroxidase

AUC - Area Under the Curve (Área sob a curva)

BOD – Demanda Bioquímica de Oxigênio (Biochemical Oxygen Demand)

BS – *Bacillus subtilis*

CAT – Catalase

CCT/FAT - Centro de Ciências e Tecnologias/Faculdade de Tecnologia e Ciências Agrárias

Conab - Companhia Nacional de Abastecimento

CRE – *Cyperus rotundus* Extract (Extrato de *Cyperus rotundus*)

DPPH - 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (ensaio antioxidante)

ESI-MS – Electrospray Ionization Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas por Ionização por Eletrospray)

ET – Extrato etanólico

FCAV – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP, Jaboticabal)

FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power (Poder Antioxidante de Redução do Ferro)

GRAS - Generally Recognized As Safe (Geralmente Reconhecido como Seguro)

HHS - U.S. Department of Health and Human Services (Departamento de Saúde e

Serviços Humanos dos Estados Unidos)

HMDB - Human Metabolome DataBase

HPLC-ESI – High Performance Liquid Chromatography – Electrospray Ionization
(Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Ionização por Eletrospray)

IAA – Ácido Indolacético (Indole-3-acetic acid)

MS – Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas)

POD – Peroxidase

SOD – Superóxido Dismutase

TAA – Tryptophan Aminotransferase of Arabidopsis (Aminotransferase de Triptofano)

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UNESP – Universidade Estadual Paulista

YUC – Família de genes YUCCA (Monooxigenases ligadas à biossíntese de auxinas)

1. INTRODUÇÃO

A estimativa de produção para a safra brasileira, segundo o relatório divulgado em outubro de 2024 pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), é de 326,9 milhões de toneladas na safra 2024/25. Nesse segmento, vale ressaltar a importância da agricultura familiar, responsável por grande parte do abastecimento interno, embora o acesso desse grupo às tecnologias de produção seja consideravelmente inferior, o que elucida a necessidade de novas biotecnologias acessíveis a esta classe de produtores rurais.

Os setores citados justificam a necessidade crescente do desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e economicamente viáveis de produção, focadas, principalmente, na substituição de produtos sintéticos pelos naturais, visando reduzir danos ao meio ambiente e baratear o processo produtivo. Nesse sentido, destacam-se as diversas formas de potencialização de cultivo, como a aplicação de defensivos agrícolas, adubos, probióticos e enraizadores. Alguns dos produtos de maior interesse comercial e biotecnológico são os reguladores de crescimento vegetal, mais prevalentes na produção de cereais, oleaginosas, frutas e vegetais (MORDOR INTELLIGENCE, 2023).

O ácido indol-3-butírico (AIB) se destaca como a auxina mais utilizada para potencialização do enraizamento vegetal, por apresentar ação localizada, persistente e pouco suscetível a intervenções biológicas (MIRANDA et al., 2004). Entretanto, uma rápida pesquisa sobre a composição da grande maioria dos enraizadores disponíveis no mercado revela baixa prevalência de AIB, predominando extratos de algas, polissacarídeos e nutrientes. Apesar de contribuírem para o condicionamento do solo, esses compostos apresentam ação indireta sobre o enraizamento, o que justifica a busca por alternativas que aumentem a disponibilidade de auxinas endógenas a custos acessíveis.

Nesse contexto, *Cyperus rotundus* (tiririca) surge como uma alternativa promissora. Planta herbácea da família Cyperaceae, apresenta ampla adaptabilidade e é considerada de grande relevância agrônômica (REZENDE et al., 2013). Estudos relatam que o extrato de tiririca contém polifenóis capazes de modular a atividade da

IAA-oxidase/peroxidase, aumentando a disponibilidade de auxinas endógenas (RODRIGUES et al., 2002), além de reservas naturais de AIB em seus bulbos (LORENZI, 2000). Pesquisas indicam efeitos positivos sobre o enraizamento e desenvolvimento de diferentes culturas, como jabuticabeira, roseira e amoreira-preta (SILVA et al., 2024; NOVISKI et al., 2018; GASTL FILHO, 2019), embora existam resultados contraditórios em outras espécies, como maracujazeiro e limão-thaíti (PEREIRA et al., 2012; RODRIGUES et al., 2020).

Bacillus subtilis, por sua vez, é uma bactéria gram-positiva amplamente estudada e aplicada em trabalhos de biorremediação, controle biológico e desenvolvimento agrícola. Sua importância biotecnológica decorre da capacidade de produzir enzimas, antibióticos e fito-hormônios, além de melhorar a disponibilidade de nutrientes para as plantas. Trata-se de uma espécie considerada segura (GRAS) e de fácil manipulação laboratorial (ALVES et al., 2018).

Diante disso, surge a hipótese de que a associação entre o extrato de *C. rotundus* e *B. subtilis* pode representar uma estratégia sinérgica para estimular o enraizamento e o desenvolvimento vegetal. O extrato, por conter compostos fenólicos e reservas de auxinas, poderia atuar como coadjuvante no processo hormonal, enquanto a bactéria contribuiria com efeito probiótico e promoção do crescimento. Contudo, substâncias presentes no extrato também apresentam atividade bactericida (HU et al., 2017), o que justifica a necessidade de investigar previamente a compatibilidade entre ambos.

Assim, este trabalho busca contribuir para o desenvolvimento de tecnologias agrícolas sustentáveis e financeiramente viáveis, avaliando a interação entre extrato de *C. rotundus* e *B. subtilis* como potencial alternativa para aumentar a produtividade agrícola.

O presente estudo teve como objetivo principal investigar a hipótese de que a administração de extrato de *C. rotundus* associado a *B. subtilis* é capaz de estimular o enraizamento e desenvolvimento vegetal devido ao estímulo da produção de auxinas endógenas.

Objetivos específicos

- a) Verificar a susceptibilidade de *B. subtilis* na presença de diferentes concentrações de extrato de *C. rotundus*.
- b) Avaliar o impacto do extrato associado à bactéria no processo de germinação de *Phaseolus vulgaris* (Feijão).
- c) Analisar possível efeito dos tratamentos na biomassa aérea e radicular da cultura do feijão.
- d) Quantificar potencial antioxidante do extrato-alvo.
- e) Dosar a disponibilidade de nitrogênio das amostras de Feijão.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O ácido indol-3-butírico (AIB) é um fito-hormônio que se destaca como a auxina mais utilizada para potencialização do enraizamento vegetal, por ter ação localizada, persistente e não sofrer intervenções biológicas (MIRANDA et al., 2004). Sua ação se difere dos outros hormônios vegetais por agir sobre uma porcentagem maior de estacas enraizadas e garantir maior quantidade e homogeneidade das novas raízes (MIRANDA et al., 2004).

Apesar de sua eficácia, uma rápida pesquisa sobre a composição da grande maioria dos enraizadores disponíveis no mercado revela uma baixa prevalência do AIB, sendo mais frequentes em suas formulações os extratos de algas, polissacarídeos e outros micro e macronutrientes. Embora esses componentes apresentem efeitos benéficos notoriamente descritos, sua atuação é mais eficiente no condicionamento do solo do que no enraizamento em si, que ocorre de forma indireta. Nesse cenário, a presença de enraizadores com AIB é limitada, e seus valores dificultam o acesso de pequenos produtores e do mercado popular. Assim, estratégias como a extração de auxinas naturais ou a administração de compostos capazes de aumentar a disponibilidade de auxinas endógenas surgem como alternativas para tornar a produção de enraizadores mais acessível.

Dentro desse contexto, o gênero *Cyperus* L. se destaca. Composto por mais de 900 espécies, é o segundo mais relevante da família Cyperaceae e está presente majoritariamente em regiões tropicais. Nas Américas, suas áreas de domínio se estendem do sul da América do Norte até a região centro-leste do Brasil, desempenhando papel ecológico significativo em áreas úmidas. Diversas espécies são de importância agrônômica, especialmente como plantas invasoras de cultivo, entre as quais se destacam *C. esculentus*, *C. odoratus* e *C. rotundus* (MATZENAUER; PEREIRA-SILVA; HEFLER, 2024).

A espécie *C. rotundus*, popularmente conhecida como tiririca, tem chamado atenção pelo potencial biotecnológico de seus extratos. Estudos apontam para a alta concentração de polifenóis em sua composição (ABO-ALTEMEN et al., 2019), compostos capazes de modular negativamente a atividade do sistema IAA-oxidase/peroxidase. Quando este sistema é inibido, há aumento da disponibilidade de auxinas endógenas (RODRIGUES et al., 2002), sugerindo que o extrato de tiririca poderia atuar em sinergia com os hormônios vegetais (REZENDE et al., 2013; RODRIGUES, 2010). Lima et al. (2010) também demonstraram maiores índices de enraizamento de cana-de-açúcar *in vitro* quando cofatores fenólicos foram aplicados em associação com auxinas.

Além disso, os bulbos da tiririca apresentam compostos vegetais fundamentais para o seu desenvolvimento, entre eles o próprio ácido indol-3-butírico (AIB). Essas estruturas também funcionam como reservatórios de água, nutrientes e metabólitos essenciais que conferem à planta resistência a períodos de escassez hídrica (LORENZI, 2000). O uso tradicional do extrato em culturas reforça essa percepção, e diferentes pesquisas têm registrado benefícios de sua aplicação. Silva et al. (2024) observaram resultados positivos na formação de calos, brotos e folhas em estacas de jabuticabeira; Noviski et al. (2018) relataram aumento do número de brotamentos e folhas em roseiras; e Gastl Filho (2019) descreveu incremento na densidade radicular em estacas de amoreira-preta.

Por outro lado, estudos também indicam que os efeitos não são universais. Em estacas de maracujazeiro (PEREIRA et al., 2012), limão-thaiti (RODRIGUES et al., 2020) e cana-de-açúcar (CRUZ SILVA, 2011) não foram observados benefícios

significativos. Tais resultados divergentes sugerem que variáveis como a metodologia de extração, a concentração e o volume aplicados, além das características próprias das espécies vegetais analisadas, podem ser determinantes para o sucesso do enraizamento.

Enquanto isso, o uso de micro-organismos com efeito probiótico também tem avançado como estratégia para aumentar a produtividade agrícola. Entre eles, *Bacillus subtilis* se destaca. Trata-se de uma bactéria gram-positiva, capaz de produzir enzimas e metabólitos de interesse agrícola, amplamente estudada por seu potencial de aplicação em biorremediação, controle biológico e promoção do crescimento vegetal. Sua importância decorre ainda da segurança reconhecida, já que é classificada como Generally Regarded As Safe (GRAS), e da facilidade de cultivo e manipulação laboratorial (ALVES et al., 2018).

Uma das características centrais da espécie é a formação de esporos, células em estado de latência com baixíssimo conteúdo de água em seu núcleo (SWARGE et al., 2020). Essa adaptação confere alta resistência a condições adversas, como temperaturas extremas, seca e radiação UV, o que favorece sua conservação, armazenamento e transporte (ALVES et al., 2018). Além disso, após a inoculação, *B. subtilis* apresenta rápido crescimento, alta taxa de proliferação de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) e secreção de enzimas no meio extracelular (DANILOVA, 2020).

Na agricultura, sua associação ao cultivo do milho já demonstrou efeitos positivos, tanto no crescimento das plantas, pela produção de antibióticos, fitohormônios e enzimas, quanto no controle de fitopatógenos (BUCHELT et al., 2019). Outros trabalhos apontam que a inoculação da bactéria pode reduzir a necessidade de adubação química e aumentar a produtividade (MACHADO et al., 2020). Além disso, resultados relevantes foram obtidos com a coinoculação de *B. subtilis* e bactérias do gênero *Rhizobium*, favorecendo a nodulação e a fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi (ARAÚJO et al., 2010), feijão-comum (ELKOCA et al., 2010) e soja (ARAÚJO & HUNGRIA, 1999).

Assim, a literatura evidencia que tanto o extrato de *C. rotundus* quanto *B.*

subtilis possuem efeitos relevantes e já comprovados em diferentes contextos de cultivo. Entretanto, ainda não há consenso sobre o impacto direto do extrato no enraizamento, devido à diversidade de resultados relatados, e também não existem investigações suficientes acerca da associação entre os dois elementos. Desse modo, compreender como essas duas ferramentas biotecnológicas podem atuar em conjunto representa uma oportunidade de inovação, especialmente para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e financeiramente viáveis no setor agrícola.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estirpe Bacteriana

O presente estudo utilizou *Bacillus subtilis* subsp. *Spizizenii*, código ATCC 6633/89, isolado bacteriano originário do CCT/FAT. O microrganismo em questão pertence à coleção de bactérias do Laboratório de Microbiologia Agrícola, localizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), campus de Jaboticabal.

3.2 *Cyperus rotundus*

Os tubérculos de *C. rotundus* foram extraídos no campus da FCAV/Unesp - Jaboticabal, onde a planta cresce de forma espontânea. A cidade é localizada nas coordenadas 21°15'22" S e 48°15'58" O, altitude de 613, o clima da região é subtropical úmido e apresenta pluviosidade anual média de 1.356 mm. A classificação do solo da região foi descrita, segundo critérios da Embrapa (2013), como Latossolo Vermelho eutroférico argiloso.

3.3 Cultura analisada

A avaliação de desenvolvimento vegetal foi realizada com Feijão IAC 1850 (*Phaseolus vulgaris* L.).

3.4 Procedimentos experimentais

3.4.1 Experimento I: Preparação do extrato

Inicialmente, os tubérculos de *C. rotundus* foram coletados em áreas do campus da Unesp-FCAV e transportados para o Laboratório de Microbiologia Agrícola do Departamento de Produção Vegetal da Universidade Estadual Paulista. As amostras passaram por assepsia pela aplicação de álcool 70%, hipoclorito de sódio e lavadas com água deionizada. Foram pesados 100 g de tubérculos, posteriormente adicionados ao volume de 1 L de água destilada, concentração utilizada na metodologia de (REZENDE et al., 2013). A mistura foi triturada em liquidificador e filtrada a vácuo utilizando membrana PES de 0,22 micrômetros, a fim de esterilizar a amostra e produzir extrato considerado, de forma arbitrária, na concentração de 100% a ser utilizado nos experimentos subsequentes.

3.4.2 Experimento II: Teste de Compatibilidade

Nessa etapa, foi analisada a sobrevivência e proliferação das bactérias *B. subtilis* na presença de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus*. Para tanto, foi preparado meio de cultura composto por extrato de carne (1,5 g/L) extrato de levedura (1,5 g/L), peptona bacteriológica (5,0 g/L), NaCl (5,0 g/L) e Ágar (15,0 g/L). A fim de obter as concentrações desejadas de extrato, foram formuladas quatro soluções de 100mL com cinco repetições por grupo, sendo: 100mL de meio (controle), 75 mL de meio + 25 mL de extrato (CRE 25%), 50 mL de meio + 50 mL de extrato (CRE 50%) e 25 mL de meio + 75mL de extrato (CRE 75%). Após o período de 24h de incubação em BOD (27 °C), realizou-se diluição seriada em solução salina para obtenção das concentrações 10^{-5} e 10^{-6} , concentrações em que foi realizada a contagem de UFCs. 100µL das soluções resultantes foi inoculado em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, totalizando 20 placas. Nessa etapa, o período de incubação em BOD foi de 72h, e a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFCs) ocorreu após o período de 24h e 72h. A contagem das placas foi submetida ao One Way ANOVA (Teste de Tukey), a fim de determinar a relevância estatística dos resultados.

3.4.3 Experimento III: Análise de germinação em Germitest

As sementes de Feijão foram distribuídas de forma uniforme entre dois papéis germinativos de dimensões 30x30 cm, totalizando 50 sementes por folha. O complexo foi umedecido com água destilada e recebeu 10 mL dos seguintes tratamentos: extrato de *C. rotundus* (CRE) 25% + *B. subtilis* (BS), CRE 50% + (BS), CRE 75% + (BS), BS isolada em meio de cultura, além de um grupo controle (não inoculado). Após a inoculação, os papéis foram dobrados em forma cilíndrica, colocados em saco plástico esterilizado e incubados em BOD (27 °C). A análise de germinação foi realizada após 4 e 9 dias de incubação, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) do Ministério da Agricultura. Foi determinado o percentual de sementes germinadas por grupo, além da qualidade estrutural e biomassa das plântulas.

3.4.4 Experimento IV: Análise de germinação em células

Em uma bandeja sementeira contendo 64 células de 50 ml, foi adicionado como substrato a vermiculita. Sementes de feijão foram tratadas com o fungicida Standak® e plantadas, uma semente por célula. Foram aplicados os mesmos tratamentos administrados na germinação em papel, com o volume de 1ml por célula durante o plantio. Os parâmetros analisados foram o percentual de sementes germinadas e de plântulas estabelecidas, além da biomassa radicular. Os resultados foram submetidos ao mesmo método estatístico descrito anteriormente.

3.4.5 Experimento V: Análise de desenvolvimento de *P. vulgaris* em vaso

O cultivo de *Phaseolus vulgaris* foi realizado em 40 vasos plásticos de 5 L, organizados em cinco tratamentos e oito repetições, mantidos em casa de vegetação sob condições ambientais controladas. Em cada vaso, inicialmente, foram plantadas 5 sementes, com objetivo de garantir 2 plantas por vaso, a quantidade excedente foi retirada antes da fase de inoculação. Os tratamentos consistiram em: (1) *Bacillus subtilis* isolado (BS), (2) extrato de *Cyperus rotundus* (CRE) a 25% + BS, (3) CRE a 50% + BS, (4) CRE a 75% + BS, e (5) CRE a 75% não filtrado (ETNF), totalizando 40

parcelas. Durante o plantio, aplicou-se 1 mL de tratamento por semente. Posteriormente, no estágio V3, 10 mL do respectivo tratamento foram aplicados diretamente ao solo de cada vaso. As análises ocorreram após 45 dias do plantio. Para isso, as plantas foram retiradas dos vasos, lavadas com água e separadas em parte aérea e radicular. Depois dessa etapa, as amostras foram colocadas em sacos de papel e secas em estufa em temperatura constante de 65°C por 72h (SILVA et al., 2023). Os parâmetros analisados em todas as culturas foram: biomassa seca e concentração de nitrogênio da parte aérea e da raiz.

3.4.6 Experimento VI: Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

O ensaio FRAP foi realizado segundo a metodologia descrita por Pulido e et al. (2000). A redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe^{3+} na presença de diferentes concentrações de extrato - obtidas por diluição -, foi quantificada por análise espectrofotométrica a 593 nm. As concentrações obtidas foram calculadas com auxílio de curva padrão de sulfato ferroso conforme a absorbância das soluções analisadas a 593 nm após incubação durante 30 minutos a 37°C (HU et al., 2017).

3.4.7 Experimento VII: Determinação de nitrogênio da parte aérea e raízes de *P. vulgaris*

A determinação de nitrogênio foi realizada via técnica de Kjeldahl, conforme descrito por Miyazawa et al. (2009), que envolve a digestão da amostra em ácido sulfúrico (H_2SO_4), seguida da liberação do amônio (NH_4^+) pela adição de hidróxido de sódio (NaOH) e finalizada com a titulação da amônia com ácido clorídrico (HCl). Para o ensaio, a amostra digerida com H_2SO_4 foi transferida ao destilador de Kjeldahl, coletada com uma solução de 2% de ácido bórico (H_3BO_3) com mistura de indicadores vermelho de metila e verde de bromocressol, seguida pela adição de NaOH a 40%. A titulação foi elaborada com HCl 0,01 mol L⁻¹ até atingir o ponto de viragem da cor verde para o vinho. Para obtenção dos valores de nitrogênio, foi utilizada a seguinte equação:

$$N - NH_4 \text{ g Kg}^{-1} = (Vb - Va) \times 1,4$$

Onde:

3.4.4.1 Va: Volume de HCl consumido na amostra (em mL).

3.4.4.2 Vb: Volume de HCl consumido no branco (em mL).

3.4.8 Experimento VIII: Espectrometria de Massas

As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial, utilizando ionização por eletrospray (HPLC-ESI-MS/MS). As amostras foram solubilizadas em etanol na concentração de 5 mg mL⁻¹, filtradas em membranas de nylon de 0,22 µm e injetadas em um cromatógrafo líquido (Agilent Infinity 1260), acoplado a um espectrômetro de massas quadrupolo tempo de voo (Q-TOF) de alta resolução (Agilent 6520 B) equipado com fonte de ionização por eletrospray (ESI).

A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna Agilent InfinityLab Poroshell HPH-C18 (2,1 × 50 mm, 2,7 µm) a 30 °C. A fase móvel foi composta por (A) água acidificada com 0,1% (v/v) de ácido fórmico e (B) metanol. O gradiente de eluição foi estabelecido da seguinte forma: 10% B no tempo 0 min, aumento para 98% B entre 0–15 min, e 100% B de 15–17 min, com vazão de 400 µL min⁻¹.

Os parâmetros de ionização foram: pressão do nebulizador de 58 psi, fluxo de gás de secagem de 8 L min⁻¹ a 220 °C e voltagem capilar de 4,5 kV. As análises de espectrometria de massas sequencial (MS/MS) foram conduzidas com energias de colisão de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 eV.

Os dados foram processados no software MassHunter®, que propôs fórmulas moleculares com base nos valores de m/z de alta resolução. A anotação dos compostos foi realizada considerando valores de m/z com erro inferior a 10 ppm, análise de fragmentação e comparação com a literatura científica. Além disso, a identificação foi complementada por consultas a bancos de dados públicos como PubChem, HMDB e Metabolomics WorkBench.

3.5 Análise dos resultados

Para verificar a significância estatística dos dados obtidos em todos os experimentos, foi realizada análise de variância por meio da comparação de médias por One Way ANOVA (Teste Tukey). Os métodos estatísticos e a confecção dos gráficos foram efetuados por meio do Software GraphPad Prism® versão 10.1.2.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teste de Susceptibilidade:

A análise dos dados obtidos por meio da contagem de UFCs em placa permitiu identificar o tratamento BS (controle), como meio ideal para o crescimento de *B. subtilis*, como o que apresentou maiores valores de média entre os 8 plaqueamentos (Figura 1). Os resultados das comparações múltiplas indicaram relevância estatística de BS com CRE 25% e CRE 50% ($P < 0,0001$) e ET 75% ($P = 0,0007$). Destaca-se entre os resultados a significância do melhor desempenho de CRE 75% em relação a CRE 50% ($P = 0,0007$), indicando que concentrações altas de extrato ainda permitem o desenvolvimento bacteriano, o que pode validar a sua utilização em associação, visto que as análises ocorreram em 24h e que a bactéria pode atingir altos volumes populacionais em curtos intervalos de tempo. Aparentemente o extrato pode atrasar, mas não impedir o desenvolvimento de *B. subtilis*, provavelmente devido às diferentes disponibilidades nutricionais dos meios de cultura. Um maior crescimento no grupo CRE 75% pode estar associado a uma adaptação metabólica da bactéria, embora não seja possível inferir maiores detalhes.

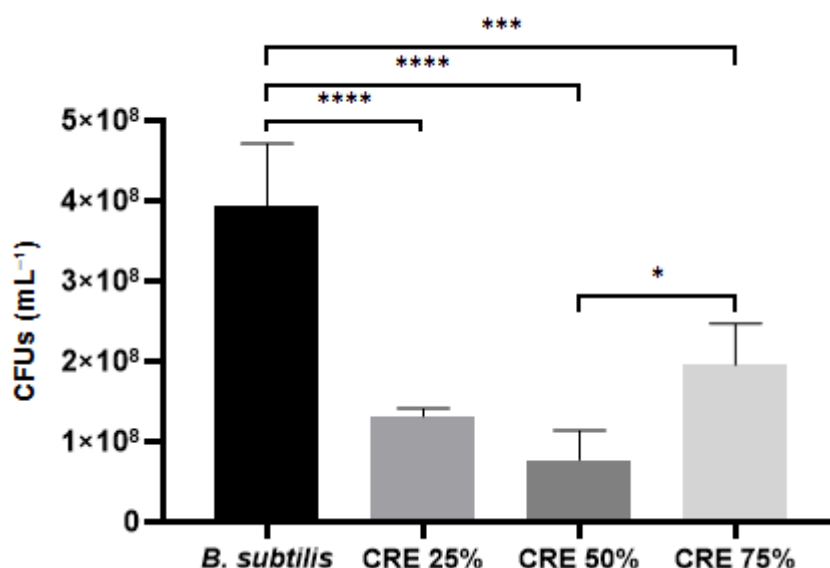


Figura 1. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC mL⁻¹). Os dados estão representados como a média de quatro amostras por tratamento. * Indica $P < 0,01$.

4.2 Análise de germinação em folha e medição do comprimento das maiores raízes

A taxa de germinação foi fortemente influenciada pela administração dos diferentes tratamentos: 96% para o grupo BS (controle), 98% para CRE 25%, 84% para CRE 50%, 88% para CRE 75% e 78% para CRE 100%. A relativa baixa taxa de germinação e variabilidade dos dados pode ser explicada por diferentes condições de distribuição de sementes e grau de compressão das folhas de germinação. Esses fatores motivaram o experimento de germinação subsequente, em sementeira, a fim de possibilitar maior conformidade e validade dos dados.

A medição do comprimento das maiores raízes permitiu inferir que o tratamento CRE 75% foi o que apresentou o maior potencial de indução de enraizamento, de forma significativa em relação ao grupo controle ($P = 0,0025$). Curiosamente, a mesma concentração que indicou recuperação dos níveis de UFCs no teste de susceptibilidade, em comparação com os tratamentos CRE 25 e 50%. Talvez essa proporção de extrato seja adequada para limitar a níveis adequados a população de *B. subtilis* durante os processos de germinação e enraizamento, se perder um potencial enraizador do extrato. Vale ressaltar que, visualmente, o grupo controle foi

o que apresentou os menores valores médios de comprimento radicular em comparação aos grupos que apresentavam extrato, embora não seja possível fazer maiores afirmações devido à ausência de resultados estatísticos positivos. Os dados estão representados na figura 2.

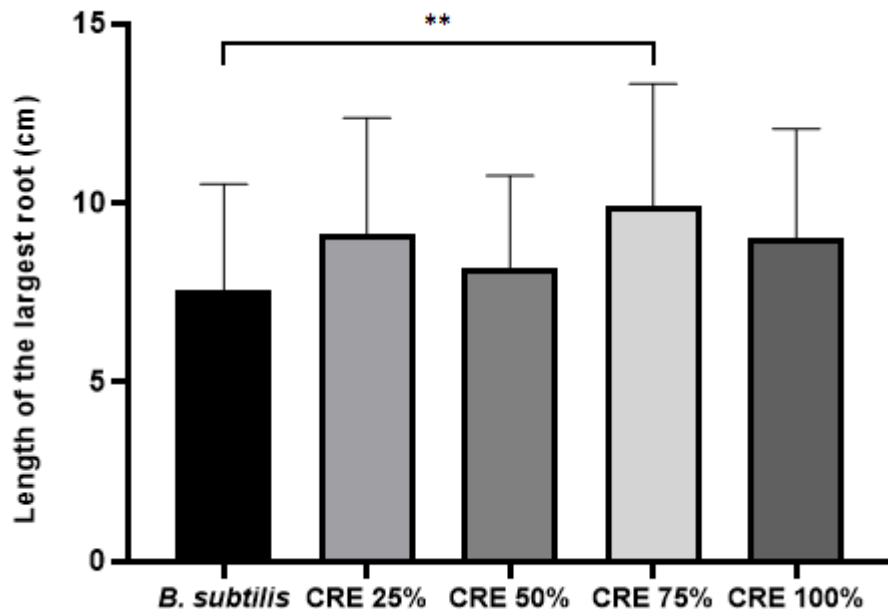


Figura 2. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre o comprimento da raiz mais longa de *Phaseolus vulgaris* no ensaio em papel de germinação. Os dados são apresentados como médias das repetições por tratamento. * $P < 0,01$.

4.3 Análise de germinação em células

Após a desmontagem do experimento e lavagem das amostras, foram registradas imagens em escala a fim de possibilitar comparação visual entre as plântulas formadas por grupo. O resultado está representado na figura 3.

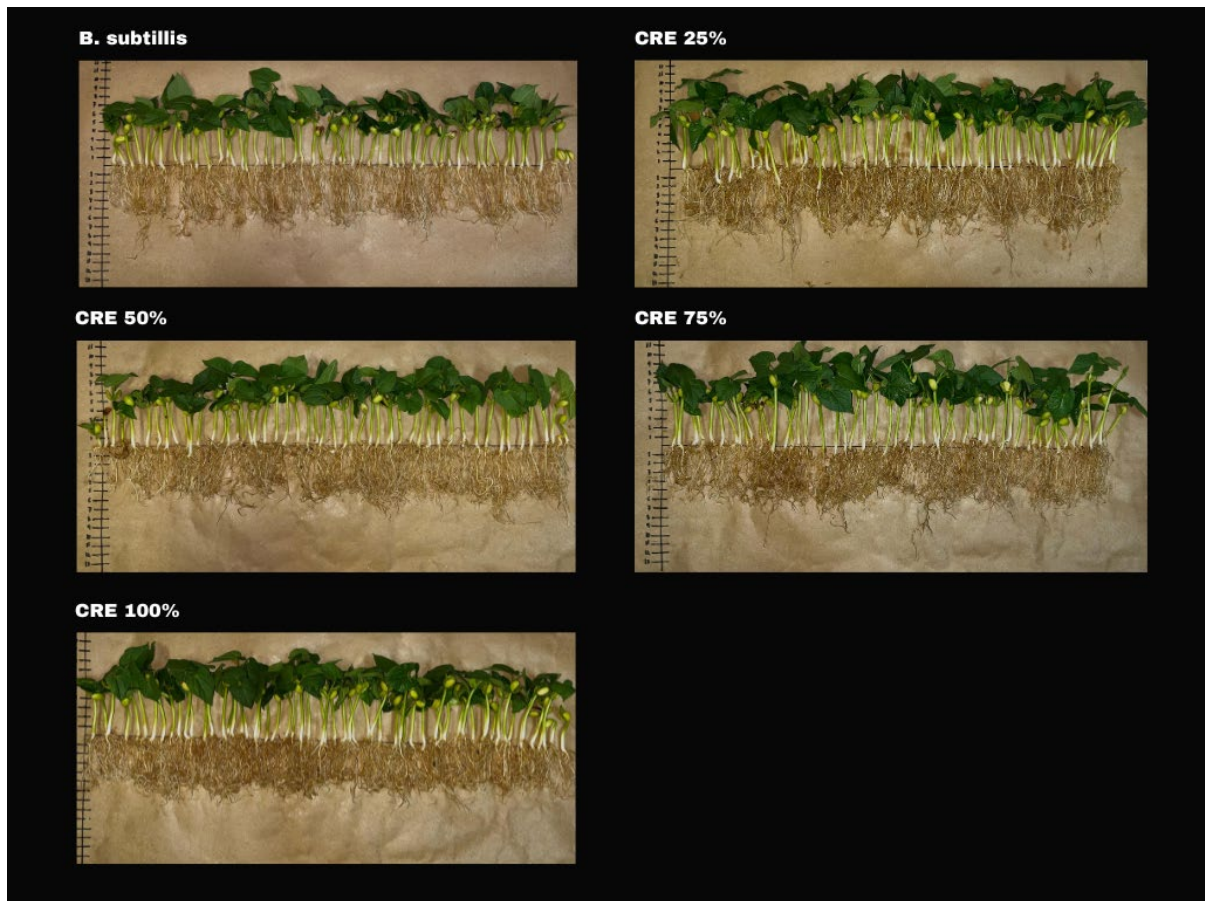


Figura 3. Painel de imagens das plântulas formadas durante o experimento de germinação em células.

4.3.1 Número de sementes germinadas e percentual de formação de plântulas

As análises de germinação foram adotadas a fim de verificar resultados descritos por Ferreira e et al. (2014), que indicaram possível efeito de atraso na germinação de feijão mediante aplicação do extrato de *C. rotundus*. Todavia, a análise de germinação em células revelou resultados similares para o estabelecimento das sementes independente da concentração de extrato aplicada, em relação ao grupo controle (*B. subtilis*). É destacado o grupo em que foi administrado apenas extrato na concentração 100% como o que apresentou maiores valores de germinação e formação de plântulas, 60 e 58, respectivamente. As taxas de germinação e formação de plântulas estão apresentadas na figura 4.

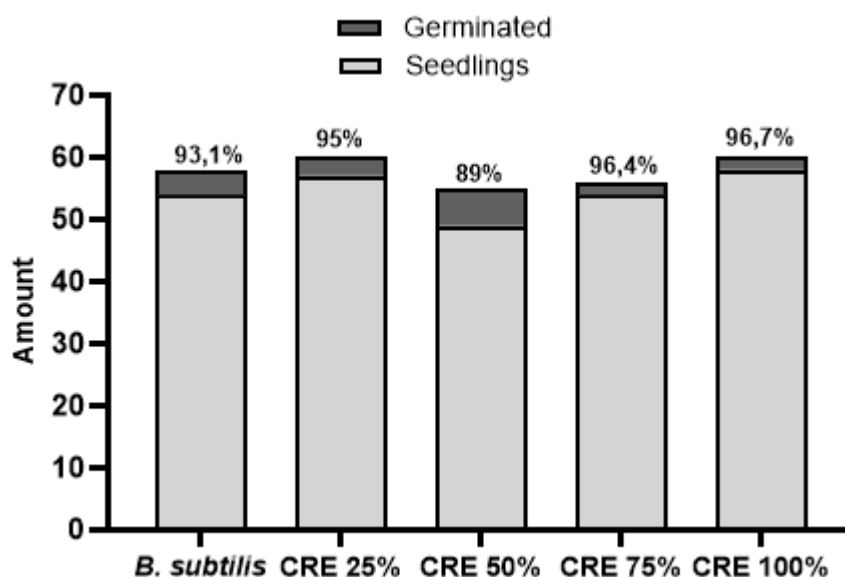


Figura 4. Representação gráfica do número de sementes germinadas e daquelas que progrediram para o estágio de plântula em cada tratamento. Os percentuais sobrepostos indicam a proporção de sementes germinadas que se desenvolveram com sucesso em plântulas.

4.3.2 Comprimento da maior raiz

O comprimento das maiores raízes apresentou diferenças significativas entre os grupos de estudo. A comparação entre o grupo controle (BS) indicou superioridade dos tratamentos CRE 25% e CRE 75% ($P = 0,0063$ e $P = 0,0020$, respectivamente). Já o tratamento CRE 25% demonstrou maior eficácia em relação ao CRE 100% ($P = 0,0060$), além de CRE 75% ter se destacado em relação a CRE 100% ($P = 0,0018$). Os resultados indicam, mais uma vez, um melhor desempenho da concentração de 75% de extrato em proporcionar desenvolvimento radicular, corroborando os achados do experimento realizado em papel de germinação e também no teste de susceptibilidade. Os resultados estão apresentados na figura 5.

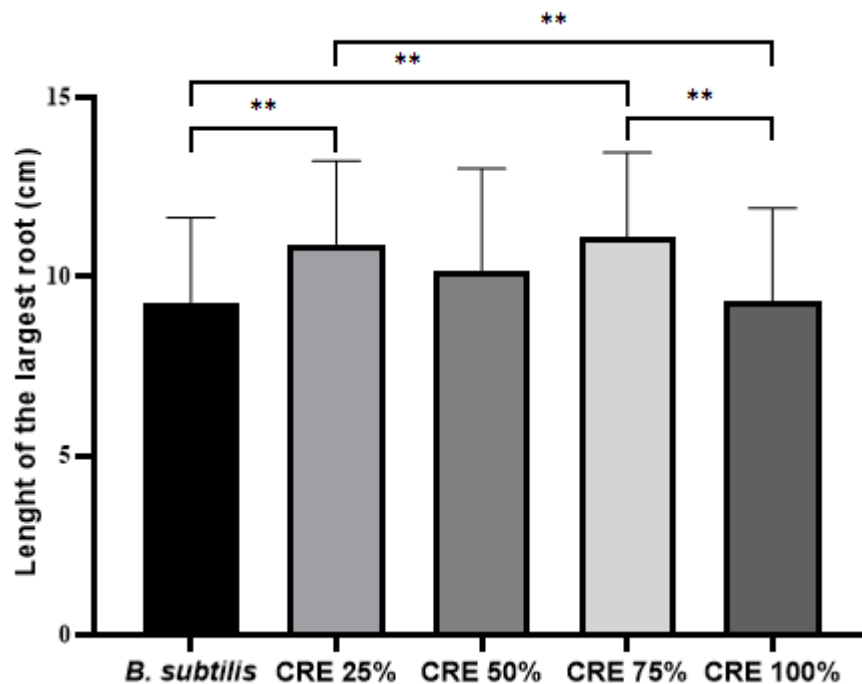


Figura 5. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre o comprimento da raiz mais longa de *Phaseolus vulgaris* germinadas em bandejas de mudas. Os dados são apresentados como a média do número de plântulas formadas por tratamento. * Indica $P < 0,01$.

4.3.3 Massa seca da parte aérea

Não houve relevância estatística em nenhuma das comparações múltiplas entre os grupos testados, embora, visualmente, o resultado do grupo CRE 75% pareça ser maior (Figura 6). Paralelamente, é possível supor que, devido ao curto intervalo de tempo do experimento (uma semana), os efeitos observados na proliferação das raízes não tenham refletido em parâmetros de estágios mais avançados de desenvolvimento, como a formação de folhas.

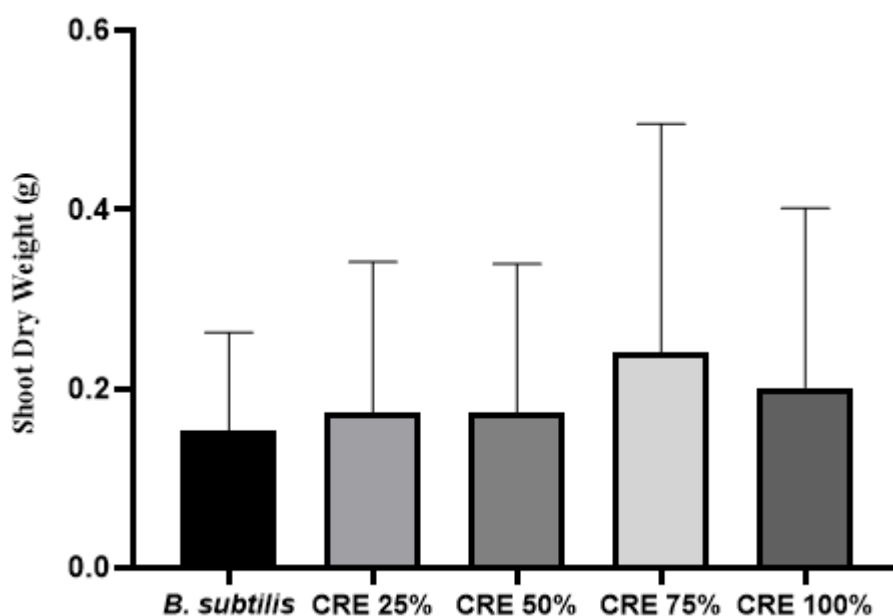


Figura 6. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre a massa seca da parte aérea de *Phaseolus vulgaris*. Os dados são apresentados como a média do número de plântulas formadas por tratamento. * Indica $P < 0,01$.

4.3.4 Massa seca das raízes

A determinação de massa seca das raízes não apontou relevância significativa entre os diferentes tratamentos, os resultados estão representados na figura 7.

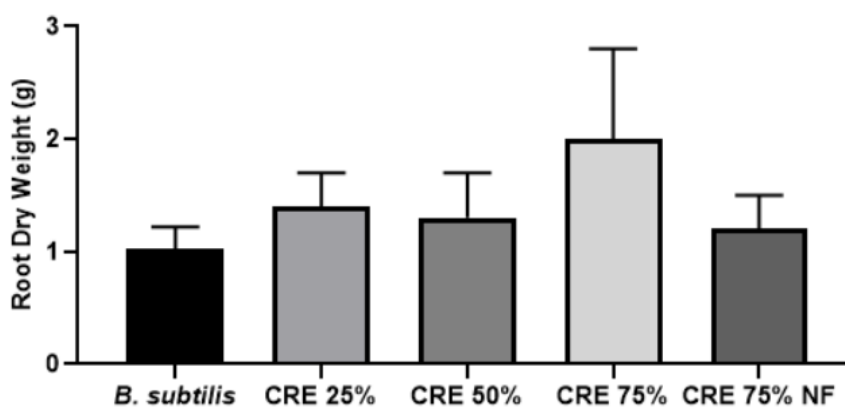


Figura 7. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *C. rotundus* (CRE) em associação com *B. subtilis* sobre a massa radicular de *Phaseolus vulgaris*. Os dados são apresentados como a média do número de plântulas formadas por tratamento.

4.4 Análise de desenvolvimento de *P. vulgaris* em vaso

Como mostrado na Figura 8, a análise da biomassa seca da parte aérea e das raízes nos experimentos em vasos não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de tratamento. Dois fatores principais devem ser considerados na interpretação desses resultados negativos. O primeiro e mais relevante é a possível insuficiência do volume de tratamento em relação à capacidade do vaso. Em comparação com o experimento em células de germinação — no qual foi aplicado 1 mL de tratamento para 50 mL de substrato (proporção 1:50) —, a dosagem utilizada nos vasos foi de 10 mL para 8.000 mL (proporção 1:800), além de 1 mL por semente aplicado na semeadura. Essa discrepância pode ser um fator-chave para a ausência de resultados positivos, já que o sistema radicular pode não estar suficientemente desenvolvido no momento da aplicação para absorver o tratamento de forma eficaz. Além disso, o volume de irrigação diário pode ter influenciado a dispersão e a lixiviação dos compostos ativos do extrato, impedindo-os de exercer os efeitos esperados. Futuros ensaios devem avaliar o uso de proporções mais próximas às aplicadas em células de germinação, de modo a verificar se maiores concentrações relativas de tratamento podem induzir os efeitos desejados em condições semelhantes.

4.4.1 Massa seca da parte aérea e das raízes

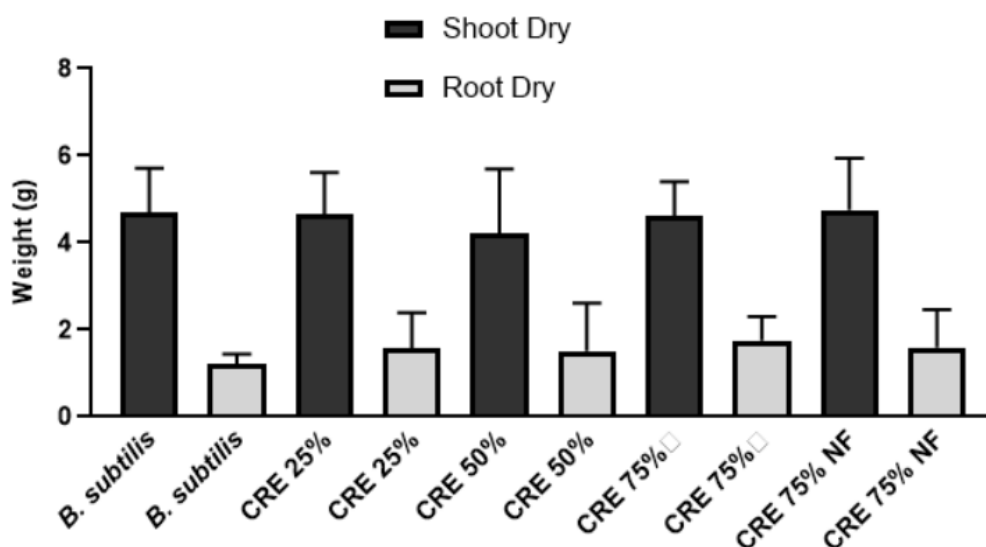


Figura 8. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *Cyperus rotundus* (CRE) em associação com *Bacillus subtilis* sobre a biomassa seca da parte aérea e das raízes de *Phaseolus vulgaris*. Os dados são apresentados como a média do número de amostras por tratamento.

4.4.2 Disponibilidade de nitrogênio da parte aérea e das raízes

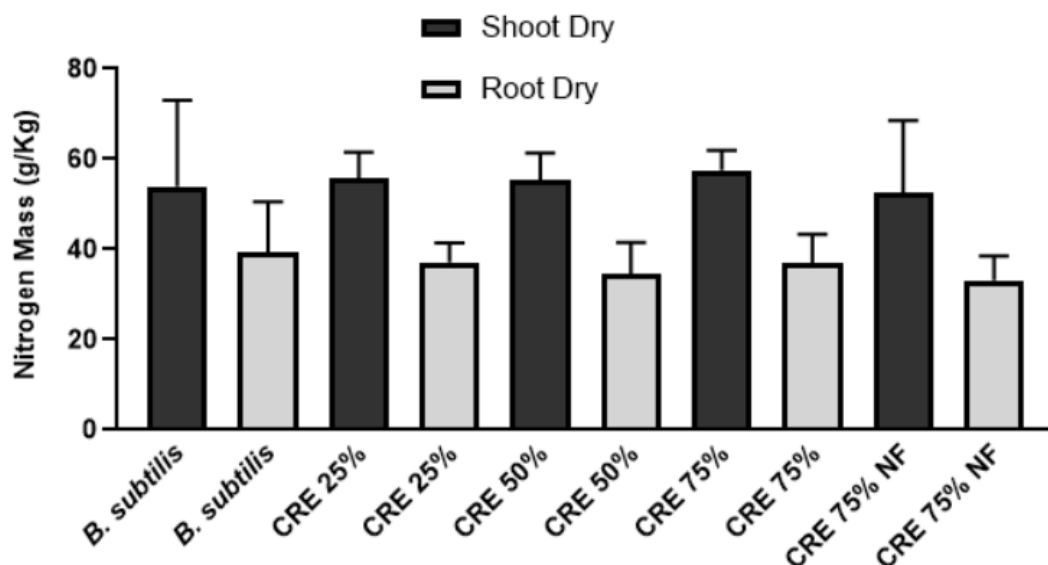


Figura 9. Efeito de diferentes concentrações do extrato de *Cyperus rotundus* (ET) em combinação com *Bacillus subtilis* sobre o teor de nitrogênio nas raízes e na parte aérea de *Phaseolus vulgaris*. Os dados são expressos como o peso médio de nitrogênio por amostra de tratamento.

4.5 Atividade antioxidante

A análise da atividade antioxidante pelo ensaio FRAP demonstrou uma curva que se aproxima da linearidade, o que indica relação direta entre o aumento da concentração do extrato à conversão de íons férricos em íons ferrosos. O resultado confirma o potencial do extrato de *C. rotundus* para atividade antioxidante, por meio de quantificação indireta, de acordo com as informações descritas por Hu et al. (2017), que apresentaram dados semelhantes em ensaios FRAP, embora pela utilização de um extrato oleoso da mesma espécie. A curva de absorbância está representada na Figura 12. Foi calculada a Área Abaixo da Curva (AUC) produzida pela representação gráfica, totalizando 84.85, com valor máximo para $Y = 1.639$. O teste foi realizado a fim de estabelecer comparações futuras com outras substâncias com potencial antioxidante, como o ácido cítrico, a fim de produzir um parâmetro referencial.

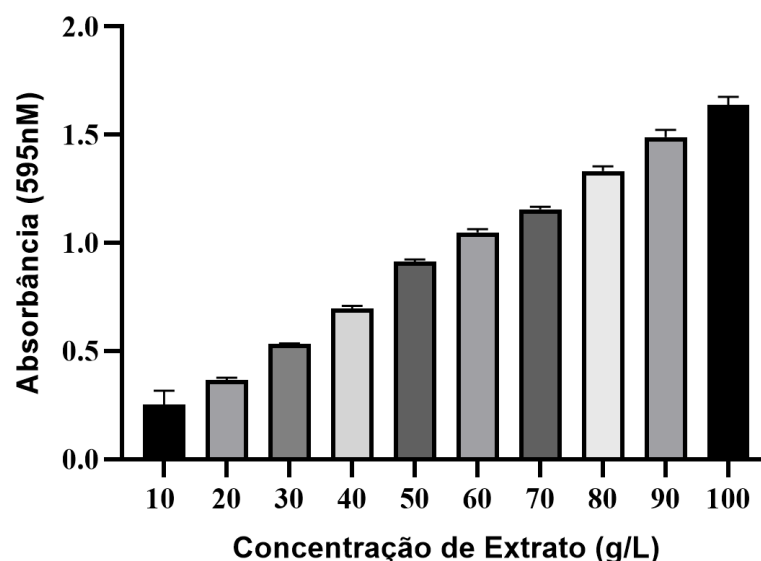


Figura 10. Curva de absorbância produzida a partir de leitura em espectrofotômetro mediante a diferentes concentrações do extrato. Quantificação indireta da conversão de íons férrico Fe (III) em íons ferroso Fe (II).

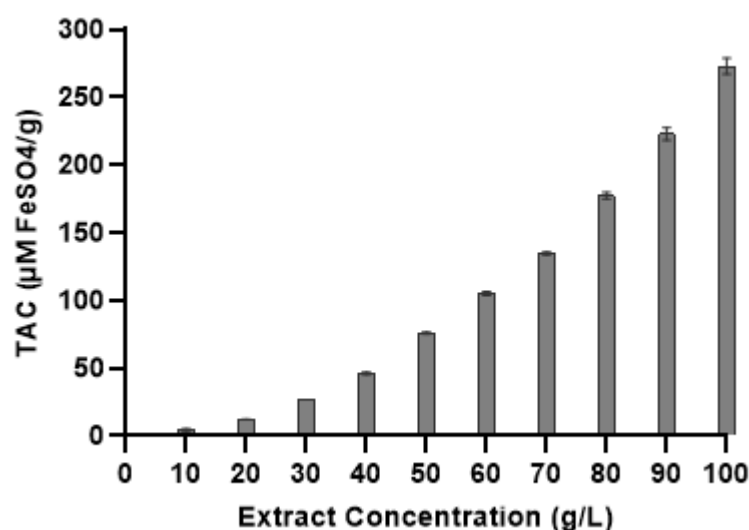


Figura 11. Capacidade Antioxidante Total (TAC) do extrato de *C. rotundus* em diferentes concentrações, determinada pelo ensaio FRAP.

4.6 Espectrometria de massas

A análise por espectrometria de massas de alta resolução (ESI-MS e MS/MS) permitiu a anotação de diversos metabólitos no extrato etanólico de *Cyperus rotundus*, com predomínio de ácidos orgânicos, compostos fenólicos e seus derivados, bem como aminoácidos e metabólitos glicosilados. Entre os ácidos orgânicos, destacou-se o ácido quínico (m/z 191,0161), que apresentou fragmentação característica a 15 eV,

juntamente com um derivado em m/z 533,1714 identificado sob as mesmas condições. Também foram detectados o ácido málico (m/z 133,0143), o ácido cítrico (m/z 191,0198; 20 eV) e o ácido succínico (m/z 117,0192; 5 eV), com identidades confirmadas por espectros de fragmentação.

O aminoácido triptofano foi anotado em m/z 203,0829, enquanto o composto uralenosídeo foi detectado em m/z 285,0615, ambos com confirmação estrutural por fragmentação a 15 eV. Entre os derivados fenólicos, foram identificados o ácido feruloilglucárico (m/z 385,0777) e o ácido feruloilquínico (m/z 367,1031), além do ácido isopropilmalônico (m/z 175,0612), este último estruturalmente relacionado ao ácido málico. Os ácidos fenólicos mais relevantes incluíram o ácido p-cumárico (m/z 163,0398; 10 eV), o ácido siríngico (m/z 197,0457; 20 eV) e um de seus derivados (m/z 313,0559), além do ácido ferúlico (m/z 193,0507; 15 eV), todos confirmados por fragmentação em MS/MS.

Os dados completos de identificação, incluindo valores de m/z e energias de colisão aplicadas, estão resumidos na Figura 13. Os espectros correspondentes de ESI-MS e ESI-MS/MS para cada composto estão disponíveis na Figura Suplementar 14, em alta resolução, para visualização detalhada.

RT(min)	[M - H] -	Exact Mass	Error (ppm)	Fragmentations (M/Z) MS/MS	Molecular Formula	Compound Annotation	Reference
0.44	191.0561	191.0562	0	25 eV: 173, 127, 111, 93, 85	C ₇ H ₁₂ O ₆	Quinic acid	(Llorent-Martínez et al. 2017)
0.44	533.1714	N/A	N/A	15 eV: 191	N/A	Quinic acid derivative	(Spínola et al. 2015)
0.52	133.0143	133.0142	0.75	15 eV: 115, 89, 72, 71	C ₄ H ₆ O ₅	Malic acid	(Zhu et al. 2025)
0.69	191.0198	191.0197	0.52	20 eV: 111, 87 , 85, 67, 57	C ₆ H ₈ O ₇	Citric acid	(Baleiras-Couto et al. 2023)
0.83	117.0192	117.0193	-0.85	5 eV: 99, 73 , 55	C ₄ H ₆ O ₄	Succinic acid	(Zhu et al. 2025)
3.03	203.0829	203.0826	1.48	20 eV: 142 , 130, 116, 76	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	Tryptophan	(Baleiras-Couto et al. 2023)
3.17	285.0615	285.0616	-0.35	15 eV: 153, 152 , 108	C ₁₂ H ₁₄ O ₈	Uralenneoside	(Rodríguez et al. 2023)
3.47	385.0777	385.0776	0.26	15 eV: 209, 191, 147, 85	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₁	Feruloylglucaric acid	(Spínola et al. 2015)
3.55	175.0612	175.0613	0	15 eV: 115, 113, 85	C ₇ H ₁₂ O ₅	Isopropylmalic acid	(Qin et al. 2022)
3.91	367.1031	367.1035	-1.09	15 eV: 193 , 173	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	Feruloylquinic acid	(Zhu et al. 2025)
4.74	163.0398	163.0401	-1.84	10 eV: 119	C ₉ H ₈ O ₃	p-coumaric acid	(Spínola et al. 2015)
4.81	197.0457	197.0455	1.01	20 eV: 182, 167, 153, 138, 123, 121, 106	C ₉ H ₁₀ O ₅	Syringic acid	(Knust et al. 2006)
4.81	313.0559	N/A	N/A	15 eV: 197 , 153	N/A	Syringic acid	(Knust et al. 2006)
5.15	193.0507	193.0506	0.51	15 eV: 178, 149, 134	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	Ferulic acid	(Spínola et al. 2015)

Figura 12. Identificação de compostos no extrato etanólico de *Cyperus rotundus* por análise de ESI MS/MS.

4.6.1 Caracterização e Aplicabilidade dos Compostos

I – Atividade Antioxidante

Diversos compostos identificados no extrato de *Cyperus rotundus* apresentam atividade antioxidante significativa, em especial os derivados do ácido quínico portadores de grupos fenólicos, como os derivados dos ácidos dihidrocaféico e ferúlico. Esses compostos demonstraram forte capacidade de sequestro dos radicais ABTS⁺ e DPPH, com desempenho comparável ao antioxidante de referência Trolox (Yang et al., 2013).

O ácido málico também se mostrou relevante nesse contexto, uma vez que sua aplicação exógena reduziu a fitotoxicidade induzida por cádmio (Cd) em plantas. Esse efeito incluiu não apenas a diminuição da absorção do metal, mas também melhorias na fotossíntese, no crescimento vegetal e na resposta antioxidante em *Spinacia oleracea* L. e *Miscanthus sacchariflorus*. Em ambas as espécies, foi observada maior atividade de enzimas antioxidantes e redução no acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Shabbir et al., 2025; Guo et al., 2017).

O ácido cítrico, por sua vez, demonstrou aumentar a tolerância a estresses abióticos, como salinidade, metais pesados e calor, por meio do incremento da atividade fotossintética, da ativação de enzimas antioxidantes como SOD, CAT, POD e APX, além da melhoria na osmorregulação (Tahjib-Ul-Arif et al., 2021). O ácido feruloilglucárico, embora menos estudado, é estruturalmente análogo a compostos como a feruloil-arabinose, os quais apresentam elevada atividade antioxidante e poder redutor, sugerindo um papel protetor contra o estresse oxidativo (Lin et al., 2014).

Nesse contexto, o ácido siríngico demonstrou papel relevante na promoção do acúmulo de compostos fenólicos, flavonoides e enzimas antioxidantes. Atua de forma eficaz contra *Alternaria solani* sem induzir efeitos fitotóxicos, além de contribuir para a tolerância a estresses abióticos — como o causado por césio — ao modular processos relacionados à lignificação (El-Nagar et al., 2020; Adams et al., 2020).

Por fim, o ácido ferúlico apresentou atividade relevante ao induzir a superexpressão de enzimas antioxidantes em *Juglans regia* infectada por *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, reforçando seu papel na defesa contra o

estresse oxidativo (Zhang et al., 2022).

II – Promoção do Crescimento Vegetal

Os compostos presentes no extrato também apresentaram propriedades favoráveis ao desenvolvimento vegetal. O ácido málico, quando adicionado a fertilizantes NPK na proporção de 5%, aumentou a absorção de nutrientes e a qualidade das uvas, mediado por alterações na comunidade microbiana do solo que elevaram a biodisponibilidade de nutrientes (Si et al., 2022). Além disso, sua aplicação exógena mostrou benefícios para o crescimento de plantas sob estresse por cádmio, aumentando tanto a biomassa quanto a atividade fotossintética (Shabbir et al., 2025).

O ácido cítrico também demonstrou efeitos promissores ao promover o desenvolvimento radicular e da parte aérea em plantas de roseira; concentrações entre 3 e 9 mM aumentaram significativamente o número e o comprimento de raízes e brotações, bem como a massa seca das partes aéreas e das raízes (Ghazijahani et al., 2018). Esse efeito é ainda potencializado pela interação com *Bacillus altitudinis* LZP02, que, na presença de ácido cítrico, estimula a germinação e o crescimento do arroz por meio da intensificação da colonização radicular, promoção da formação de biofilme e aumento da produção de ácido giberélico (Jiao et al., 2022).

O triptofano, precursor da principal via de biossíntese da auxina (IAA) em plantas, demonstrou efeitos promotores no crescimento radicular, incluindo formação significativa de raízes laterais e aumento da biomassa em soja. Essa atividade é atribuída à sua conversão em indol-3-piruvato e posterior transformação em IAA pelas enzimas TAA e YUC (Zhao, 2012; Sanada & Agehara, 2023).

O ácido p-cumárico também demonstrou promover o crescimento, aumentando o comprimento da parte aérea em aproximadamente 26% e a massa fresca em 59% em plântulas de chia sob estresse salino (Nkomo et al., 2019).

Adicionalmente, o ácido sirínico e seus derivados melhoraram parâmetros de crescimento e a pigmentação em plantas de tomate afetadas por *Alternaria solani*, sem induzir fitotoxicidade (El-Nagar et al., 2020).

III – Defesa contra Patógenos e Atividade Antimicrobiana

Entre os compostos analisados, vários apresentaram efeitos significativos

contra fitopatógenos. O ácido quínico tem sido associado à resistência a pragas em plantas, com níveis mais elevados detectados em cultivares de berinjela resistentes a tripses. Além disso, sua aplicação exógena em plantas suscetíveis aumentou a resistência, sugerindo seu potencial como agente de biocontrole (Liu et al., 2022).

O ácido succínico também demonstrou atividade antifúngica, inibindo significativamente o crescimento e a germinação de conídios de *Fusarium oxysporum* in vitro, reduzindo o diâmetro das colônias em 20–44% e a biomassa em 10–60%, dependendo da dose aplicada (Wu et al., 2011).

Entre os compostos fenólicos, destacou-se o ácido ferúlico pela forte ação antifúngica contra *Botrytis cinerea*, incluindo isolados resistentes a fungicidas, contribuindo assim para a proteção de videiras (*Vitis vinifera*) (Patzke & Schieber, 2018). Além disso, a acumulação precoce de ácido ferúlico foi observada em cultivares resistentes de *Juglans regia* infectadas por *Xanthomonas arboricola*, em paralelo ao aumento nos níveis de compostos fenólicos e de enzimas antioxidantes (Zhang et al., 2022).

De forma semelhante, o ácido p-cumárico demonstrou reduzir os sintomas da infecção por *Xanthomonas campestris* em repolho chinês, acompanhado por aumento no teor de compostos fenólicos, indicando seu papel como indutor de resistência (Islam et al., 2018).

Complementando esses achados, o ácido siríngico — conhecido como precursor do ácido gálico — exibiu notável atividade fungistática contra *Alternaria solani*, ao mesmo tempo em que induziu respostas antioxidantes e promoveu o acúmulo de compostos fenólicos (El-Nagar et al., 2020).

IV – Indução de Tolerância a Estresses Abióticos

O ácido cítrico demonstrou papel importante no aumento da tolerância das plantas a diferentes estresses ambientais. Sua aplicação exógena mostrou-se eficaz em fortalecer a atividade fotossintética, ativar enzimas antioxidantes (SOD, CAT, POD, APX) e melhorar a osmorregulação sob condições adversas, como salinidade, calor e exposição a metais pesados (Tahjib-UI-Arif et al., 2021).

O ácido málico também contribuiu para a mitigação do estresse induzido por cádmio, reduzindo a absorção do metal, intensificando a atividade antioxidante e

melhorando o estado fisiológico geral das plantas expostas (Shabbir et al., 2025; Guo et al., 2017).

Além disso, o ácido siríngico auxiliou na tolerância ao césio por meio da modulação de vias regulatórias associadas à lignificação (Adams et al., 2020). De forma semelhante, o ácido p-cumárico atenuou os efeitos do estresse salino em chia, promovendo o crescimento e o acúmulo de biomassa (Nkomo et al., 2019).

V – Regulação Hormonal e Desenvolvimento Mediado por Auxinas

O triptofano, essencial na via de biossíntese da auxina (IAA), é convertido em indol-3-piruvato pelas aminotransferases TAA e posteriormente transformado em IAA pelas enzimas YUC, regulando processos-chave do desenvolvimento vegetal. Aplicações exógenas desse composto em soja resultaram em maior formação de raízes laterais e aumento da biomassa radicular, com efeitos comparáveis aos das auxinas naturais (Zhao, 2012; Sanada & Agehara, 2023).

O ácido cítrico, por sua vez, estimulou a secreção de ácido giberélico quando aplicado em combinação com *Bacillus altitudinis* LZP02, promovendo a germinação e o crescimento do arroz (Jiao et al., 2022).

VI – Modulação Estrutural e Interações Rizosféricas

Os ácidos cítrico e succínico influenciam diretamente as interações planta-microrganismo. Além de seus efeitos diretos sobre o crescimento, o ácido cítrico promoveu a formação de biofilme por *Bacillus altitudinis* LZP02, favorecendo a colonização radicular eficiente e a liberação de fitormônios em arroz (Jiao et al., 2022). O ácido succínico, juntamente com os ácidos málico e cítrico, foi identificado nos exsudatos radiculares de *Citrullus lanatus* como indutor de quimiotaxia, motilidade de enxameamento (swarming) e formação de biofilme em *Bacillus amyloliquefaciens*, evidenciando seu papel na comunicação rizosférica (Gao et al., 2013).

O ácido feruloilglucárico, assim como outros éteres fenólicos ligados a arabinosilanos, contribui para a arquitetura estrutural da parede celular vegetal. Esse composto atua como ponto de ligação para a formação de entrecruzamentos com a lignina via acoplamento enzimático, conferindo rigidez mecânica e resistência à degradação por patógenos (Buanafina, 2009).

Adicionalmente, o ácido siríngico também contribui para a lignificação e, conseqüentemente, para a tolerância a estresses abióticos, como descrito em condições de contaminação por cézio (Adams et al., 2020).

5 CONCLUSÃO

Os testes de suscetibilidade indicaram que *Bacillus subtilis* permanece viável na presença do extrato, embora com redução no número de UFC; entre os tratamentos, o CRE 75% apresentou a maior taxa de proliferação. No ensaio de germinação em papel, o CRE 75% também foi o mais eficaz, superando significativamente o controle. Nas células de germinação, os tratamentos com CRE 100% e CRE 25% promoveram maior formação de plântulas e aumento do comprimento radicular. Em contrapartida, os experimentos em vasos não mostraram diferenças significativas, provavelmente em função do baixo volume de extrato aplicado. O ensaio FRAP revelou elevada atividade antioxidante, dependente da concentração. A análise por espectrometria de massas (HPLC-ESI-QTOF-MS/MS) identificou predomínio de ácidos orgânicos, compostos fenólicos, aminoácidos e metabólitos glicosilados, como os ácidos quínico, málico, cítrico, ferúlico e p-cumárico, além do triptofano. Esses compostos apresentam atividades antioxidantes, antimicrobianas, promotoras de crescimento e indutoras de resistência, corroborando os efeitos observados nos ensaios biológicos. Os achados ressaltam a necessidade de novos experimentos com maiores volumes de aplicação, avaliação em outras espécies cultivadas — dada a variabilidade das respostas de enraizamento — e investigação dos mecanismos de ação, incluindo análises metagenômicas para avaliar a possível modulação do microbioma rizosférico e endofítico, considerando as propriedades bactericidas do extrato.

6 REFERÊNCIAS

ABO-ALTEMEN, R. A.; AL-SHAMMARI, A. M.; SHAWKAT, M. S. GC-MS analysis and chemical composition identification of *Cyperus rotundus* L. from Iraq. **Energy Procedia**, v. 157, p. 1462-1474, 2019.

ADAMS, E. et al. Syringic acid alleviates cesium-induced growth defect in *Arabidopsis*.

International Journal of Molecular Sciences, v. 21, n. 23, p. 9116, 2020.

ALVES, K. C. S.; ALMEIDA, M. E. M.; GLÓRIA, J. C.; SANTOS, F. A.; PEREIRA, K. D.; CASTRO, D. P.; LUIS, M. *Bacillus subtilis*: uma versátil ferramenta biotecnológica. **Scientia Amazonia**, v. 7, n. 2, p. 15-23, 2018.

ARAÚJO, A. S. F. D.; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, F. F. D. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N₂ e o crescimento das plantas. **Ciência Rural**, v. 40, p. 182-185, 2010.

ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1633-1643, 1999.

BALEIRAS-COUTO, M. M. et al. Untargeted metabolomics discriminates grapes and wines from two Syrah vineyards located in the same wine region. **Fermentation**, v. 9, n. 2, p. 145, 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BUANAFINA, M. M. de O. Feruloylation in grasses: current and future perspectives. **Molecular Plant**, v. 2, n. 5, p. 861-872, 2009.

BUCHOLT, A. C.; METZLER, C. R.; CASTIGLIONI, J. L.; DASSOLLER, T. F.; LUBIAN, M. S. Application of bio-stimulants and *Bacillus subtilis* in the germination and initial development of corn culture. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 6, n. 4, p. 69-74, 2019.

CONAB. Boletim de Monitoramento dos Cultivos de Verão/Inverno - Novembro 2024. Brasília, 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/monitoramento-agricola>. Acesso em: 16 out. 2024.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Produção nacional de grãos é estimada em 312,2 milhões de toneladas na safra 2022/2023. Brasília, dez. 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 13 mar. 2023.

CRUZ SILVA, C. T. A.; ALVES NETO, A. J.; VIECELLI, C. A. Extratos aquosos de *tiririca* sobre o enraizamento de cana-de-açúcar. **Varia Scientia Agrárias**, v. 2, n. 1, p. 49-61, 2011.

DANILOVA, I.; SHARIPOVA, M. The practical potential of bacilli and their enzymes for industrial production. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1782, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01782.

EL-NAGAR, A. et al. The antifungal activity of gallic acid and its derivatives

against *Alternaria solani*, the causal agent of tomato early blight. **Agronomy**, v. 10, n. 9, p. 1402, 2020.

ELKOCA, E.; TURAN, M.; DONMEZ, M. F. Effects of single, dual and triple inoculations with *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli* on nodulation, nutrient uptake, yield and yield parameters of common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. 'Elkoca-05'). **Journal of Plant Nutrition**, v. 33, n. 14, p. 2104-2119, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Brasília, 2013. 353 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 2013.

FERREIRA, F. M. C.; OLIVEIRA, S. G.; BALIZA, D. P.; ROCHA CAMPOS, A. N. Efeito de extratos de plantas espontâneas na germinação e no crescimento inicial do feijão comum. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, n. 2, p. 185-192, 2014.

FREITAS, C.; PLANNIC, J.; ISTICATO, R.; PELOSI, A.; ZILHÃO, R.; SERRANO, M.; HENRIQUES, A. O. A protein phosphorylation module patterns the *Bacillus subtilis* spore outer coat. **Molecular Microbiology**, v. 114, n. 6, p. 934-951, 2020.

GAO, T. et al. Watermelon root exudates enhance root colonization of *Bacillus amyloliquefaciens* TR2. **Current Microbiology**, v. 80, n. 4, p. 110, 2023.

GASTL FILHO, J.; CARVALHO, V.; REZENDE, A. S.; ALMEIDA, A. M. M.; NASCIMENTO, V. A.; SILVA BONETTI, L. L. Effect of purple *nutsedge* extract on rooting and early development of blackberry. **Revista Inova Ciência & Tecnologia / Innovative Science & Technology Journal**, p. 18-24, 2019.

GHAZIJAANI, N. et al. Foliar application of citric and malic acid to stock plants of rose alters the rooting of stem cuttings. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 5, p. 1-6, 2018.

GUO, H. et al. Exogenous malic acid alleviates cadmium toxicity in *Miscanthus sacchariflorus* through enhancing photosynthetic capacity and restraining ROS accumulation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 141, p. 119-128, 2017.

HU, Q. P.; CAO, X. M.; HAO, D. L.; ZHANG, L. L. Chemical composition, antioxidant, DNA damage protective, cytotoxic and antibacterial activities of *Cyperus rotundus* rhizomes essential oil against foodborne pathogens. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 45231, 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA – IBRAFLOR. O mercado de flores no Brasil. 2022. Disponível em: https://www.ibraflor.com.br/files/ugd/b3d028_2ca7dd85f28f4add9c4eda570adc369f.

[pdf](#). Acesso em: 13 mar. 2023.

ISLAM, M. T. et al. Characterization of *p*-coumaric acid-induced soluble and cell wall-bound phenolic metabolites in relation to disease resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in Chinese cabbage. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 125, p. 172-177, 2018.

JIAO, H. et al. Citric acid in rice root exudates enhanced the colonization and plant growth-promoting ability of *Bacillus altitudinis* LZP02. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 6, p. e01002-22, 2022.

KNUST, U. et al. Identification and quantitation of phenolic compounds in faecal matrix by capillary gas chromatography and nano-electrospray mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 20, n. 20, p. 3119-3129, 2006.

LIMA, G. V. M. **Ação de auxinas e cofatores fenólicos no enraizamento *in vitro* de variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 2010. 96 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

LIN, Q.; OU, S.; WEN, Q. *In vitro* antioxidant activity of feruloyl arabinose isolated from maize bran by acid hydrolysis. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 1356-1362, 2014.

LIU, Y. et al. Metabolomic and transcriptomic analyses identify quinic acid protecting eggplant from damage caused by western flower thrips. **Pest Management Science**, v. 78, n. 12, p. 5113-5123, 2022.

LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; SPÍNOLA, V.; CASTILHO, P. C. Phenolic profiles of *Lauraceae* plant species endemic to Laurisilva forest: a chemotaxonomic survey. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 1-12, 2017.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitárias e tóxicas**. 3. ed. São Paulo: Nobel, 2000. 608 p.

MACHADO, R.; CALVI, V.; PACCOLA, E.; SCHMIDT FILHO, E.; GASPAROTTO, F. Inoculação foliar de plantas de milho com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 34, 2020.

MATZENAUER, W.; PEREIRA-SILVA, L.; HEFLER, S. M. *Cyperus*. In: **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 2 maio 2024.

MIRANDA, C. S. D.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; DUTRA, L. F.; COELHO, G. V. D. A. Enxertia recíproca e AIB como fatores indutores do enraizamento de estacas lenhosas dos porta-enxertos de pessegueiro 'Okinawa' e umezeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 778-784, 2004.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MURAOKA, T.; CARMO, C. A. F. S.; MELO, W. J. Análise química de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. (ed.). **Manual de análises**

químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2. ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. p. 191-233.

MORDOR INTELLIGENCE. **Mercado de reguladores de crescimento de plantas na América do Sul – crescimento, tendências, impacto do COVID-19 e previsões (2023–2028)**. 2023. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/>. Acesso em: 13 mar. 2023.

MORDOR INTELLIGENCE. **Plant growth regulators market in South America – growth, trends, COVID-19 impact, and forecasts (2023–2028)**. 2023. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/>. Acesso em: 13 mar. 2023.

NKOMO, M. et al. Exogenous *p*-coumaric acid improves *Salvia hispanica* L. seedling shoot growth. **Plants**, v. 8, n. 12, p. 546, 2019.

NOVISKI, T. A. M.; SZAMBELAN, V. L.; FISCHER, L. U.; SILVEIRA, T. R.; WEILER, F. G. K. **Elaboração de enraizador natural à base de extrato de *tiririca* (*Cyperus rotundus* L.) como acelerador de enraizamento de roseiras**. Unijuí, 2018.

PATZKE, H.; SCHIEBER, A. Growth-inhibitory activity of phenolic compounds applied in an emulsifiable concentrate – ferulic acid as a natural pesticide against *Botrytis cinerea*. **Food Research International**, v. 113, p. 18-23, 2018.

PEREIRA, E. D. O.; LOPES, J. C.; MARÇAL, T. S.; COELHO, R. I. Enraizamento de estacas de maracujazeiro cultivadas em diferentes substratos e tratadas com extratos de *tiririca*. **Nucleus**, v. 9, n. 2, p. 93-102, 2012.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3396-3402, 2000.

QIN, S. et al. Comprehensive characterization of multiple components of *Ziziphus jujuba* Mill using UHPLC-Q-Exactive Orbitrap mass spectrometers. **Food Science & Nutrition**, v. 10, n. 12, p. 4270-4295, 2022.

REZENDE, F. P. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Aplicação de extratos de folhas e tubérculos de *Cyperus rotundus* L. e de auxinas sintéticas na estaquia caular de *Duranta repens* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, p. 639-645, 2013.

RODRIGUES, A. C.; DINIZ, Â. C.; FACHINELLO, J. C.; SILVA, J. B. D.; FARIA, J. L. C. Peroxidases e fenóis totais em tecidos de porta-enxertos de *Prunus* sp. nos períodos de crescimento vegetativo e de dormência. **Ciência Rural**, v. 32, p. 559-564, 2002.

RODRIGUES, A.; BORSATO, A.; JORGE, M.; BISPO, W.; DURAN, F.; ARRUDA, K.

Enraizamento de estacas de *Cordia verbenacea* DC. tratadas com *Cyperus rotundus* L. **Cadernos de Agroecologia**, v. 5, n. 1, 2010.

RODRIGUES, D. H. S.; SILVA ABES, S.; FERNANDES, G. H.; SANTOS, J. P. G.; COSTA, A. C.; BARDIVIESSO, D. M. Efeito do extrato de *tiririca* no enraizamento de estacas de limão-Tahiti. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 15, n. 2, p. 215-220, 2020.

RODRÍGUEZ, J.-L. et al. Chemical characterization, antioxidant capacity and anti-oxidative stress potential of South American Fabaceae *Desmodium tortuosum*. **Nutrients**, v. 15, n. 3, p. 746, 2023.

SANADA, A.; AGEHARA, S. Characterizing root morphological responses to exogenous tryptophan in soybean (*Glycine max*) seedlings using a scanner-based rhizotron system. **Plants**, v. 12, n. 1, p. 186, 2023.

SHABBIR, A. et al. Efficacy of malic and tartaric acid in mitigation of cadmium stress in *Spinacia oleracea* L. via modulations in physiological and biochemical attributes. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 3366, 2025.

SI, P. et al. Differences in microbial communities stimulated by malic acid have the potential to improve nutrient absorption and fruit quality of grapes. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 850807, 2022.

SILVA, J. L. **Desenvolvimento de miniestacas de jabuticabeira (*Plinia peruvuana* (Poir.) Govaerts) com uso de enraizadores naturais e sintético**. 2024. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB, 2024.

SILVA, M. T.; GASPAROTTO, F.; PREDESTIN, E.; RIBEIRO, A. C.; BERGAMASCO, R. *Bacillus subtilis* como recurso biotecnológico para produção de enzimas e suas aplicações: uma revisão. **Observatório de la Economía Latinoamericana**, v. 22, n. 7, p. e5628, 2024.

SILVA, M. T.; GASPAROTTO, F.; PREDESTIN, E.; RIBEIRO, A. C.; BERGAMASCO, R. *Bacillus subtilis* as a biotechnological resource for enzyme production and its applications: a review. **Observatório de la Economía Latinoamericana**, v. 22, n. 7, p. e5628, 2024.

SILVA, P. H. V.; SOUZA, A. G. V.; ARAUJO, L. D.; FREZARIN, E. T.; SOUZA, G. V. L.; SILVEIRA, C. M.; RIGOBELLO, E. C. *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* in association with rock powder for the initial development of maize plants. **Agronomy**, v. 13, n. 3, p. 872, 2023.

SOLOS, Embrapa. Sistema brasileiro de classificação de solos. Centro Nacional de Pesquisa de Solos: Rio de Janeiro, 3rd ed., 2013.

SPÍNOLA, V.; PINTO, J.; CASTILHO, P. C. Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira Island by HPLC-DAD–ESI-MSn and screening for their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 173, p. 14-30, 2015.

SWARGE, B.; ABHYANKAR, W.; JONKER, M.; HOEFSLOOT, H.; KRAMER, G.; SETLOW, P.; KONING, L. J. Integrative analysis of proteome and transcriptome dynamics during *Bacillus subtilis* spore revival. **mSphere**, v. 5, n. 4, e00463-20, 2020. DOI: 10.1128/mSphere.00463-20.

WU, H.-S. et al. Succinic acid inhibited growth and pathogenicity of *in vitro* soil-borne fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & Plant Science**, v. 61, n. 5, p. 404-409, 2011.

YANG, Y.-J. et al. Radical scavenging activity and cytotoxicity of active quinic acid derivatives from *Scorzonera divaricata* roots. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2-3, p. 2057-2063, 2013.

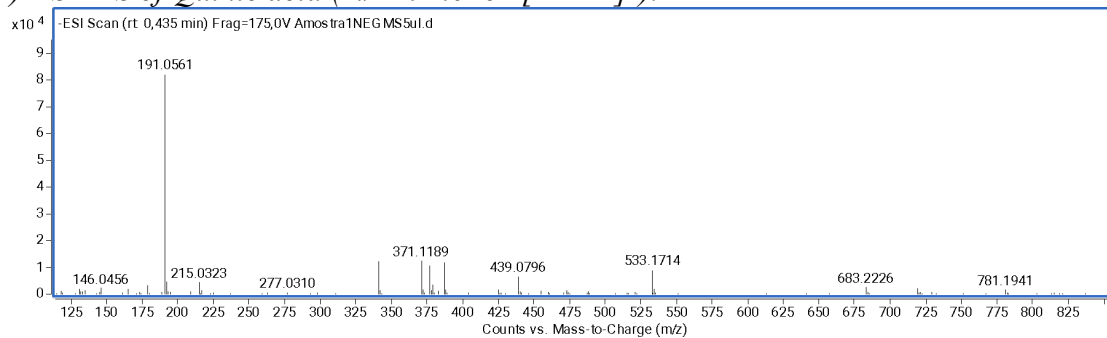
ZHANG, Q. et al. Protocatechuic acid, ferulic acid and relevant defense enzymes correlate closely with walnut resistance to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. **BMC Plant Biology**, v. 22, n. 1, p. 598, 2022.

ZHAO, Y. Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. **Molecular Plant**, v. 5, n. 2, p. 334-338, 2012.

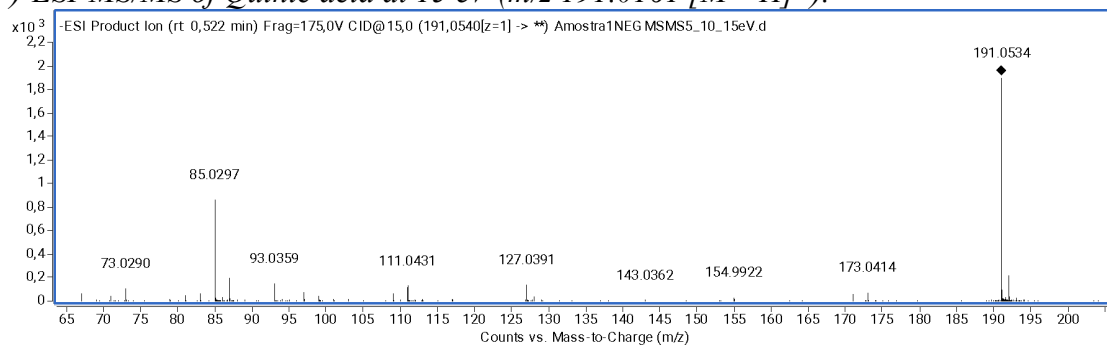
ZHU, T. et al. Comprehensive characterization and identification of chemical constituents of Pingwei Powder by ultra high performance liquid chromatography tandem quadrupole-time-of-flight tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography Open**, v. 7, p. 100203, 2025.

APÊNDICE

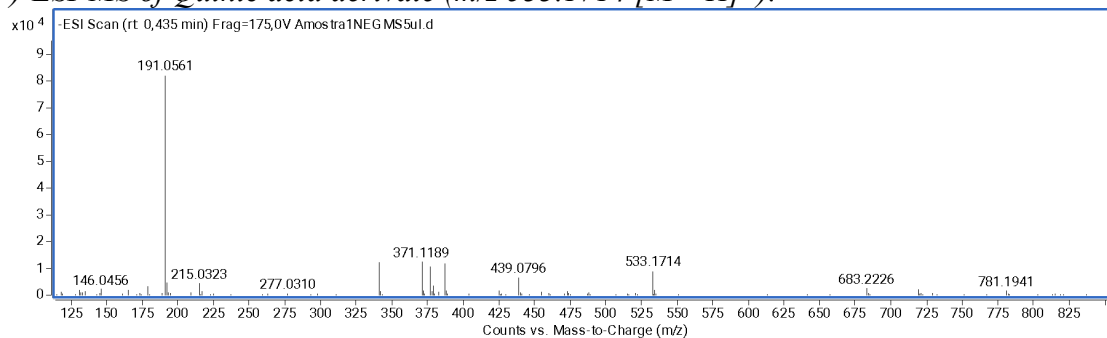
(-)-ESI-MS of Quinic acid (m/z 191.0161 $[M - H]^-$).



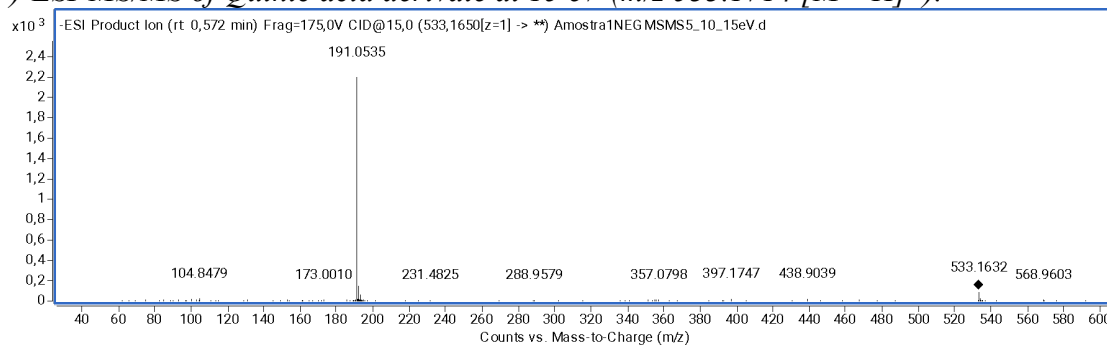
(-)-ESI-MS/MS of Quinic acid at 15 eV (m/z 191.0161 $[M - H]^-$).



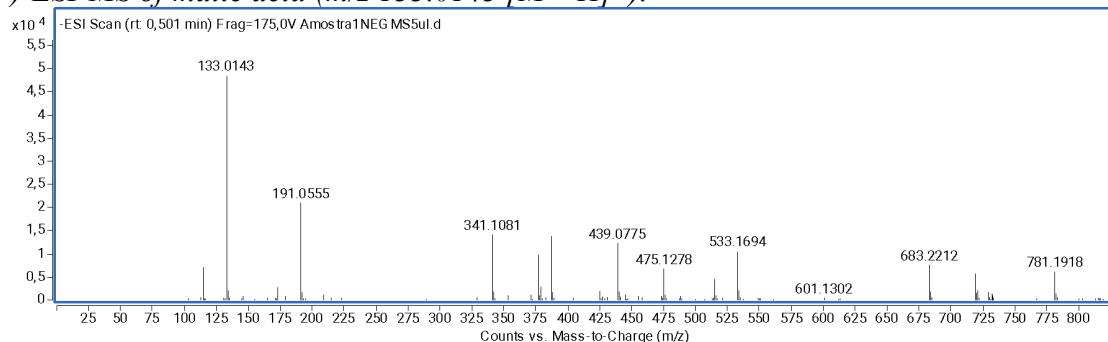
(-)-ESI-MS of Quinic acid derivate (m/z 533.1714 $[M - H]^-$).



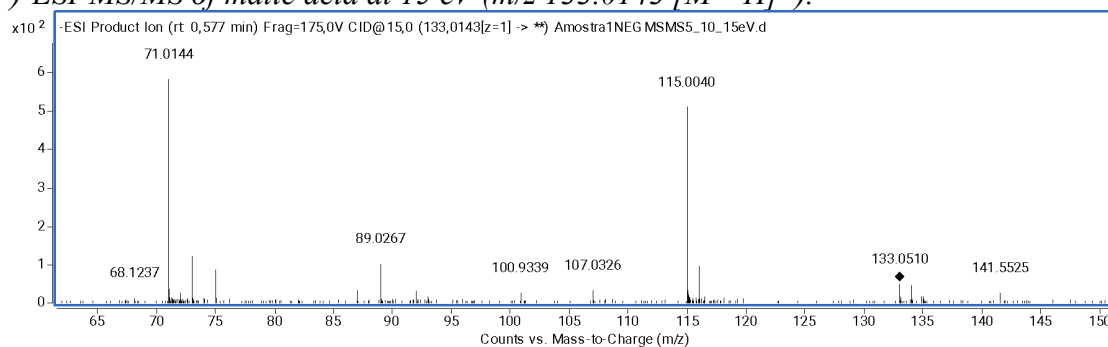
(-)-ESI-MS/MS of Quinic acid derivate at 15 eV (m/z 533.1714 $[M - H]^-$).



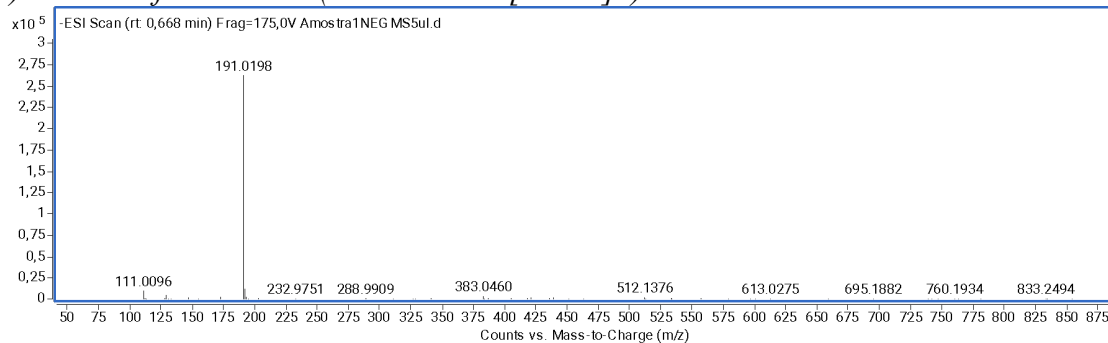
(-)-ESI-MS of malic acid (m/z 133.0143 [$M - H$]).



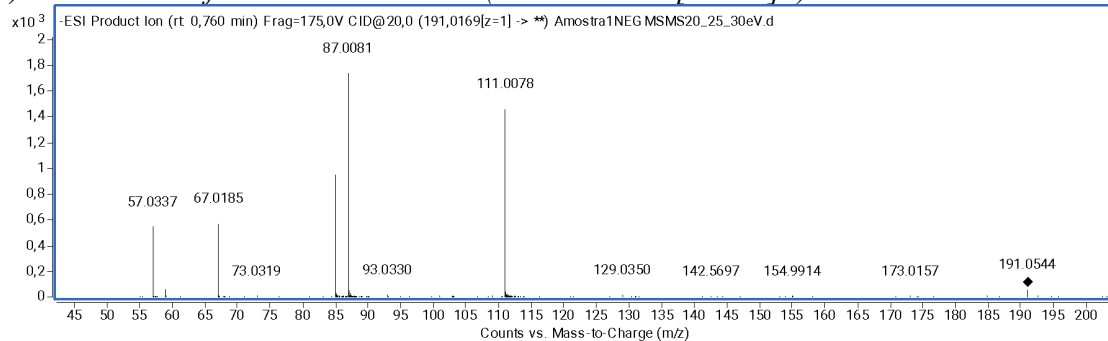
(-)-ESI-MS/MS of malic acid at 15 eV (m/z 133.0143 [$M - H$]).



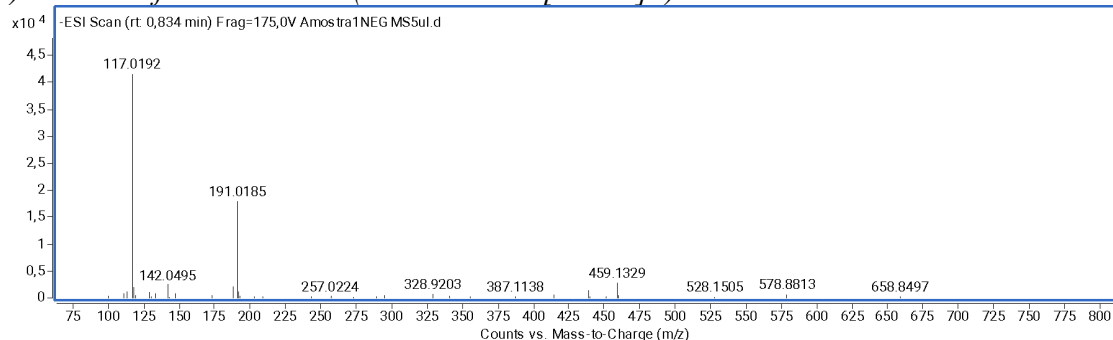
(-)-ESI-MS of Citric acid (m/z 191.0198 [$M - H$]).



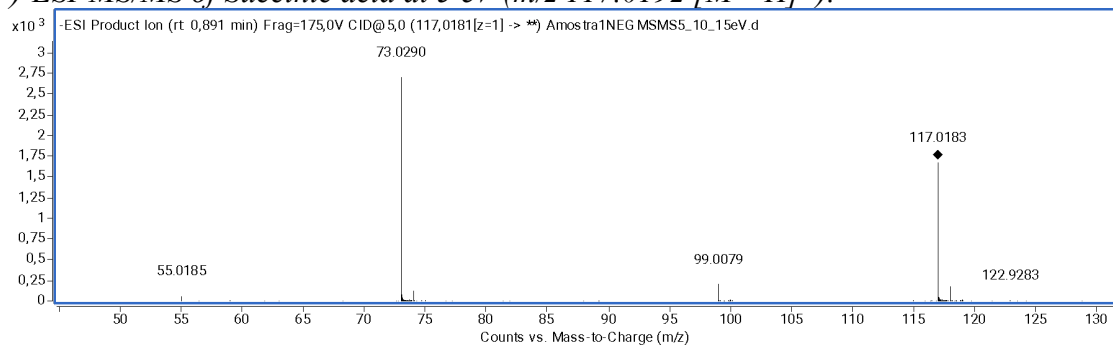
(-)-ESI-MS/MS of Citric acid at 20 eV (m/z 191.0198 [$M - H$]).



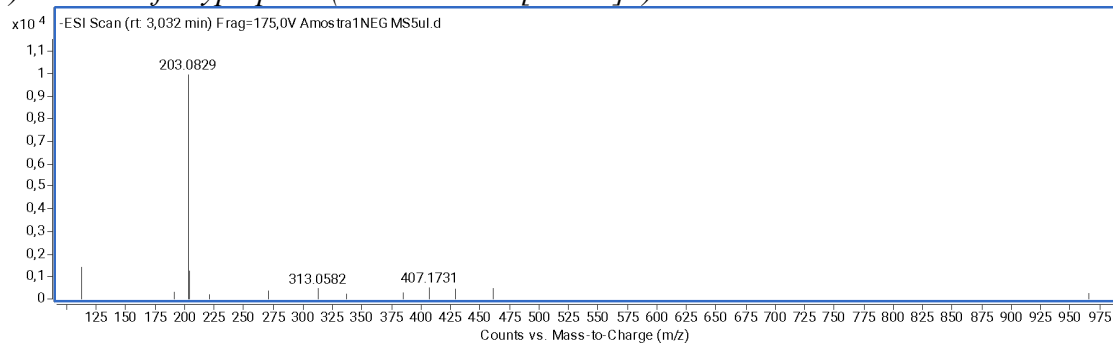
(-)-ESI-MS of Succinic acid (m/z 117.0192 $[M - H]^-$).



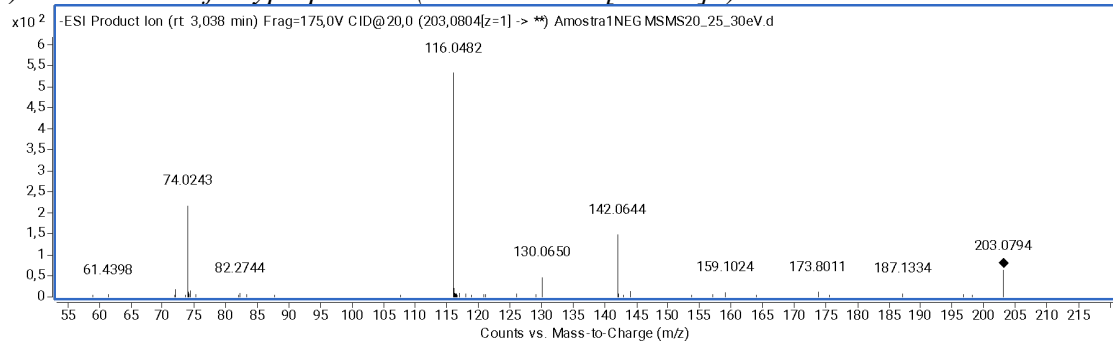
(-)-ESI-MS/MS of Succinic acid at 5 eV (m/z 117.0192 $[M - H]^-$).



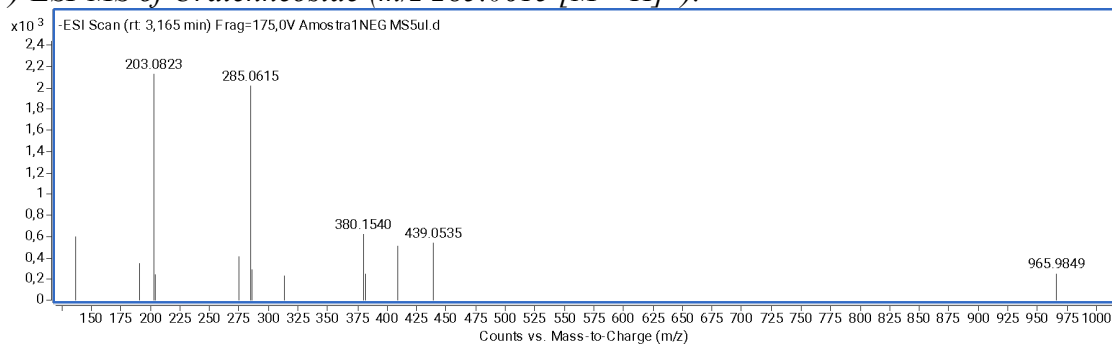
(-)-ESI-MS of Tryptophan (m/z 203.0829 $[M - H]^-$).



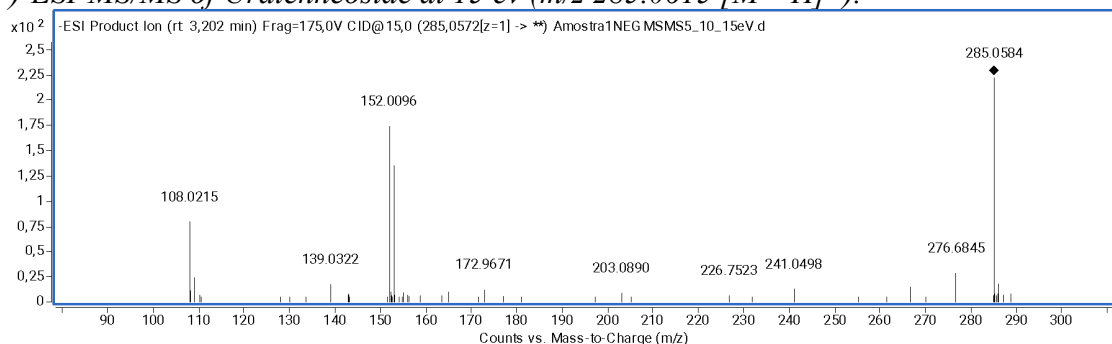
(-)-ESI-MS/MS of Tryptophan at (m/z 203.0829 $[M - H]^-$).



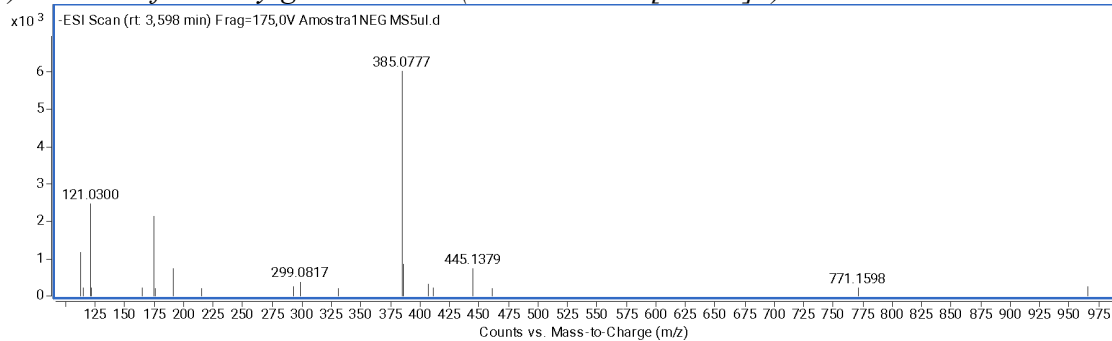
(-)-ESI-MS of Uralenneoside (m/z 285.0615 [$M - H$]).



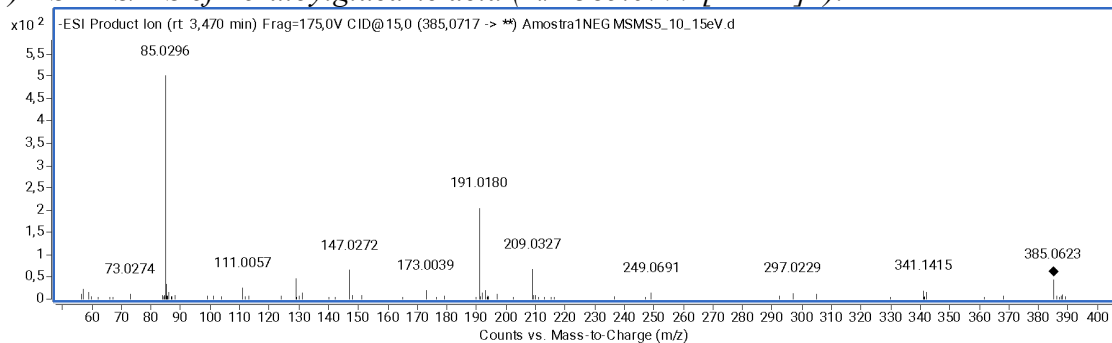
(-)-ESI-MS/MS of Uralenneoside at 15 ev (m/z 285.0615 [$M - H$]).



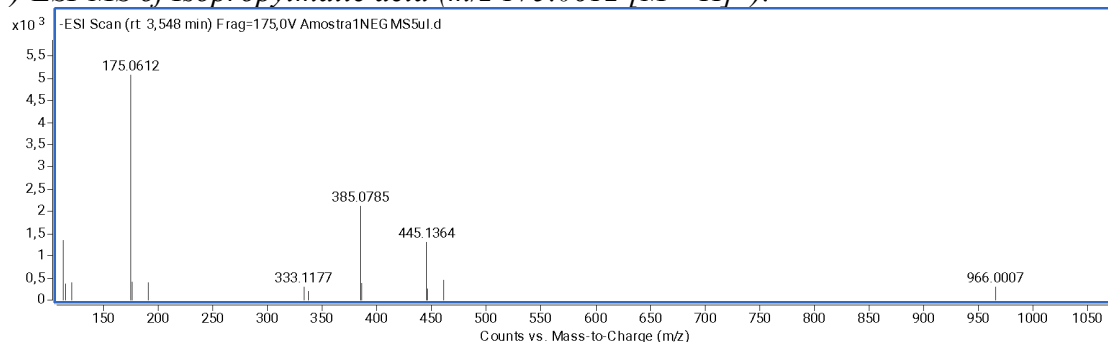
(-)-ESI-MS of Feruloylglucaric acid (m/z 385.0777 [$M - H$]).



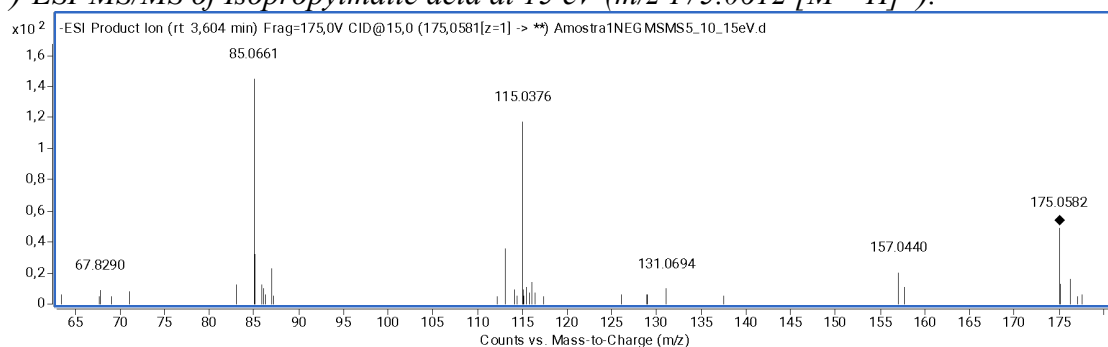
(-)-ESI-MS/MS of Feruloylglucaric acid (m/z 385.0777 [$M - H$]).



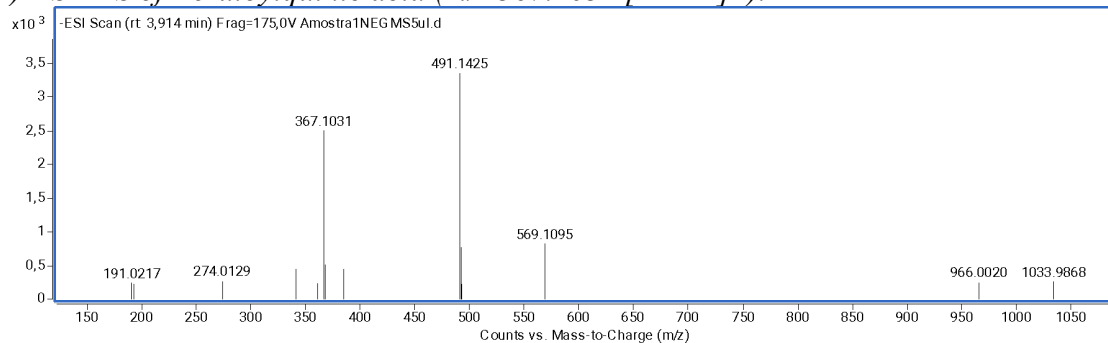
(-)-ESI-MS of Isopropylmalic acid (m/z 175.0612 $[M - H]^-$).



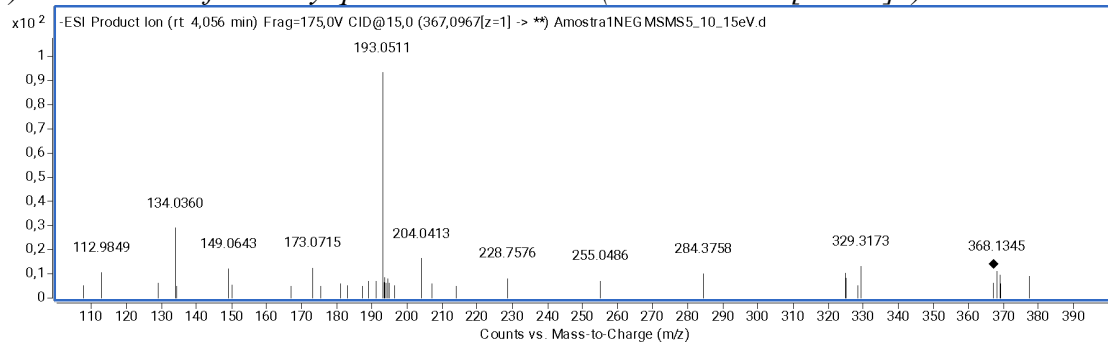
(-)-ESI-MS/MS of Isopropylmalic acid at 15 eV (m/z 175.0612 $[M - H]^-$).



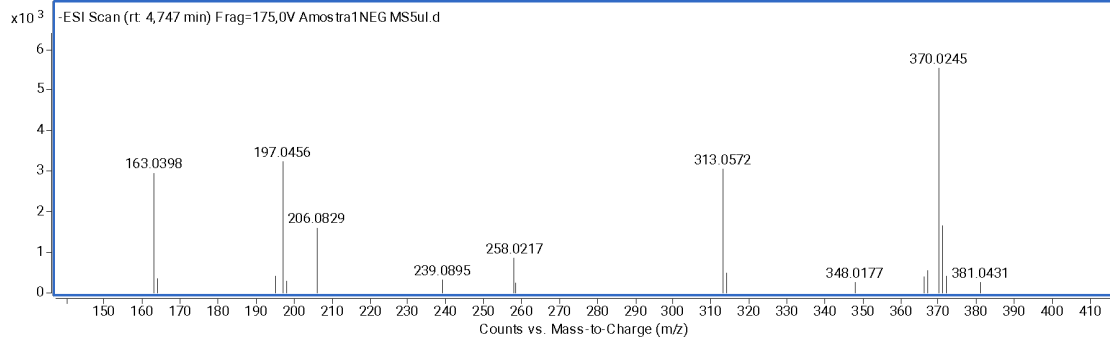
(-)-ESI-MS of Feruloylquinic acid (m/z 367.1031 $[M - H]^-$).



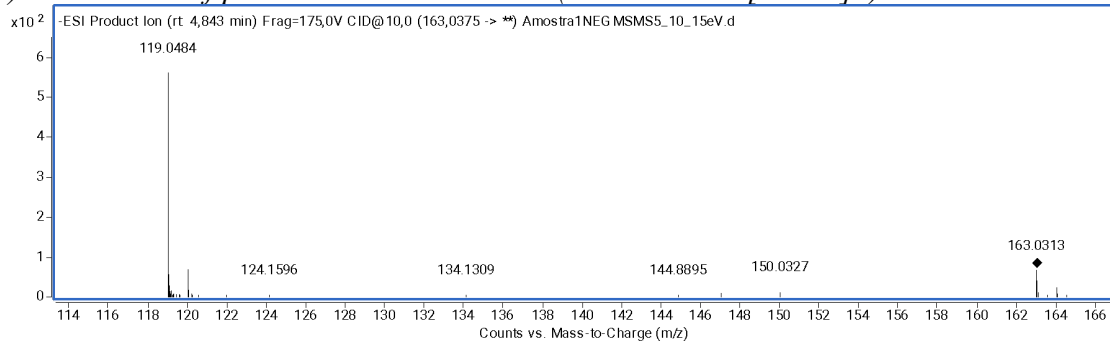
(-)-ESI-MS/MS of Feruloylquinic acid at 15 eV (m/z 367.1031 $[M - H]^-$).



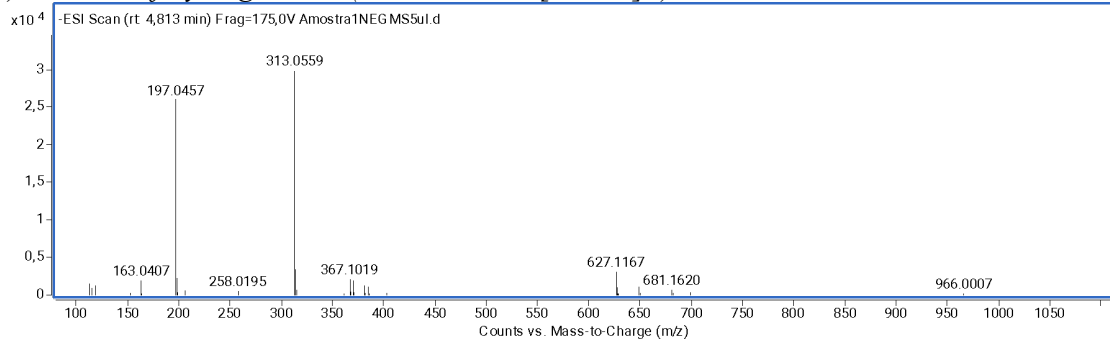
(-)-ESI-MS of p-coumaric acid (m/z 163.0398 $[M - H]^-$).



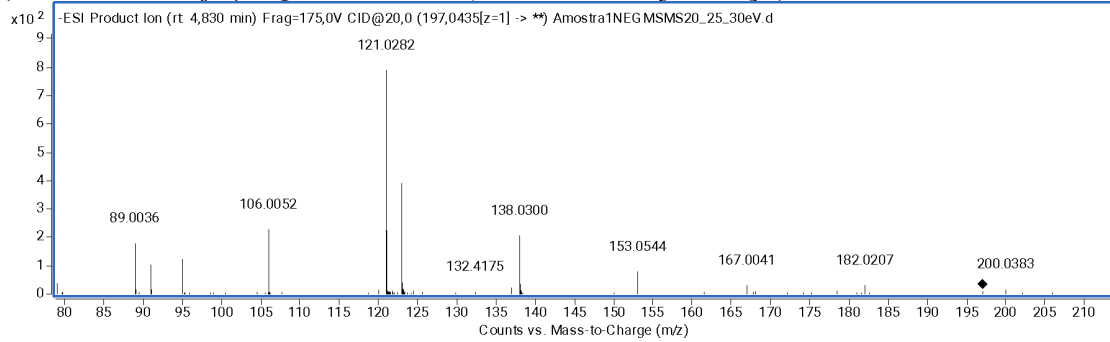
(-)-ESI-MS/MS of p-coumaric acid at 10 eV (m/z 163.0398 $[M - H]^-$).



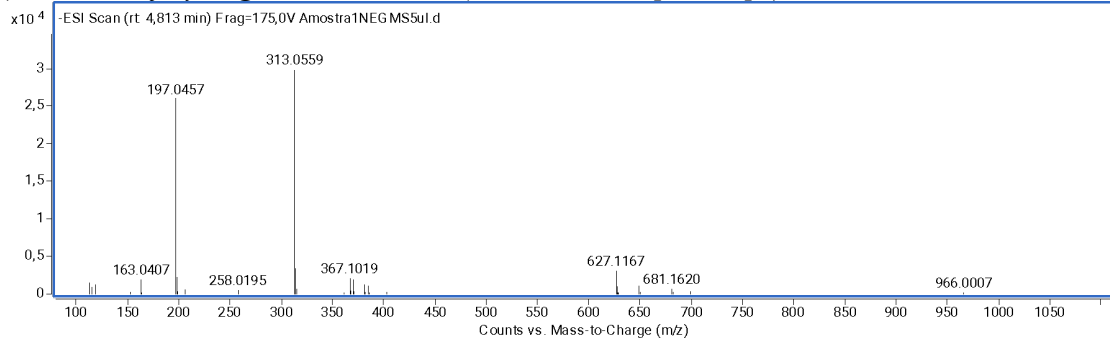
(-)-ESI-MS of Syringic acid (m/z 197.0457 $[M - H]^-$).



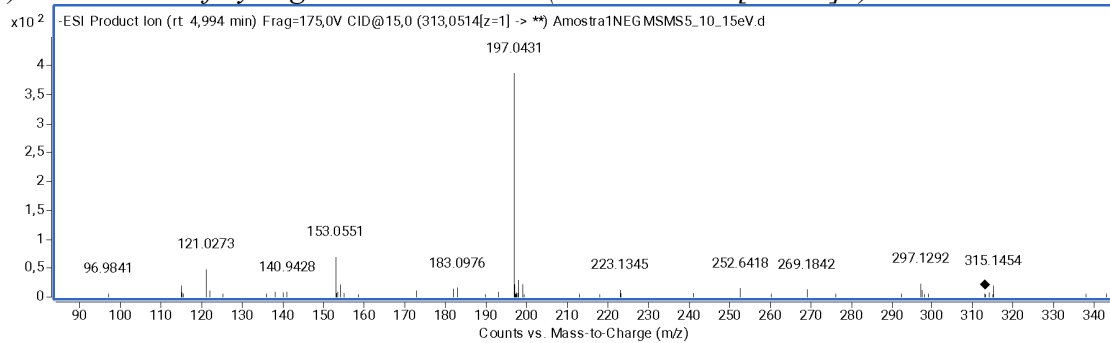
(-)-ESI-MS/MS of Syringic acid at 20 eV (m/z 197.0457 $[M - H]^-$).



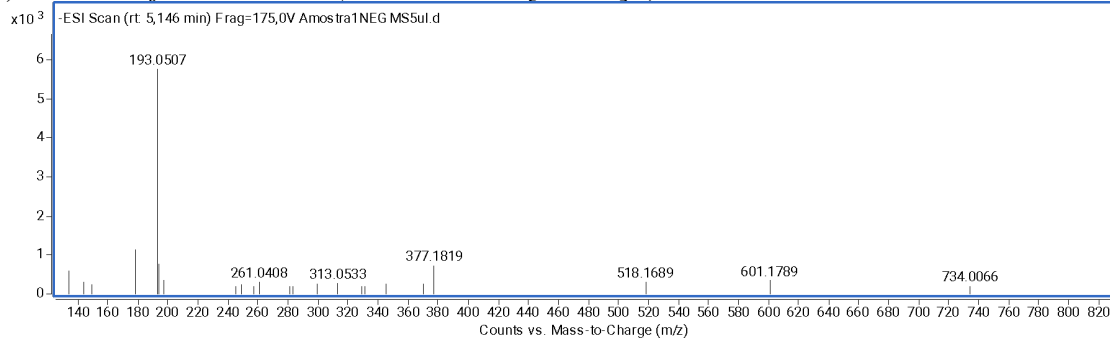
(-)-ESI-MS of Syringic acid derivate (m/z 313.0559 $[M - H]^-$).



(-)-ESI-MS/MS of Syringic acid derivate at (m/z 313.0559 $[M - H]^-$).



(-)-ESI-MS of Ferulic acid (m/z 193.0507 $[M - H]^-$).



(-)-ESI-MS/MS of Ferulic acid at 15 eV (m/z 193.0507 $[M - H]^-$).

