

**EFEITOS DA AUXINA E DO COMPOSTO ORGÂNICO ORIUNDO
DO LODO DE ESGOTO NO DESENVOLVIMENTO DE RAÍZES
ADVENTÍCIAS DE *Albizia lebbbeck* (L.) BENTH., E NO
CONTEÚDO ENDÓGENO DE POLIAMINAS LIVRES**

SAMARA LINHARES PEREIRA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO – UENF**

CAMPOS DOS GOYTACAZES

JULHO - 2025

**EFEITOS DA AUXINA E DO COMPOSTO ORGÂNICO ORIUNDO
DO LODO DE ESGOTO NO DESENVOLVIMENTO DE RAÍZES
ADVENTÍCIAS DE *Albizia lebbbeck* (L.) BENTH., E NO
CONTEÚDO ENDÓGENO DE POLIAMINAS LIVRES**

SAMARA LINHARES PEREIRA

“Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Vegetal”.

Orientadora: Profa. Dra. Claudete Santa-Catarina

Coorientadora: Dra. Yrexam Rodrigues de Souza Ribeiro

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO – UENF**

CAMPOS DOS GOYTACAZES

JULHO - 2025

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

P436

Pereira, Samara Linhares.

EFEITOS DA AUXINA E DO COMPOSTO ORGÂNICO ORIUNDO DO LODO DE ESGOTO NO DESENVOLVIMENTO DE RAÍZES ADVENTÍCIAS DE *Albizia lebbbeck* (L.) BENTH., E NO CONTEÚDO ENDÓGENO DE POLIAMINAS LIVRES / Samara Linhares Pereira. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

63 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, 2025.

Orientadora: Claudete Santa Catarina.

Coorientadora: Yrexam Rodrigues de Souza Ribeiro.

1. Brotações micropropagadas. 2. Ácido indol-3-butírico. 3. Enraizamento *ex vitro*. 4. Composto orgânico. 5. Poliaminas. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 660.6

**EFEITOS DE AUXINA E DO COMPOSTO ORGÂNICO ORIUNDO
DO LODO DE ESGOTO NO DESENVOLVIMENTO DE RAÍZES
ADVENTÍCIAS DE *Albizia lebbbeck* (L.) BENTH., E NO
CONTEÚDO ENDÓGENO DE POLIAMINAS LIVRES**

SAMARA LINHARES PEREIRA

“Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Vegetal”.

Aprovada em: 21 de julho de 2025.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre (D.Sc., Fitotecnia) - UFES

Prof. Dr. Felipe Astolpho de Almeida (D.Sc., Biotecnologia Vegetal) - UENF

Dra. Jussara Tamires de Souza Silva Goulart (D.Sc., Biotecnologia Vegetal) - UENF

Dra. Yrexam Rodrigues de Souza Ribeiro (D.Sc., Biociências e Biotecnologia) – UENF (Coorientadora)

Profa. Dra. Claudete Santa-Catarina (D.Sc., Biotecnologia) – UENF (Orientadora)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, com amor eterno.
À minha mãe, presente em cada conquista.
Ao meu pai (*in memoriam*), que descansa em Deus,
mas vive em minha memória.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser a base da minha existência, fonte inesgotável de força, sabedoria e consolo. A Ele, minha eterna gratidão por sustentar-me e fortalecer-me em cada passo desta jornada.

À minha amada Nossa Senhora de Fátima, por sua intercessão constante, por acolher minhas preces e me envolver com seu manto de amor e proteção nos momentos em que mais precisei. Sua presença maternal foi fonte de consolo, fé e esperança ao longo de toda esta jornada.

Aos meus amados pais e eternos exemplos, Edilson (*in memoriam*) e Nilcilene, por todo amor, apoio incondicional e por serem minha fonte constante de força e inspiração.

Ao meu irmão Simão, à minha cunhada Larissa e minha amada sobrinha e afilhada Maria Cecília, pelas palavras de incentivo, pela confiança em meu potencial e pelo constante apoio ao longo desta jornada.

Ao meu noivo Diego, por ser meu porto seguro nos momentos de incerteza. Agradeço profundamente por todo acolhimento, sensibilidade e presença constante. Sua paciência, carinho e apoio incondicional foram fundamentais para que eu seguisse firme nesta caminhada. Muito obrigada por tudo, com todo meu amor.

À minha orientadora, Profa. Dra. Claudete, por sua dedicação, paciência e orientação. Sou muito grata pelos ensinamentos e pela confiança depositada em meu trabalho.

À minha coorientadora Dra. Yrexam, pelo apoio fundamental nesta trajetória. Sou imensamente grata por sua paciência, pelos ensinamentos transmitidos com generosidade e pela orientação dedicada na condução dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Gonçalo, pela parceria e por disponibilizar seu laboratório e material de estudo, contribuindo significativamente para a realização deste trabalho.

Aos amigos do laboratório, Guilherme, Jociel, Júlia e Katherine, pelo apoio durante todas as etapas deste percurso.

À Laíse, em especial, por toda a ajuda prestada nos experimentos e pela generosidade em compartilhar conhecimentos e tempo. Sua disposição,

companheirismo e apoio foram essenciais em momentos importantes deste trabalho, tornando essa caminhada mais leve e enriquecedora.

Ao Mateus, pela paciência e orientação nas análises de poliaminas. Seu apoio foi fundamental não apenas para a execução deste trabalho, mas também para o meu conhecimento e crescimento durante essa etapa.

À Larissa, pela amizade sincera e constante ao longo dos anos. Sua presença foi fundamental em muitos momentos da minha vida, trazendo leveza, carinho e apoio, mesmo nos momentos mais difíceis.

À Daniela, minha profunda gratidão pelo acolhimento, escuta atenta e suporte constante ao longo desta jornada.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal, Margareth, pela atenção, disponibilidade e gentileza com que me atendeu sempre que precisei.

Aos membros da banca avaliadora, pela gentileza em aceitar o convite e por contribuírem com suas valiosas considerações neste momento tão importante da minha trajetória acadêmica.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade e por todo o suporte oferecido ao longo da minha formação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal, pela excelência na formação acadêmica, pela estrutura oferecida e pelo ambiente científico enriquecedor, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento profissional.

A todos que, de forma direta ou indireta, colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho e enriqueceram meu processo de aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) (Código de Financiamento 001), CNPq e FAPERJ, pelo apoio financeiro.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Mapa de ocorrência da *A. lebbeck* no Brasil (Chagas e Dutra, 2020).....**17**
- Figura 2:** Aspectos morfológicos de indivíduo adulto (A), dos frutos (B), flores (C) e sementes (D) de *A. lebbeck*. Barra = 1 cm. (Fonte das imagens: A, B e C = (Correa, 2022); D = Autora).....**18**
- Figura 3:** Aspectos morfológicos de plântulas de *A. lebbeck* aos 30 dias de germinação *in vitro* (A); segmento nodal utilizado como explante para o desenvolvimento de brotos *in vitro* (B); brotações *in vitro* aos 30 dias de cultura (C) e, brotação isolada para o enraizamento, contendo 3 folhas mais jovens (D). Barra = 1 cm. Fonte: Autora**29**
- Figura 4:** Aspectos da etapa de enraizamento *ex vitro* e aclimatização de *A. lebbeck*, mostrando a brotação transferida para copo plástico contendo substrato (A), e em seguida, mantidas em bandejas plásticas sob condições controladas de crescimento (B) e bandejas cobertas com filme plástico PVC para manutenção da umidade durante os primeiros dias da aclimatização (C). Barra = 1 cm. Fonte: Autora..... **32**
- Figura 5:** Indução de enraizamento (A), número (B) e comprimento de raízes (C) e comprimento da parte aérea (D) de mudas de *A. lebbeck* aos 55 dias de enraizamento com diferentes concentrações de AIB. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste Tukey ($P < 0,05$). CV = coeficiente de variação ($n = 10$, CV A = 33,67%, CV B = 36,66%, CV C = 51,95%, CV D = 25,79%)..... **34**
- Figura 6:** Aspecto morfológico de mudas de *A. lebbeck* após 55 dias de enraizamento e aclimatização em diferentes concentrações de AIB. Barra = 1 cm.....**35**

Figura 7: Percentagem de enraizamento (A), número (B) e comprimento de raízes (C) e comprimento da parte aérea (D) das mudas de *A. lebbeck* oriundas de brotações micropropagadas aos 55 dias de enraizamento em substrato contendo diferentes concentrações de composto orgânico oriundo do lodo de esgoto. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste Tukey ($P < 0,05$). CV = coeficiente de variação. ($n = 10$, CV A = 32,50%, CV B = 37,39%, CV C = 36,28%, CV D = 50,69%).....**36**

Figura 8: Aspecto morfológico das mudas de *A. lebbeck* após 55 dias de indução do enraizamento de brotações micropropagadas em diferentes concentrações de (0, 25, 50,75 e 100%) de composto orgânico no substrato florestal com vermiculita (1:1; v/v). Barra =1 cm.....**37**

Figura 9: Conteúdo endógeno ($\mu\text{g g}^{-1}$ MF) de Put (A), Spd (B), Spm (C) e PAs livres totais (D) durante o enraizamento *ex vitro* de *A. lebbeck*, oriundas dos segmentos nodais, mantidas nos tratamentos controle (250 μM de AIB) e composto orgânico oriundo do lodo de esgoto (25%) associado com a melhor concentração (250 μM) de AIB. Tratamento com asteriscos (*) diferem pela análise de variância ANOVA ($P < 0,05$). CV = Coeficiente de variação. ($n = 3$, CV A = 24,63%, CV B = 5,67%, CV C = 8,11%, CV D = 8,04%).....**38**

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
RESUMO	10
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Espécie de estudo	16
2.2 Propagação <i>in vitro</i>	19
2.3 Enraizamento de brotações propagadas <i>in vitro</i>	20
2.4 Composto orgânico oriundo de lodo de esgoto	23
2.5 Poliaminas (PAs)	26
3. OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo geral	28
3.2 Objetivos específicos	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 Material Vegetal e Composto Orgânico	28
4.2 Germinação e indução das brotações <i>in vitro</i>	28
4.3 Efeito do AIB no enraizamento <i>ex vitro</i> das brotações	29
4.4 Efeito do composto orgânico oriundo do lodo de esgoto no enraizamento <i>ex vitro</i>	30
4.5 Análise de PAs livres	32
4.6 Análise estatística	33
5. RESULTADOS	33
5.1 Efeito do AIB no enraizamento <i>ex vitro</i> das brotações micropropagadas ..	33
5.2 Efeito do composto orgânico no enraizamento <i>ex vitro</i>	35
5.3 Conteúdo endógeno de PAs livres de brotações no enraizamento <i>ex vitro</i>	38
6. DISCUSSÃO	38
7. CONCLUSÃO	43
8. PERSPECTIVAS FUTURAS	44
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

RESUMO

PEREIRA, Samara Linhares, M.Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, julho de 2025. EFEITOS DA AUXINA E DO COMPOSTO ORGÂNICO ORIUNDO DO LODO DE ESGOTO NO DESENVOLVIMENTO DE RAÍZES ADVENTÍCIAS DE *Albizia lebbbeck* (L.) BENTH., E NO CONTEÚDO ENDÓGENO DE POLIAMINAS LIVRES Orientadora: Profa. Dra. Claudete Santa-Catarina, Coorientadora: Dra. Yrexam Rodrigues de Souza Ribeiro.

Albizia lebbbeck (L.) Benth é uma espécie arbórea da família Fabaceae. É amplamente utilizada para fins farmacológicos, uso medicinal e fitorremediação de áreas contaminadas por metais potencialmente tóxicos. Embora existam estudos sobre a morfogênese *in vitro* dessa espécie, o enraizamento *ex vitro* de brotações provenientes de segmentos nodais não foi explorado. Nesse contexto, o ácido indol-3-butírico (AIB) associado ao composto orgânico oriundo do lodo de esgoto (1:2; v/v de lodo de esgoto e cavaco de madeira), pode representar uma alternativa promissora para otimizar essa etapa. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do composto orgânico oriundo de lodo de esgoto associados com AIB, no enraizamento de brotações micropropagadas de *A. lebbbeck* e no conteúdo endógeno de poliaminas (PAs). Para isso, brotações cultivadas *in vitro* em meio contendo 1 μM de benziladenina (BA) foram utilizadas como explantes para o enraizamento *ex vitro*. As bases das brotações foram tratadas com diferentes concentrações (0, 10, 50, 100, 250 e 500 μM) de AIB. Na etapa seguinte, brotações submetidas a concentração mais responsiva de AIB foram transferidas para substrato florestal e vermiculita (1:1; v/v) suplementados com diferentes proporções (0, 25, 50, 75 e 100%) de composto orgânico. Após 55 dias, avaliaram-se a porcentagem de indução de raízes, número, comprimento de raízes, comprimento da parte aérea e o conteúdo endógeno de PAs livres. Os resultados indicaram que 250 μM de AIB promoveu maior taxa de indução de raízes (37%), número de raízes, comprimento radicular e, comprimento da parte aérea, enquanto 500 μM de AIB foi inibitório. A adição de 25% de composto orgânico potencializou a indução de raízes (78%), número de raízes, comprimento radicular e comprimento da parte aérea, o que representou aumento de aproximadamente 110% em relação ao controle. Esse desempenho esteve associado à redução nos conteúdos endógenos de Putrescina, Espermidina, Espermina e PAs totais comparado ao controle. Conclui-se que a combinação de AIB e composto orgânico favoreceu significativamente o enraizamento *ex vitro*, modulando o conteúdo de PAs livres, otimizando o

enraizamento e aclimatização das mudas de *A. lebbeck*. Este estudo apresenta contribuições inéditas ao revelar aspectos do metabolismo de PAs durante o enraizamento *ex vitro* de brotações micropropagadas de *A. lebbeck*.

Palavras-chave: Brotações micropropagadas; ácido indol-3-butírico; enraizamento *ex vitro*; composto orgânico; poliaminas.

ABSTRACT

PEREIRA, Samara Linhares, M.Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, July 2025. EFFECT OF AUXIN AND ORGANIC COMPOUND FROM SEWAGE SLUDGE ON THE DEVELOPMENT OF ADVENTITIOUS ROOTS OF *Albizia lebbbeck* (L.) BENTH., AND ON ENDOGENOUS POLYAMINE CONTENT. Advisor: Profa. Dra. Claudete Santa-Catarina, Co-advisor: Dra. Yrexam Rodrigues de Souza Ribeiro.

Albizia lebbbeck (L.) Benth., is a tree species belonging to the Fabaceae family. It is widely used for pharmacological purposes, medicinal applications, and phytoremediation of areas contaminated with potentially toxic metals. Although studies on the *in vitro* morphogenesis of this species are available, the *ex vitro* rooting of shoots derived from nodal segments has not yet been explored. In this context, indole-3-butyric acid (IBA) combined with an organic compost derived from sewage sludge (1:2; v/v of sewage sludge and wood chips) may represent a promising alternative to optimize this stage. The objective of this study was to evaluate the effect of sewage sludge-based organic compost in association with IBA on the rooting of micropropagated *A. lebbbeck* shoots and on the endogenous content of polyamines (PAs). For this purpose, shoots cultured *in vitro* in medium supplemented with 1 μM benzyladenine (BA) were used as explants for *ex vitro* rooting. The basal portion of the shoots was treated with different concentrations of IBA (0, 10, 50, 100, 250, and 500 μM). In the subsequent step, shoots treated with the most responsive IBA concentration were transferred to a mixture of forest substrate and vermiculite (1:1; v/v) supplemented with different proportions (0, 25, 50, 75, and 100%) of organic compost. After 55 days, the percentage of root induction, number and length of roots, shoot length, and the endogenous content of free PAs were evaluated. The results indicated that 250 μM IBA promoted the highest root induction rate (37%), number of roots, root length, and shoot length, whereas 500 μM IBA was inhibitory. The addition of 25% organic compost enhanced root induction (78%), root number, root length, and shoot length, representing an increase of approximately 110% compared to the control. This performance was associated with a reduction in the endogenous contents of Put, Spd, Spm and total PAs compared to the control. It can be concluded that the combination of IBA and organic compost significantly improved *ex vitro* rooting by modulating the free PA content, thereby optimizing rooting and acclimatization of *A. lebbbeck* plantlets. This study provides novel contributions by revealing

aspects of PAs metabolism during the *ex vitro* rooting of micropropagated *A. lebbeck* shoots.

Keywords: Micropropagated shoots; indole-3-butyric acid; *ex vitro* rooting; organic compost; polyamines.

1. INTRODUÇÃO

A *Albizia lebbbeck* (L.) Benth é uma espécie arbórea da família Fabaceae, conhecida pelo nome de “Albizia”, nativa das regiões tropicais do sul da Ásia e amplamente cultivada em outras regiões tropicais e regiões subtropicais (Kirtikar e Basu, 1999). No Brasil, é encontrada em diferentes estados, em todas as regiões do Brasil (Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul) (Chagas e Dutra, 2020). Esta espécie é utilizada para o manejo ambiental, podendo ser testada em áreas contaminadas por metais potencialmente tóxicos (Perveen et al., 2012; Naveed et al., 2023). Além de suas propriedades ambientais, estudos mostram que essa espécie possui potencial farmacológico (Kamala et al., 2020; Sharma et al., 2022) e aplicações medicinais voltadas ao tratamento de diversas enfermidades, como diarreia, asma brônquica, gripe, tosse, bronquite, febre e dor (Obika e Obika, 2023)

Métodos de propagação alternativos aos convencionais, como a micropropagação, torna-se relevante para propagação de arbóreas (Sharma et al., 2023). A propagação *in vitro* apresenta diversas vantagens em comparação aos métodos convencionais, destacando-se pela elevada taxa de multiplicação e pela possibilidade de obtenção de plantas em larga escala a partir de um único explante, em um intervalo de tempo relativamente curto (Bhojwani e Dantu 2013; Mehbub et al. 2022). Estudos iniciais de propagação *in vitro* realizados para *A. lebbbeck* mostram a indução de brotações obtidas a partir de segmentos do epicótilo (Perveen et al., 2013). Pesquisas conduzidas em nosso grupo demonstraram a viabilidade da multiplicação *in vitro* dessa espécie, utilizando segmentos nodais, provenientes de plântulas germinadas em condições controladas, com a aplicação de 1 μ M de 6-benziladenina (BA) (Marinho, 2025). No entanto, não há relatos na literatura sobre o enraizamento *ex vitro* de brotações obtidas *in vitro*, a partir de segmentos nodais, para esta espécie.

O enraizamento pode ser *in vitro* ou *ex vitro*. No enraizamento *in vitro*, o regulador de crescimento é adicionado diretamente ao meio de cultura durante a fase de enraizamento. Já no *ex vitro*, as microestacas são imersas em um curto período, em solução contendo auxina antes de serem transferidas para o solo, e posteriormente para casa de vegetação ou campo (Yan et al., 2010). Adicionalmente, no enraizamento *in vitro*, é seguido da aclimatização de mudas, como em *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze (Lerin et al., 2020), ou diretamente *ex*

vitro, ocorrendo o enraizamento simultâneo a aclimatização, como em *Cedrela fissilis* Vell (Ribeiro et al., 2022). Estudos indicam que o enraizamento *ex vitro* possui custos de até 71% inferiores em comparação ao método de enraizamento *in vitro* (Ranaweera et al., 2013). Considerando o menor tempo necessário para o estabelecimento das mudas, o enraizamento *ex vitro* apresenta-se como uma alternativa mais vantajosa em comparação ao *in vitro* (Martin, 2003). Nesse sentido, as raízes que se formam a partir de tecidos não radiculares são chamadas de raízes adventícias (RAs) (Steffens e Rasmussen, 2016). Essas raízes podem se originar tanto durante os processos fisiológicos de crescimento e desenvolvimento, quanto em reação a ferimentos, ou em vários tipos de estresses ambientais (Khanam et al., 2022).

Nesse contexto, a indução radicular é comumente promovida por reguladores de crescimento vegetal, como as auxinas, frequentemente utilizadas para estimular a iniciação das RAs (Tahir et al., 2022). Entre as auxinas disponíveis, o ácido indol-3-butírico (AIB) é amplamente o mais utilizado devido à sua maior eficácia e estabilidade (Pacurar et al., 2014).

Adicionalmente, metodologias eficientes de enraizamento são essenciais para a propagação de espécies arbóreas, sendo a compostagem do lodo proveniente de estações de tratamento de esgoto, uma alternativa eficaz para sua utilização como substrato (Song e Lee, 2010). Esse processo promove a estabilização da matéria orgânica, originando um material final seguro para uso, que atende aos critérios estabelecidos por normas nacionais e internacionais para ser classificado como fertilizante orgânico (Silva et al., 2022).

O composto orgânico oriundo de lodo de esgoto apresenta melhoria das propriedades microbiológicas e bioquímicas do solo (Xue e Huang, 2013), possuindo uma gama de macronutrientes e micronutrientes, que fornecem inúmeros benefícios (Curci et al., 2020). A utilização do composto orgânico a base de lodo de esgoto compostado com o resíduo estruturante bagaço de cana-de-açúcar e suplementado com superfosfato triplo a 3%, em híbrido *Eucalypto Urograndis* (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden e *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake), proporcionou os maiores valores de altura, diâmetro, número de brotos e biomassa total das mudas. Além disso, essa combinação resultou em valores estatisticamente superiores de índice de qualidade de Dickson e biomassa de raiz (Manca et al., 2020).

Investigações sobre os níveis das poliaminas (PAs) podem fornecer informações importantes sobre seu papel na sinalização molecular e na regulação do enraizamento de brotações. Dessa forma, os processos de divisão celular, diferenciação e crescimento radicular (Couée et al., 2004), são influenciados por estes compostos policatiônicos, de baixa massa molecular, formados por bases nitrogenadas alifáticas, contendo grupos amina (Nandy et al., 2022). Nas plantas, as PAs mais estudadas são a putrescina (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm), as quais estão envolvidas nos processos de crescimento e desenvolvimento (Kusano et al., 2008). Em *Pinus virginiana* Mill foi observado que as PAs estão envolvidas no desenvolvimento de RAs, promovendo o alongamento radicular (Tang e Newton, 2005). Em *Withania somnifera* L. (Dunal), a Put aumentou o número de raízes (Sivanandhan et al., 2011). Similarmente, em *Quercus suber* L. e *Vitis vinifera* L., houve aumento significativo nos níveis de Put livre durante o enraizamento *ex vitro* (Neves et al., 2002). Neste sentido, a investigação do conteúdo de PAs durante o enraizamento pode fornecer informações sobre o envolvimento dessas moléculas na sinalização e indução do enraizamento.

A combinação de compostos orgânicos, como aqueles obtidos da compostagem de lodo de esgoto, com auxinas pode representar uma alternativa promissora para estimular o enraizamento, reduzir custos e aumentar a sustentabilidade na produção de mudas. Para compreender os efeitos dessa interação, análises bioquímicas, como níveis endógenos de PAs são essenciais, a fim de elucidar mecanismos fisiológicos envolvidos na indução do enraizamento em uma espécie arbórea com potencial farmacológico e uso medicinal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Espécie de estudo

A. lebbeck é uma espécie arbórea da família Fabaceae, conhecida pelo nome de “Albizia”, nativa das regiões tropicais do sul da Ásia (Índia, Sri Lanka, Bangladesh e Mianmar) e amplamente cultivada em outras regiões tropicais e regiões subtropicais (Kirtikar e Basu, 1999). O gênero *Albizia* compreende 150 espécies taxonomicamente aceitas (He et al., 2020).

Esta espécie é naturalizada no Brasil, sendo encontrada em diferentes Estados, em todas as regiões do Brasil (Figura 1), tais como, Norte (Tocantins), Nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte), Centro-Oeste (Distrito Federal, Mato Grosso do Sul), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina) (Chagas e Dutra, 2020).

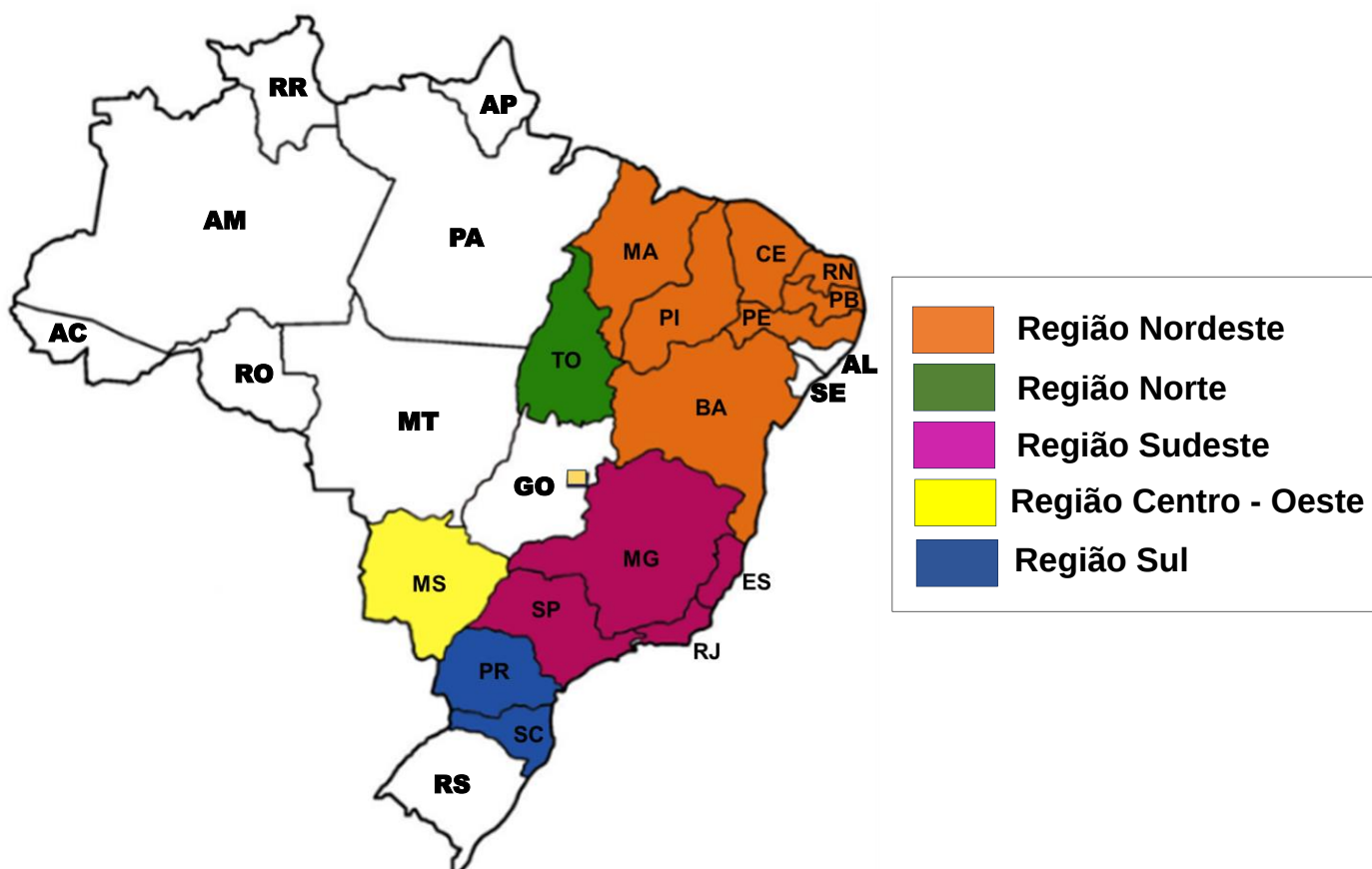


Figura 1: Mapa de ocorrência da *A. lebbeck* no Brasil (Chagas e Dutra, 2020).

Sua morfologia é caracterizada por possuir folhas bipinadas e compostas, de 3 a 9 pares, as flores amarelo-claras perfumadas e as vagens podem conter de 8 a 12 sementes, que podem permanecer na árvore por bastante tempo após a maturação, muitas vezes até a floração subsequente (Parrotta 2006; Azma et al. 2020).

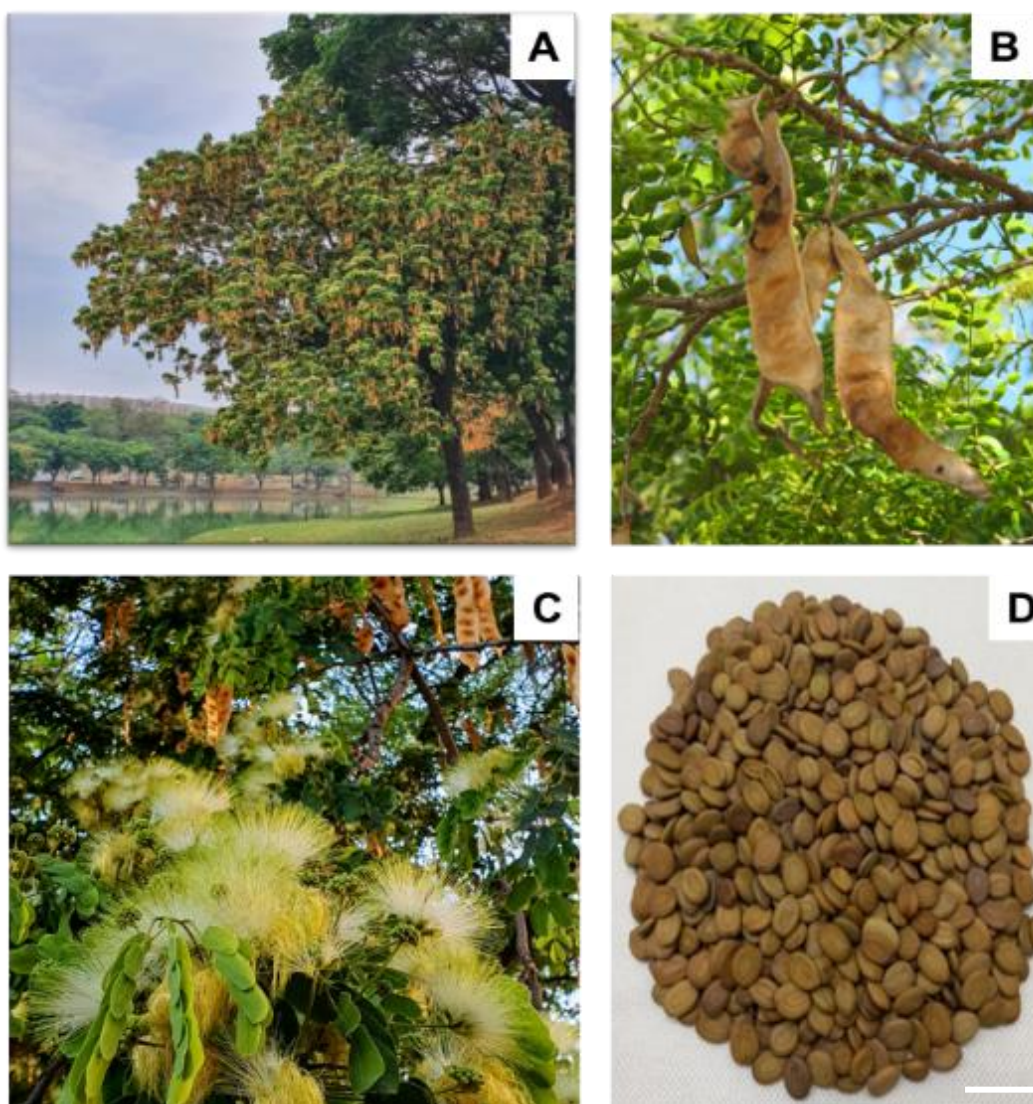


Figura 2: Aspectos morfológicos de indivíduo adulto (A), dos frutos (B), flores (C) e sementes (D) de *A. lebbeck*. Barra = 1 cm (Fonte das imagens: A, B e C = (Correa, 2022); D = Autora).

Esta arbórea é utilizada para manejo ambiental, podendo ser testada para reflorestamento ou fitorremediação de áreas contaminadas por metais potencialmente tóxicos (Perveen et al., 2012).

A. lebbeck é valorizada não apenas por suas propriedades ambientais, mas também por seu significativo potencial farmacológico e medicinal, sendo utilizada em vários países do mundo para tratar uma variedade de doenças e deficiências. É comumente utilizada no sistema ayurvédico e unani de medicamentos (Mishra et al., 2010; Bajpai et al., 2024). O uso medicinal é relatado por quase todas as partes da planta, principalmente a casca do caule e as folhas, em tratamentos psicológicos e inflamatórios, supostamente sem produzir efeitos colaterais significativos (Waseem et al., 2020). Diversos estudos

mostraram o efeito da *A. lebbeck* na ação antinociceptivo, anti-inflamatório (Babu et al., 2009; Saha e Ahmed, 2009; Avoseh et al., 2021), anticarcinogênico (Malaikolundhan et al., 2020), antimalárico (Kalia et al., 2015), antialérgico (Venkatesh et al., 2010), anti-hiperglicêmico (Patel et al., 2015), antidiabético (Ahmed et al., 2014), cicatrização de ferimentos (Bobby et al., 2012), atividades nootrópicas (Chintawar et al., 2002), antibacterianas (Shahid e Firdous, 2012) e doenças neurodegenerativas como Parkinson (Saleem et al., 2019). Esta espécie produz vários fitoquímicos, incluindo os principais alcalóides, flavonóides, saponinas e terpenóides, com utilização farmacológica (Balkrishna et al., 2022).

Dessa forma, considerando a importância ambiental, potencial farmacológico e medicinal significativo da *A. lebbeck*, torna-se relevante explorar alternativas eficientes, como a propagação *in vitro*, que permite a produção em larga escala de plantas, além de contribuir no aprofundamento e conhecimento dos mecanismos subjacentes às propriedades medicinais da espécie de estudo.

2.2 Propagação *in vitro*

A propagação *in vitro* ou micropropagação, é a propagação clonal de plantas pelo método de cultura de tecidos, onde células ou órgãos são inseridos em um meio de cultura nutritivo sob condições assépticas e, em ambientes controlados (Debnath e Arigundam, 2020; Cardoso et al., 2022). Segundo Haberlandt, 1902, o potencial que uma célula possui para crescer e desenvolver-se em uma estrutura multicelular é denominado totipotência celular. Este potencial é amplamente demonstrado em diversos estudos, sendo o princípio básico da micropropagação, conservação de germoplasma e obtenção de plantas geneticamente modificadas (Thorpe, 2007; Bidabadi e Jain, 2020).

A micropropagação proporciona vantagens comparativamente aos métodos convencionais de propagação, pois permite a produção de um grande número de plantas a partir de um único indivíduo em um período de tempo relativamente curto. Além disso, possibilita a conservação de recursos genéticos, a obtenção de material vegetal livre de doenças, e a produção de mudas independente de fatores climáticos e estações do ano (Moraes et al., 2021; Thiem et al., 2023).

O processo de micropropagação divide-se em várias fases, incluindo a seleção do explante, o estabelecimento da cultura *in vitro*, multiplicação de brotações, enraizamento e aclimatização (Singh e Singh, 2021). Além do tipo de explante, a composição dos meios de cultura, especialmente os sais minerais e reguladores de crescimento vegetal, são fundamentais para obtenção de altas taxas de propagação (Leva, 2011; Radomir et al., 2023).

Entre os reguladores de crescimento vegetal, as auxinas e as citocininas destacam-se por seu papel fundamental na regulação da morfogênese. De modo geral, altas proporções de auxina em relação a citocinina favorecem a indução radicular, enquanto a predominância de citocinina estimula o desenvolvimento de brotações (Kaszler et al., 2021). Nesse contexto, o uso de citocininas é necessário para estimular o desenvolvimento das gemas axilares em diversas espécies. Em *C. fissilis* e *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth, a suplementação com 2,5 μM de BA promoveu o desenvolvimento de brotações *in vitro* a partir de segmentos nodais apicais e cotiledonares (Aragão et al., 2016; Pessanha et al., 2022). Além disso, o uso de segmentos nodais contendo gemas axilares obtidos de plântulas germinadas *in vitro* tem-se mostrado uma estratégia amplamente empregada para obtenção de brotações em várias espécies arbóreas (Aragão et al., 2016; Aragão et al., 2017; Lerin et al., 2019; Oliveira et al., 2020; Pessanha et al., 2022; Ribeiro et al., 2022).

Estudos iniciais de propagação *in vitro* realizados para *A. lebbeck* mostram a indução direta de gemas adventícias de brotações obtidas a partir de segmentos do epicótilo cultivadas em meio de cultura Murashige e Skoog (MS) (Murashige e Skoog, 1962) com 5,0 μM de thidiazuron (TDZ) (Perveen et al., 2013). Estudos realizados em nosso grupo mostram a propagação *in vitro* desta espécie a partir de segmentos nodais obtidos de plântulas germinadas *in vitro*, com o uso de 1 μM BA (Marinho, 2025)

Entretanto, o enraizamento *ex vitro* de brotações obtidas a partir de segmentos nodais ainda não foram realizados para esta espécie.

2.3 Enraizamento de brotações propagadas *in vitro*

As brotações propagadas *in vitro* precisam desenvolver raízes para finalizar o processo de produção de mudas. Nesta fase, ocorrem a formação de RAs, um processo de organogênese pós-embrionária, que se inicia a partir de

células localizadas próximas ao xilema ou de seus elementos constituintes, incluindo células do floema, do tecido lenhoso, do câmbio vascular ou de células que estabelecem conexão entre o câmbio e o floema, geralmente posicionadas em regiões ricas em hormônios e carboidratos (Pizarro e Díaz-Sala, 2019; Jagiełło-Kubiec et al., 2021). Essas raízes, pós-embrionárias, são estruturas que podem surgir de caules, folhas ou órgãos vegetativos não radiculares, tanto sob condições normais quanto em resposta ao estresse (Gonin et al., 2019).

A formação de RAs é um processo de desenvolvimento altamente regulado, dividido em três fases principais. Primeiramente, ocorre a especificação e reprogramação celular de células diferenciadas do caule, conhecidas como células similares ao periciclo (*pericycle-like cells*) as quais entram em divisão celular e reprogramadas para células fundadoras de RAs. Em seguida, durante a fase de iniciação, essas células fundadoras sofrem múltiplas divisões celulares, originando os primórdios radiculares. Finalmente, ocorre a diferenciação e crescimento desses primórdios formando as RAs (Lakehal e Bellini, 2019). Esse processo é desencadeado e regulado por uma combinação de fatores endógenos e ambientais, incluindo temperatura, luminosidade, fitormônios, em especial a auxina, nutrientes minerais e outras substâncias bioativas. Os reguladores de crescimento vegetal podem atuar de forma direta, promovendo divisão e alongamento celular, ou indireta, por meio da interação com outros hormônios ou compostos sinalizadores (Pop et al., 2011; Rademacher, 2015).

Além disso, os hormônios vegetais atuam como sinais químicos essenciais para diversos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, regulando suas respostas ao ambiente (Bari e Jones, 2009; Jiang e Asami, 2018). Durante a formação do sistema radicular, a planta demonstra elevada plasticidade, resultando da condução seletiva dos fitohormônios. Essa condução ativa vias genéticas e epigenéticas que favorecem respostas adaptativas, promovendo tanto a sobrevivência quanto o crescimento eficiente da planta (Brunoni et al., 2022)

O enraizamento de brotações micropropagadas pode ser realizado de duas formas: *in vitro* e *ex vitro*. No enraizamento *in vitro*, a indução radicular é realizada em um meio de cultura, com o uso ou não de auxina, seguido da posterior transferência da brotação enraizada para o substrato visando à

aclimatização. Por outro lado, no *ex vitro*, as brotações são transferidas diretamente para o substrato, sendo previamente tratadas com auxinas em maiores concentrações e por tempos curtos, geralmente minutos. Neste processo ocorre o enraizamento simultaneamente ao processo de aclimatização das mudas (Leitzke et al., 2009; Yan et al., 2010).

A aclimatização é um processo crucial na propagação *in vitro* de plantas, pois envolve a transição gradual das condições controladas de cultivo *in vitro*, marcado por um ambiente estéril e com alta umidade relativa, para a condição *ex vitro*, com reduzida umidade e presença de microrganismos diversos. Durante essa fase, é fundamental assegurar condições ideais de temperatura e umidade até ocorrer o enraizamento e aclimatização, permitindo altas taxas de sobrevivência (Clapa et al., 2013; Rescalvo-Morales et al., 2019).

O enraizamento *ex vitro* oferece inúmeras vantagens em comparação com o enraizamento *in vitro*. Além de ser mais econômico, requer menos mão de obra, economia de tempo no processo e, reduz a necessidade de produtos químicos e equipamentos (Yan et al., 2010). Ademais, estudos mostram que as plantas enraizadas *ex vitro* possuem bom desempenho na aclimatização devido ao desenvolvimento de pelos radiculares e conexões vasculares eficientes entre raiz e parte aérea, o que melhora sua adaptação (Arora et al., 2022).

O sucesso na transição *in vitro* para *ex vitro* vai depender de espécie para espécie, e dos fatores associados, como a concentração ideal de auxina para promover o enraizamento. As auxinas são compostos de baixa massa molecular induzem sinais bioquímicos, fisiológicos, moleculares e genéticos que resultam na iniciação, indução e formação das RAs (Dinesh et al., 2019; Gomes e Scortecchi, 2021), atuando em processos como a formação de RAs e dominância apical, desenvolvimento embrionário além de mediar repostas a estímulos ambientais, como gravitropismo e fototropismo (Du et al., 2020).

O ácido indol-3-acético (AIA), é a auxina predominante nas plantas, sendo conhecida como regulador chave no processo de indução de raízes (Woodward e Bartel, 2005), atuando no controle da organização do meristema radicular e nos processos de divisão e diferenciação celular que formam novos tecidos (Brunoni et al., 2022), incluindo RAs. A aplicação de auxinas exógenas torna-se essencial quando os níveis endógenos de AIA não são suficientes para induzir o enraizamento (Ribeiro et al., 2022). As etapas

iniciais da formação do sistema radicular adventício envolvem a formação de um gradiente de AIA e seu acúmulo em células específicas, através do transporte polar de auxina, da biossíntese, conjugação e degradação local da auxina (Adamowski e Friml, 2015; Lakehal e Bellini, 2019). O transporte do AIA acontece no sentido basípeto, que pode ocorrer por difusão passiva, quando a molécula está protonada, entrando facilmente nas células (auxiliada por transportadores AUX/LAX), ou por transporte ativo secundário, responsável pela movimentação da forma ionizada do AIA. Já o efluxo da auxina é mediado por proteínas transportadoras de membrana, chamadas PIN-FORMED (PIN), que direcionam seu fluxo celular (Kramer e Bennett, 2006; Van Berkel et al., 2013).

Entre as auxinas sintéticas o AIB, é a mais utilizada para indução do enraizamento adventício, devido a sua alta estabilidade à fotodegradação em relação as outras auxinas, além da sua fácil translocação através dos tecidos vegetais (Hartmann, 1997; Pacurar et al., 2014; Fattorini et al., 2017). A aplicação do AIB, favorece tanto a porcentagem quanto a qualidade do enraizamento. A necessidade de auxina para o enraizamento depende de espécie para espécie, sendo essencial para aquelas que possuem dificuldades de enraizamento das brotações, como *C. legalis* (Lerin et al., 2020). Entretanto, espécies como *C. fissilis* e *D. nigra* apresentam facilidade de desenvolvimento de RAs, não havendo necessidade da aplicação de AIB para que seu enraizamento seja induzido (Aragão et al., 2016; Aragão et al., 2017; Pessanha et al., 2022; Ribeiro et al., 2022).

Estudos prévios mostram que brotações micropropagadas de *A. lebbeck*, obtidas a partir de epicótilos necessitam de auxinas para induzir o enraizamento (Perveen et al., 2013). Novos estudos testando diferentes concentrações de AIB em brotações oriundas de segmentos nodais no enraizamento *ex vitro*, e de aditivos ao substrato de enraizamento, como o composto orgânico, são importantes para otimização desta etapa de propagação para esta espécie.

2.4 Composto orgânico oriundo de lodo de esgoto

No enraizamento, o substrato é essencial e um dos principais insumos no processo de produção de mudas (Pessanha et al., 2022; Ribeiro et al., 2022). A escolha do substrato define a disponibilidade de água, ar e nutrientes para as

raízes, sendo crucial para o manejo adequado das plantas cultivadas em recipientes (Schafer e Lerner, 2022).

Nesse contexto, a escolha do substrato de cultivo é determinante para garantir mudas de elevada qualidade, ao mesmo tempo que contribui para a redução dos custos totais de produção, uma vez que essa fase exerce grande impacto sobre elas (Manca et al., 2020). De forma geral, estudos com enraizamento *ex vitro* em arbóreas mostram que o substrato florestal e vermiculita (1:1; V/V) tem sido utilizado em algumas espécies, como *C. fissilis* (Ribeiro et al., 2022) e *D. nigra* (Pessanha et al., 2022).

O lodo de esgoto é um subproduto gerado nas estações de tratamento de efluentes, originado a partir de processos físico-químicos e biológicos empregados no tratamento de águas residuais (Fijałkowski e Kwarciak-Kozłowska, 2021). Estudos indicam que, o lodo de esgoto quando compostado juntamente com materiais estruturantes, apresenta grande potencial como substrato na produção de mudas de espécies florestais e arbóreas, sendo essenciais para a produção de mudas de qualidade (Silva et al., 2018; Silva et al., 2021). Dessa forma, o aproveitamento do lodo de esgoto como substrato alternativo pode reduzir custos de produção e contribuir para conter a degradação dos biomas brasileiros, sendo uma alternativa relevante para a produção de mudas destinadas à recuperação de áreas degradadas e à recomposição florestal (Melo et al., 2021).

A compostagem é um processo biotecnológico que transforma resíduos orgânicos, como o lodo de esgoto, em material seguro, higiênico e rico em matéria orgânica, visando objetivos como sanitização, digestão aeróbica, desidratação e geração de composto utilizável comercialmente e ambientalmente (Picariello et al., 2020; Kosobucki, 2024). Além de ser amplamente reconhecida como uma alternativa eficiente para o gerenciamento de lodo de esgoto, a compostagem contribui significativamente para a redução de seu volume no ambiente (Nguyen e Shima, 2019). Esta metodologia pode ser empregada no tratamento do lodo antes do seu descarte, ajudando a reduzir o risco de poluição ambiental, ameaças à saúde pública e custos elevados associados ao seu gerenciamento (Vráblová et al., 2024).

Com tratamento e tecnologias adequadas, o lodo de esgoto pode ser convertido em um recurso útil, como fertilizante, o qual pode ser utilizado para

recuperação de áreas ambientais ou como fonte de energia, sendo essencial garantir sua qualidade por meio de controle e monitoramento químico (Janaszek et al., 2024).

As possibilidades de sua utilização estão diretamente relacionadas a sua composição e volume, aos métodos utilizados na estação de tratamento onde é gerado, além de normas e diretrizes estabelecidas em nível nacional (Delíbacak e Voronína, 2020). O aproveitamento do lodo de esgoto em atividades produtivas requer a conformidade com normas legais específicas, tais como a Resolução CONAMA nº 498/2020 no Brasil (CONAMA, 2020), a regulamentação norte-americana 40 CFR Part 503 (USEPA, 1994) e a Diretiva 86/278 da União Europeia (ECC, 1986). Dessa forma, o uso do lodo de esgoto após compostagem representa uma alternativa mais segura para aplicação em áreas agrícolas e florestais, bem como na formulação de substratos para produção de mudas, contribuindo para a redução dos riscos de contaminação no ambiente e favorecer a fertilidade do solo e o crescimento das plantas (Cardoso et al., 2022). O papel fertilizante do lodo de esgoto, são relatados em muitos estudos (Chojnacka et al., 2023; Sugurbekova et al., 2023).

Adicionalmente, estudos com o uso do composto orgânico proveniente do lodo de esgoto para compor os substratos de enraizamento são importantes para a sua utilização como fonte alternativa de nutrientes no substrato, uma vez que esse composto é rico em matéria orgânica (Delgado et al., 2017). Seu alto teor de matéria orgânica contribui significativamente para a melhoria da estrutura física do solo, favorece retenção de umidade, promove sistemas radiculares mais saudáveis e um importante papel como condicionador de solo (Balkrishna et al., 2025). Por ser uma fonte rica de nutrientes, como nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), pode representar uma alternativa sustentável aos fertilizantes minerais, com aplicações potenciais na agricultura e silvicultura, ou como um componente para melhorar a qualidade do solo (Gabira et al., 2021; Tymchuk et al., 2021). Ademais, esse componente é uma fonte de macro e micronutrientes essenciais ao crescimento vegetal, colaborando para a recuperação da fertilidade e da saúde do solo de forma gradual e eficiente (Usman et al., 2012a).

Em espécies arbóreas, especialmente em estudos que avaliam o uso de composto orgânico oriundo de lodo de esgoto como substrato foi mostrado um crescimento significativo das mudas (Manca et al., 2020). Na espécie *Acacia*

mangium C. L. Willdenow (Fabaceae), um estudo mostra que, a aplicação de 40% lodo de esgoto compostado combinado com 60% vermiculita proporcionou o crescimento expressivo das mudas, destacando-se em características biométricas como altura do caule, diâmetro do caule e produção de matéria seca da raiz. Os resultados indicaram que o uso de composto orgânico oriundo de lodo de esgoto como componente do substrato demonstrou ser eficaz, melhorando as características físicas, químicas e biológicas, resultando em mudas de melhor qualidade (Caldeira et al., 2018).

Adicionalmente, estudos mostram que plântulas de *C. fissilis* oriundas de sementes cultivadas em substratos à base de composto orgânico obtido de lodo de esgoto compostado com resíduos estruturantes, como casca de *Eucalyptus* (1:3 v:v) apresentaram maior diâmetro do caule e maior massa seca da parte aérea e raízes, além de uma maior taxa de assimilação de carbono e eficiência no uso da água, indicando melhor desenvolvimento fisiológico e morfológico das mudas (Gabira et al., 2021).

Ainda, cabe ressaltar que a aplicação do composto orgânico no solo a fim de compor substratos de espécies arbóreas e florestais, atende ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 12 da Agenda 2030 para o desenvolvimento sustentável, da Organização das Nações Unidas, que visa reduzir substancialmente a geração de resíduos por meio da prevenção, redução, reciclagem e reuso (ONU, 2015).

Embora diversos estudos tenham elucidado os efeitos da aplicação do composto orgânico proveniente de lodo de esgoto em espécies arbóreas e florestais, pesquisas utilizando este composto no enraizamento em *A. lebbeck* ainda não foram realizados. Ademais, além de elucidar o uso deste composto para o desenvolvimento de RAs de *A. lebbeck*, destaca-se a importância de conhecer alterações no conteúdo endógeno de compostos sinalizadores envolvidos em processos de crescimento e desenvolvimento, como as PAs. Esta abordagem pode ser uma estratégia para compreender os processos fisiológicos envolvidos no enraizamento de brotações micropropagadas.

2.5 Poliaminas (PAs)

As PAs são compostos orgânicos alifáticos, policatiônicos que contêm dois ou mais grupos amino, presentes em todos os organismos vivos (Rakesh et

al., 2021). As PAs tiveram suas funções biológicas inicialmente atribuídas a habilidade de interagir com macromoléculas de carga negativa sendo, por isso, classificadas como polycations, com funções estruturais distintas (Alcázar et al., 2010; Tiburcio et al., 2014) Contribuem para a estabilização de membranas, do DNA e de diversas biomoléculas, além de desempenharem papéis importantes na compactação da cromatina, no processamento do RNA, na tradução e na ativação de proteínas (Amiri et al., 2024).

Estas moléculas são essenciais no crescimento e no desenvolvimento, assim como na germinação, embriogênese, organogênese, no florescimento, em brotações propagadas *in vitro* e enraizamento (Kumar et al., 2008; Aragão et al., 2016; Aragão et al., 2017; Lerin et al., 2019; Killiny e Nehela, 2020; Ajithan et al., 2022; Ribeiro et al., 2024). Nas plantas, as PAs mais envolvidas nos processos de crescimento e desenvolvimento são a Put, Spd e Spm (Kusano et al., 2008).

A Put é sintetizada a partir dos aminoácidos arginina e ornitina, através da ação das enzimas arginina descarboxilase (ADC) e ornitina descarboxilase (ODC), respectivamente. Para a biossíntese de Spd e Spm, são necessários grupos aminopropil provenientes do aminoácido metionina, obtidos via a rota da S-adenosil-metionina (SAM), sob a ação da enzima SAM descarboxilase (SAMDC). Assim, a Spd é formada a partir da Put, com a adição de um grupo aminopropil, catalisada pela enzima Spd sintase (SPDS). A Spd é então convertida em Spm pela adição de outro grupo aminopropil, pela ação da enzima Spm sintase (SPMS). O catabolismo de Put, Spd e Spm ocorre através da ação das enzimas diamina oxidase (DAO) e PA oxidase (PAO) (Kusano et al., 2008).

Assim como as auxinas, as PAs estão envolvidas em processos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, atuando no crescimento das raízes primárias e na formação de raízes laterais e adventícias (Naija et al., 2009; Tisi et al., 2011). Evidências mostram que as PAs, estão envolvidas no desenvolvimento de RAs, como demonstrado em *Pinus virginiana* Mill., onde Spd, Spm e Put, promoveram o alongamento radicular (Tang e Newton, 2005b). Em *C. fissilis*, foi mostrado que Put aumentou significativamente o comprimento das RAs (Ribeiro et al., 2024).

Dada a importância das PAs no processo de enraizamento, estudos relacionados ao metabolismo destas moléculas são cruciais para elucidar a atuação no enraizamento de brotações.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do composto orgânico oriundo de lodo de esgoto associados com AIB, no enraizamento de brotações micropropagadas de *A. lebbeck* e no conteúdo endógeno de PAs.

3.2 Objetivos específicos

- A. Avaliar o efeito de diferentes concentrações de AIB no enraizamento *ex vitro* de brotações micropropagadas;
- B. Verificar a influência do composto orgânico no desenvolvimento radicular e a qualidade das mudas durante o enraizamento *ex vitro*;
- C. Identificar alterações no conteúdo endógeno de PAs no enraizamento *ex vitro* de mudas micropropagadas tratadas ou não com composto orgânico.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material Vegetal e Composto Orgânico

O material vegetal utilizado para os experimentos de enraizamento foram brotações micropropagadas com 30 dias de cultura *in vitro*. Para a obtenção das brotações, sementes de *A. lebbeck* foram obtidas do viveiro Caiçara, localizado na cidade de Brejo Alegre - SP, e germinadas *in vitro*. Plântulas com 30 dias foram utilizadas como fonte de explantes (segmentos nodais) para a obtenção das brotações.

O composto orgânico foi adquirido através da bioconversão do lodo de esgoto gerado na Estação de Tratamento de Esgoto da Esplanada, Concessionária Águas do Rio, em Campos dos Goytacazes – RJ. Este composto orgânico contém proporção de 1 parte de lodo para 2 de cavaco de madeira.

4.2 Germinação das sementes e indução das brotações *in vitro*

A escarificação mecânica das sementes foi realizada com cortador tipo unha e a assepsia foi realizada conforme (Marinho, 2025). Para tanto, as sementes foram lavadas cinco vezes com água deionizada (Gehaka®) autoclavada em autoclave, e posteriormente lavadas em câmara de fluxo laminar

(200 mL). As sementes foram transferidas para tubos de cultura (30 mL), contendo 10 mL de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com (20 gL⁻¹) de sacarose e (2 gL⁻¹) de Gellan Gum (Phytigel™). O pH foi ajustado para 5,7 antes de ser autoclavado a 121 °C por 15 minutos. Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16 horas, com intensidade luminosa de 45 µmol m⁻² s⁻¹ e a 25 ± 2 °C.

Plântulas com 30 dias de germinação *in vitro* (Figura 3A) foram utilizadas para separação de segmentos nodais (Figura 3B) e utilizados como fonte de explantes para a indução de brotações (Figura 3C). Os explantes foram inoculados em meio de cultura MS suplementado com (20 gL⁻¹) de sacarose, e (2 gL⁻¹) de Gellan Gum (Phytigel™) e 1 µM de benziladenina (BA). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem a 121 °C, a 15 atm por 20 minutos. Após a inoculação, os explantes foram incubados por 30 dias em sala de cultura, com fotoperíodo de 16 h de luz, a 45 µmol m⁻² s⁻¹ e a 25 ± 2 °C.

Após 30 dias, as brotações com 2,5 a 3,5 cm de comprimento contendo o meristema apical e três folhas principais foram isoladas e utilizadas para o enraizamento (Figura 3D).

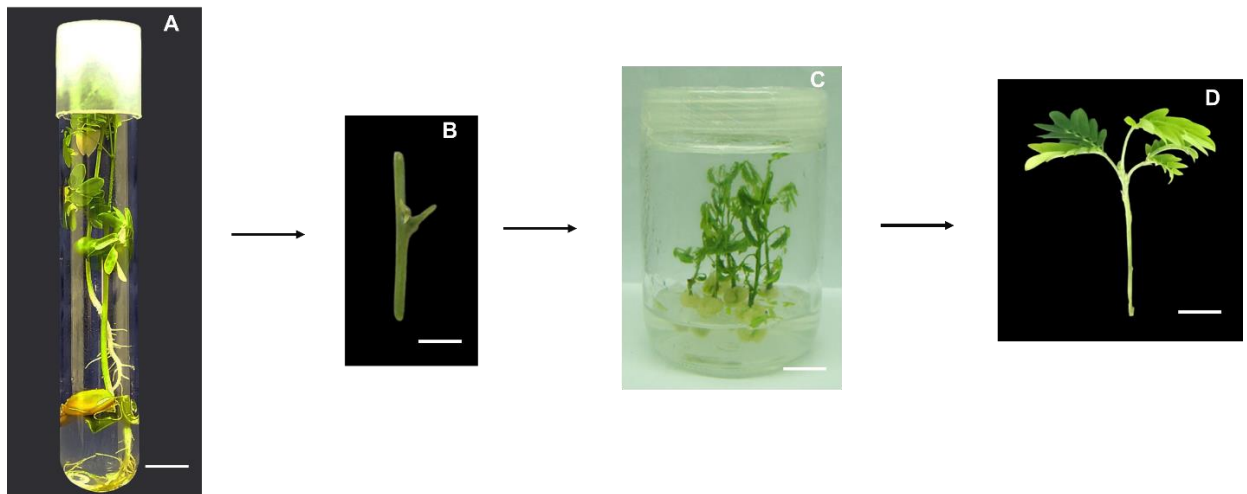


Figura 3: Aspectos morfológicos de plântulas de *A. lebbeck* aos 30 dias de germinação *in vitro* (A); segmento nodal utilizado como explante para o desenvolvimento de brotos *in vitro* (B); brotações *in vitro* aos 30 dias de cultura (C) e, brotação isolada para o enraizamento, contendo 3 folhas mais jovens (D). Barra = 1 cm. Fonte imagens: Autora.

4.3 Efeito do AIB no enraizamento *ex vitro* das brotações

Para o enraizamento, a base das brotações com (2,5 a 3,5 cm) foi imersa em diferentes concentrações (0, 10, 50, 100, 250 e 500 μM) de AIB (Sigma-Aldrich®), por 1 minuto. Em seguida, as brotações foram transferidas para copos plásticos (50 mL) contendo substrato florestal (Basaplant®) e vermiculita na proporção de 1:1 (v/v). Os tratamentos foram homogeneizados manualmente de forma repetida, assegurando a uniformidade dos componentes.

Após a transferência, os copos foram inseridos em bandejas plásticas, e mantidas em sala de enraizamento. As bandejas foram inicialmente seladas com plástico filme PVC para garantir uma elevada umidade relativa, contendo uma fina espessura de água no fundo da bandeja. Após 25 dias, iniciou-se gradualmente a redução da umidade interna das bandejas. Esse procedimento consistiu na perfuração controlada do filme de PVC, iniciando-se com dois furos padronizados. Em seguida, novos furos foram realizados em dias alternados, acrescentando-se sempre dois furos por vez, até atingir o total de 10 furos. Esse método foi conduzido de forma progressiva até a remoção completa do revestimento plástico, realizada no 35º dia após o início da fase de enraizamento.

A fase de enraizamento ocorreu simultaneamente à fase de aclimatização em sala de enraizamento, em condições controladas, com fotoperíodo de 16 horas de luz, intensidade luminosa de $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ temperatura de $25 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 1 x 5, sendo brotações oriundas de tipos de explantes (segmentos nodais) e cinco concentrações de AIB. Cada tratamento foi composto por 10 repetições, cada repetição contendo 5 brotações, totalizando 50 brotações por tratamento.

Após 55 dias foram avaliados a indução, número e comprimento de raízes e da parte aérea das brotações durante o enraizamento.

4.4 Efeito do composto orgânico oriundo do lodo de esgoto no enraizamento *ex vitro*

Foram utilizadas brotações com (2,5 a 3,5 cm). A base das brotações foi imersa na concentração mais responsiva de AIB previamente identificada, por 1 minuto para cada brotação. Em seguida, as brotações foram transferidas para copos plásticos (50 mL) contendo substrato florestal (Basaplant®) e vermiculita na proporção de 1:1 (v/v), adicionado a diferentes concentrações (0, 25, 50, 75

e 100%) do composto orgânico (Figura 4A). Os tratamentos foram homogeneizados manualmente de forma repetida, assegurando a uniformidade dos componentes.

Após a transferência das brotações, os copos foram inseridos em bandejas plásticas, e mantidas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz, intensidade luminosa de $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e temperatura de 25 ± 2 °C (Figura 4B).

As bandejas foram inicialmente seladas com plástico filme PVC para garantir uma elevada umidade relativa, contendo uma fina espessura de água no fundo da bandeja (Figura 4C). Após 25 dias, iniciou-se gradualmente a redução da umidade interna por meio da perfuração do plástico. Esse procedimento consistiu na perfuração controlada e padronizada do filme de PVC, iniciando-se com dois furos. Em seguida, novos furos foram realizados em dias alternados, acrescentando-se sempre dois furos por vez, até atingir o total de 10 furos. Esse método foi conduzido de forma progressiva até a remoção completa do revestimento plástico, realizada no 35º dia após o início da fase de enraizamento.

Após 55 dias foram avaliados a indução, número e comprimento de raízes e da parte aérea das brotações durante o enraizamento.

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 1 x 5, sendo brotações oriundas de tipos de explantes (segmentos nodais) e cinco concentrações de composto orgânico, associada com a suplementada com a concentração de AIB mais responsiva. Cada tratamento foi composto por 10 repetições, cada repetição contendo 5 brotações, totalizando 50 brotações por tratamento.

Amostras do tratamento controle e do tratamento com composto orgânico que proporcionaram melhor resposta ao enraizamento, foram coletadas para análises de PAs.



Figura 4: Aspectos da etapa de enraizamento *ex vitro* e aclimatização de *A. lebbeck*, mostrando a brotação transferida para copo plástico contendo substrato (A), e em seguida, mantidas em bandejas plásticas sob condições controladas de crescimento (B) e em bandejas cobertas com filme plástico PVC para manutenção da umidade durante os primeiros dias da aclimatização (C). Barra = 1 cm. Fonte: Autora.

4.5 Análise de PAs livres

As PAs foram extraídas de acordo com Silveira et al., 2004, com modificações. Amostras (200 mg de massa fresca - MF), em triplicata biológica, foram maceradas com nitrogênio líquido. Em seguida, foram adicionados em cada amostra 1 mL de ácido perclórico à 5%, mantidas em gelo por 1 hora e centrifugadas a 20.000xg por 20 minutos à 4 °C. Foi obtido o sobrenadante que contém as PAs livres. Em seguida as PAs livres foram dansiladas. Para tanto, 40 µL da amostra do sobrenadante obtido contendo as PAs foram misturados com 20 µL de 0,05 mM de 1,7- diaminoheptano (DAH) utilizado como padrão interno, 50 µL de solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e 100 µL de cloreto de dansil (5 mg mL⁻¹ de acetona; 1,8 mM). Após a mistura, as amostras foram incubadas no escuro por 50 minutos à 70 °C. O excesso de cloreto de dansil foi removido pela adição de 25 µL de solução de prolina (100 mg mL⁻¹) com posterior incubação por 30 minutos no escuro, em temperatura ambiente. As PAs dansiladas foram particionadas com 200 µL de tolueno, e 175 µL da fase apolar (orgânica) que contém as PAs foi coletada, seca sob jato de nitrogênio, e ressuspendida em 175 µL de acetonitrila absoluta. A identificação e quantificação das PAs foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, com coluna C18 de fase reversa (Shimadzu Shim-pack CLC ODS) de 5 µm. Como solvente foram utilizados acetonitrila 10% em água, pH 3,5 ajustado com HCl 1N (solvente A) e acetonitrila absoluta (solvente B). O detector de fluorescência foi ajustado para excitação à 340 nm e emissão em 510 nm. As áreas dos picos e os tempos de retenção de cada PAs foram avaliados por comparação com PAs padrão em concentrações conhecidas Put, Spd e Spm.

4.6 Análise estatística

Os experimentos foram realizados utilizando um planejamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey (5%) (Tukey, 1949). Antes da ANOVA, o teste de Shapiro-Wilk foi realizado para avaliar a normalidade dos dados. Foi utilizado o software R Core Team (2024) (R Foundation for Statistical Computing, versão 4.4.2, 2024, Viena, Áustria).

5. RESULTADOS

5.1 Efeito do AIB no enraizamento *ex vitro* das brotações micropropagadas

A indução de RAs foi maior (37%) na concentração de 250 μM de AIB (Figura 5A), não diferindo significativamente da concentração de 100 μM . Quanto ao número de RAs, as brotações também apresentaram maior número no tratamento com 250 μM de AIB, não diferindo significativamente de 50 e 100 μM (Figura 5B). Comprimentos significativamente superiores de RAs foram obtidos nas concentrações de 10 e 250 μM de AIB (Figura 5C). Em relação ao comprimento da parte aérea, a concentração de 250 μM de AIB resultou no maior crescimento, não diferindo significativamente de 50 e 100 μM (Figura 5D). Por outro lado, a ausência de AIB e a concentração 500 μM mostraram-se menos eficientes para a formação e desenvolvimento de RAs em comparação as demais, mostrando efeito inibitório na maior concentração de AIB (Figura 5A-D).

As brotações cultivadas com 250 μM de AIB apresentaram maior desempenho morfológico, evidenciado pelo aumento significativo no comprimento radicular, maior número de RAs e maior comprimento da parte aérea, em comparação com as demais concentrações testadas (Figura 6).

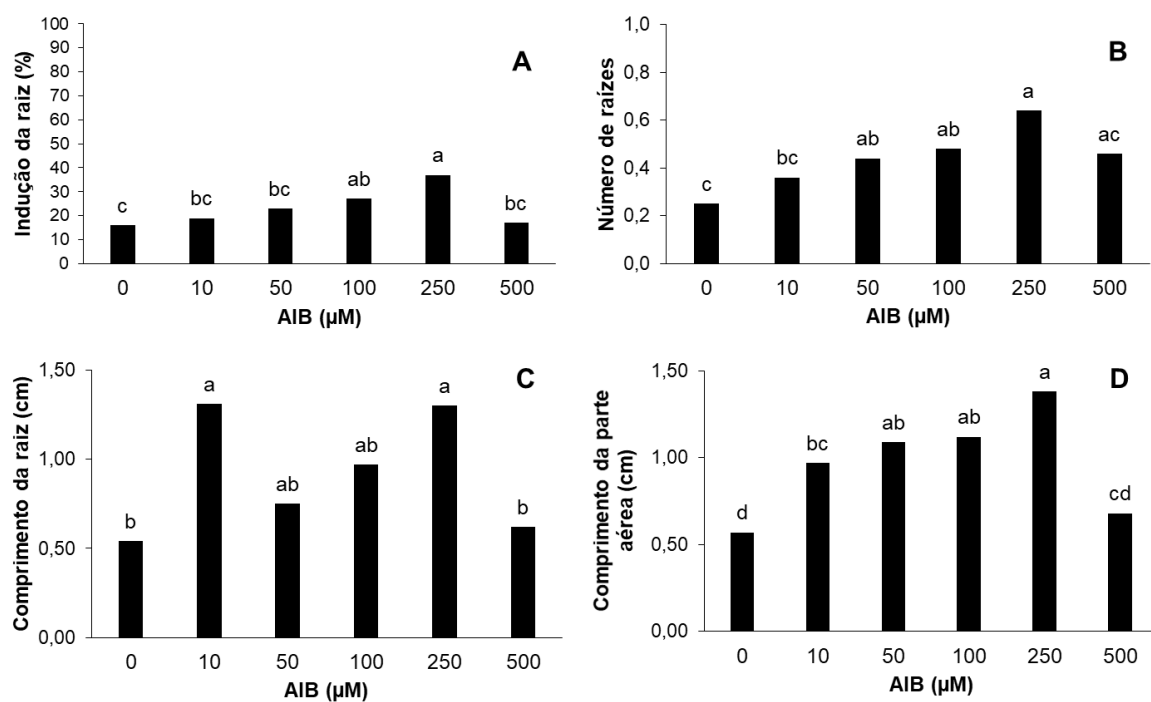


Figura 5: Indução de enraizamento (A), número (B) e comprimento de raízes (C) e comprimento da parte aérea (D) de mudas de *A. lebbbeck* aos 55 dias de enraizamento com diferentes concentrações de AIB. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste Tukey ($P < 0,05$). CV = coeficiente de variação ($n = 10$, CV A = 33,67%, CV B = 36,66%, CV C = 51,95%, CV D = 25,79%).



Figura 6: Aspecto morfológico de mudas de *A. lebbeck* após 55 dias de enraizamento e aclimatização em diferentes concentrações de AIB. Barra = 1 cm.

5.2 Efeito do composto orgânico no enraizamento *ex vitro*

As concentrações de 25 e 50% de composto orgânico promoveram a indução significativa de RAs nas brotações micropropagadas (Figura 7A). O número (Figura 7B) e o comprimento (Figura 7C) de RAs foi significativo nas brotações incubadas com 25% de composto orgânico no substrato, evidenciando a eficácia dessa concentração na promoção do desenvolvimento de raízes. O comprimento da parte aérea também foi superior nas concentrações de 25 e 50% de composto orgânico (Figura 7D).

As brotações apresentaram maior desenvolvimento morfológico quando enraizadas com 25% de composto orgânico no substrato, em comparação com as demais concentrações testadas, evidenciado pelo aumento significativo no

comprimento radicular, maior número de RAs e maior comprimento da parte aérea, em comparação com as demais concentrações testadas (Figura 8).

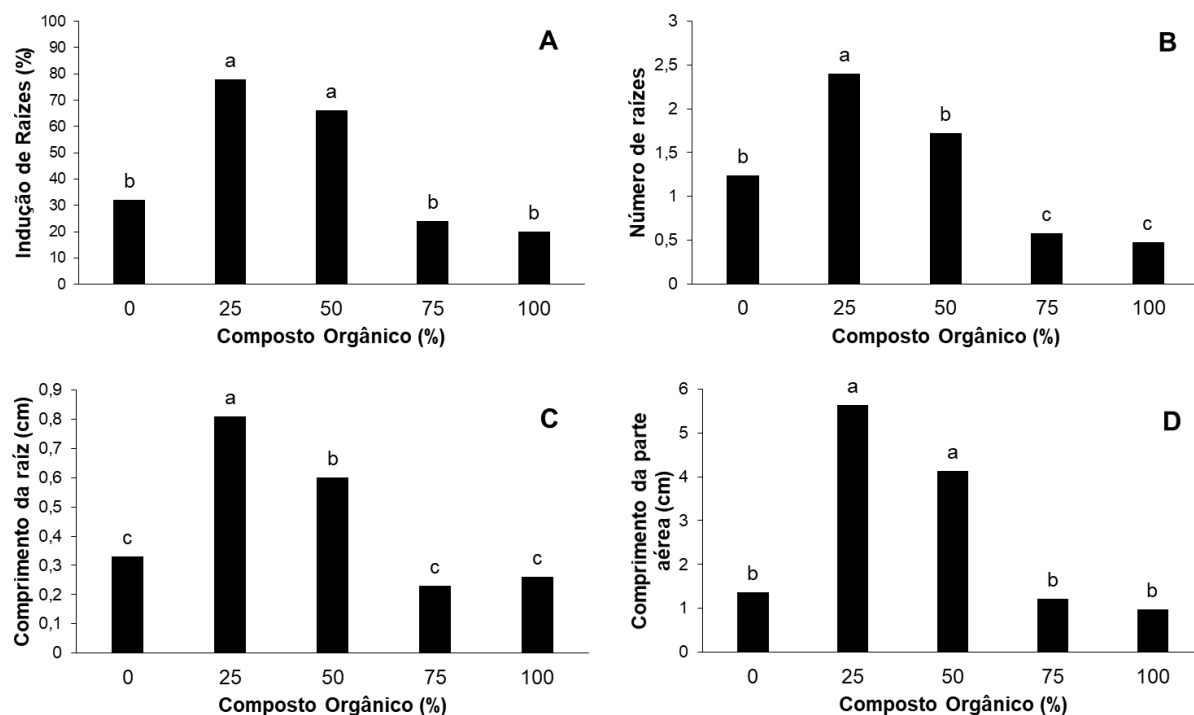


Figura 7: Percentagem de enraizamento (A), número (B) e comprimento de raízes (C) e comprimento da parte aérea (D) das mudas de *A. lebbbeck* oriundas de brotações micropropagadas aos 55 dias de enraizamento em substrato contendo diferentes concentrações de composto orgânico oriundo do lodo de esgoto. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste Tukey ($P < 0,05$). CV = coeficiente de variação. ($n = 10$, CV A = 32,50%, CV B = 37,39%, CV C = 36,28%, CV D = 50,69%).

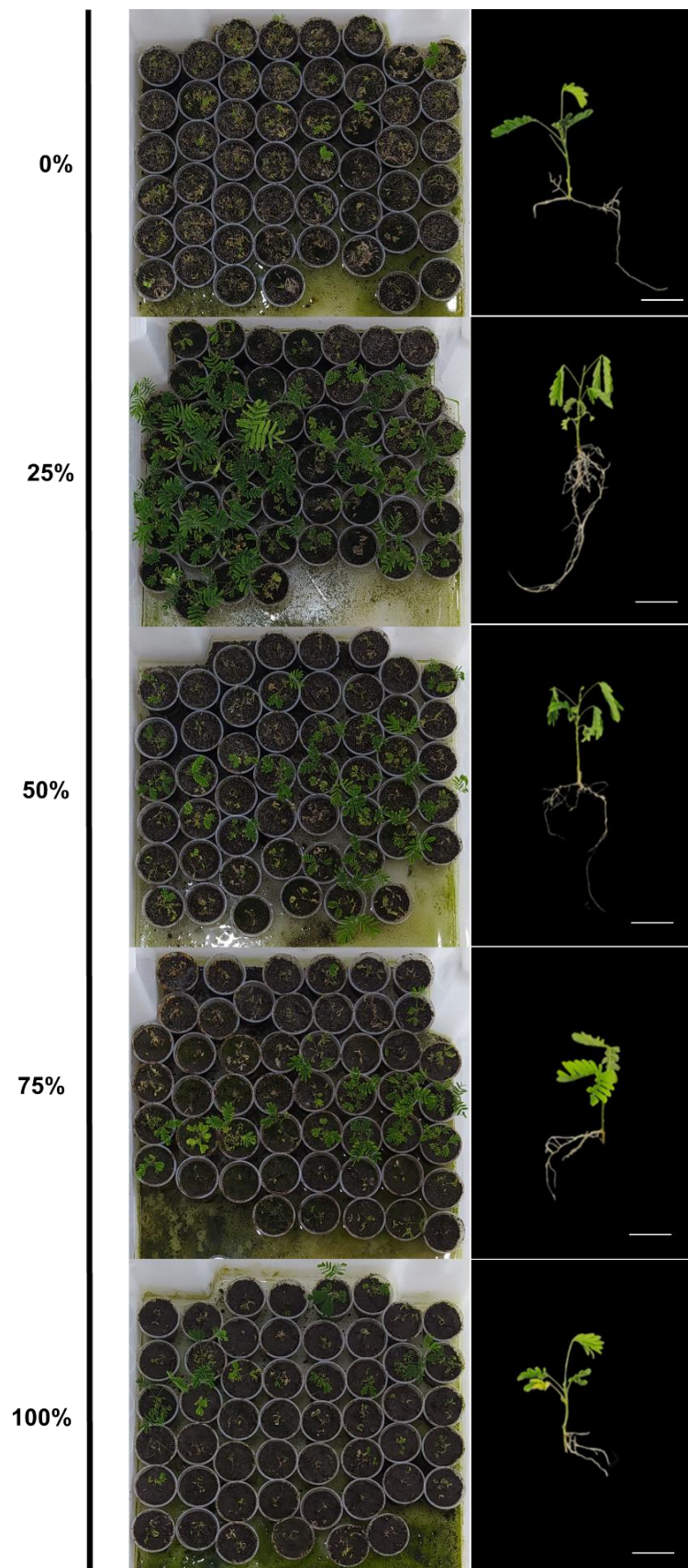


Figura 8: Aspectos morfológicos das mudas de *A. lebbeck* após 55 dias de indução do enraizamento de brotações micropropagadas em diferentes concentrações de (0, 25, 50, 75 e 100%) de composto orgânico no substrato florestal com vermiculita (1:1; v/v). Barra = 1 cm.

5.3 Conteúdo endógeno de PAs livres de brotações no enraizamento *ex vitro*

Mudas enraizadas sob o efeito do tratamento com AIB (250 μ M) e cultivado em substrato comercial misturado com vermiculita, apresentaram um conteúdo endógeno significativamente maior de Put, Spd, Spm e PAs totais em comparação ao tratamento com 25% de composto orgânico oriundo de lodo de esgoto (Figura 9A-D).

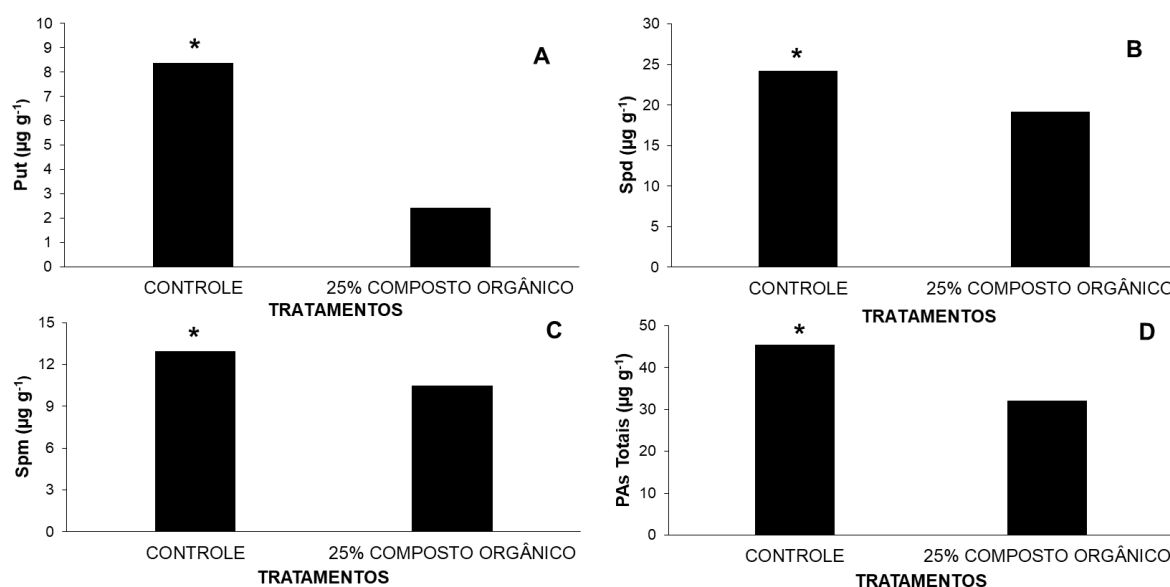


Figura 9: Conteúdo ($\mu\text{g g}^{-1}$ MF) de Put (A), Spd (B), Spm (C) e PAs livres totais (D) em durante o enraizamento *ex vitro* de *A. lebbbeck*, oriundas dos segmentos nodais, mantidas nos tratamentos controle (250 μ M de AIB) e composto orgânico oriundo do lodo de esgoto (25%) associado com a melhor concentração (250 μ M) de AIB. Tratamentos com asteriscos (*) diferem pela análise de variância (ANOVA) ($P < 0,05$). CV = Coeficiente de variação. ($n = 3$, CV A = 24,63%, CV B = 5,67%, CV C = 8,11%, CV D = 8,04%).

6. DISCUSSÃO

Em espécies com baixa capacidade de enraizamento, é comum a utilização de tratamentos hormonais prévios das brotações para estimular a formação de RAs, sendo a aplicação de auxinas, como o AIB, uma das estratégias mais recorrentes (Wang et al., 2022). Esse tipo de abordagem se justifica pelas alterações no balanço hormonal endógeno que ocorrem durante o processo de enraizamento, tornando a aplicação exógena de reguladores de crescimento vegetal uma das estratégias mais eficazes para induzir a formação de RAs (Zhao et al., 2022).

Verificou-se que brotações oriundas de segmentos nodais de *A. lebbbeck* necessitam de AIB para o enraizamento, ocorrendo melhor resposta com o uso de 250 μ M de AIB. Resultados similares foram obtidos para a espécie utilizando

brotações oriundas de segmentos do epicótilo, utilizadas para o enraizamento *ex vitro*, obtendo 82% de enraizamento com a concentração 250 μM de AIB, por 30 minutos (Perveen et al., 2013). Em contraste, em *C. legalis* o uso do AIB não apresentou resposta significativa no enraizamento *ex vitro* (Lerin et al., 2020). Já em espécies como *D. nigra* e *C. fissilis*, a formação de RAs ocorreu sem a necessidade de aplicação de AIB, indicando que a exigência por auxina exógena pode variar entre as espécies, conforme seu balanço hormonal e fisiológico (Pessanha et al., 2022; Ribeiro et al., 2022).

Concentrações elevadas de AIB, como 500 μM , apresentaram efeito inibitório no desenvolvimento de RAs em *A. lebbeck*. Nos estudos de DesRochers e Thomas, 2003, foram avaliados quatro híbridos de *Populus*: 'Walker' (*P. deltoides* $\times$ *P. nigra*, *P.* $\times$ *euramericana*), 'P38P38' (*P. balsamifera* $\times$ *P. simonii*), 'Jackii10' (*P. balsamifera* $\times$ *P. deltoides*, *P.* $\times$ *jackii*) e 'Berlin42' (*P. laurifolia* $\times$ *P. nigra*, *P.* $\times$ *berolinensis* / *P.* $\times$ *petrowskyana*), em todos eles, concentrações elevadas 8.000 mg L^{-1} de AIB (equivalentes a 39.370 μM), demonstraram efeito tóxico, inibindo o enraizamento, enquanto doses mais baixas favoreceram o desenvolvimento radicular. Corroborando com estudos de Tien et al., 2020, na espécie *Solanum procumbens* Lour., tratamentos com concentrações elevadas de AIB, como 2000 ppm (equivalentes a 9.840 μM), apresentaram efeitos inibitórios sobre o número, comprimento e peso de raízes. Além disso, à medida que a concentração de auxina aumentou, observaram-se reduções no comprimento dos brotos, no número de pares de folhas e no diâmetro dos brotos.

Por outro lado, algumas espécies necessitam de uma maior concentração de AIB para o enraizamento, como em *Taxus cuspidata* Siebold and Zucc., onde a concentração 150 mg L^{-1} de AIB (equivalente a 738 μM), não só aumentou a taxa de enraizamento, como também o número de RAs, evidenciando um efeito positivo tanto na indução quanto na proliferação radicular (Cai et al., 2023). Na espécie *Magnolia biondii* Pamp., a concentração 750 mg L^{-1} de AIB (equivalente a 3.690 μM), apresentou uma maior taxa de enraizamento (Khan et al., 2020).

Esses dados reforçam que a resposta à indução e desenvolvimento de RAs é espécie-dependente, sendo influenciado por uma concentração ideal de auxina e tempo de aplicação a ser estabelecido para cada espécie.

Além disso, o substrato exerce papel fundamental no enraizamento, ao proporcionar sustentação às plantas, garantir aeração adequada e manter níveis ideais de umidade e nutrientes, favorecendo o desenvolvimento das raízes (Real et al., 2023). No entanto, atingir esse equilíbrio de características físicas e químicas em um único material nem sempre é possível. Embora seja viável o uso de um único material como substrato, este nem sempre apresenta, de forma isolada, as características adequadas ao desenvolvimento vegetal, sendo recorrente a combinação de dois ou mais componentes com propriedades complementares (Oliveira et al., 2013).

Neste contexto, materiais alternativos têm sido avaliados como componentes de substratos, destacando-se o uso de composto orgânico obtido da compostagem do lodo de esgoto, cuja aplicação em plantações florestais representa uma alternativa viável para sua reutilização e reciclagem, com efeitos significativos e sustentáveis (Mohamed et al., 2018). Além de contribuir com a redução de custos, durante a cadeia produtiva, o composto orgânico oferece às plantas matéria orgânica e elementos essenciais para o desenvolvimento (Freitas et al., 2019). Diante disso, o papel fertilizante do composto orgânico oriundo do lodo de esgoto, são relatados em muitos estudos (Farsang et al., 2020; Elsalam et al., 2021; Zhang et al., 2023).

Os resultados obtidos demonstraram que concentrações moderadas de composto orgânico (25%) no substrato foram mais eficazes na promoção da indução radicular, no número e comprimento das RAs e comprimento da parte aérea das mudas obtidas de brotações micropropagadas. Esses resultados evidenciam a eficácia na formulação orgânica do substrato na promoção do enraizamento de *A. lebbeck*. Na espécie, *Mangifera persiciforma* CY Wu and TL Ming., a aplicação similar na concentração de 30% de composto orgânico de lodo de esgoto no substrato de enraizamento promoveu melhores respostas quanto à altura da muda, bem como a biomassa das RAs, das folhas e da muda inteira (Chu et al., 2017).

O maior comprimento das RAs na concentração de 25% de composto orgânico no substrato em *A. lebbeck* pode resultar da melhoria das propriedades químicas e físicas do substrato, promovida pela matéria orgânica. De acordo com Caldeira et al. (2008), a matéria orgânica melhora a retenção de água e nutrientes, reduz a densidade e aumenta a porosidade. Além disso, Delarmelina

et al., (2013) destacam que essas características favorecem a aeração do substrato, condição indispensável para o desenvolvimento do sistema radicular.

Concentrações elevadas (75 e 100%) de composto orgânico adicionados ao substrato florestal e vermiculita não foram benéficas ao enraizamento e crescimento das mudas oriundas de brotações micropropagadas de *A. lebbeck*. Similarmente, mudas de *Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss “Andrenum”, e *Codiaeum variegatum* (L.) Blume “Punctatum”, apresentaram menor enraizamento quando utilizado o composto orgânico puro (100%) como substrato de enraizamento, evidenciando a importância de misturar este composto com substratos comerciais (Lopes et al., 2018). Neste sentido, estudos mostram que, o acréscimo de doses de composto orgânico obtido do lodo de esgoto ao substrato de enraizamento resulta em maior densidade do material, provocando uma diminuição na macroporosidade e um incremento na microporosidade, favorecendo, assim, uma maior retenção de água pelo substrato (Trigueiro e Guerrini, 2014). Corroborando com os estudos de Boudjabi e Chenchouni, (2021), quando o lodo de esgoto é incorporado ao solo, ocorre redução da difusão de oxigênio em camadas mais profundas, enquanto os níveis de CO₂ tendem a se elevar em função da irrigação e do deslocamento da água no perfil, que modifica a porosidade.

Ademais, como o composto orgânico oriundo de lodo de esgoto é rico em nutrientes e matéria orgânica, porém quando aplicado em doses excessivas, resulta na inibição do crescimento da muda (Usman et al., 2012). Isso ocorre devido a diversos fatores, incluindo o excesso de nutrientes que pode levar a desequilíbrios nutricionais e fitotoxicidade (Bhat et al., 2024).

O metabolismo das PAs é altamente dinâmico e está intimamente associado à divisão e diferenciação celular, processos fundamentais para o desenvolvimento radicular (Couée et al., 2004). No presente estudo, observou-se que plantas do tratamento controle apresentaram acúmulo significativamente maior de Put, Spd, Spm e PAs totais em comparação ao tratamento com 25% de composto orgânico. Esse resultado sugere que as plantas do controle estavam submetidas a estresse por deficiência nutricional, enquanto aquelas cultivadas em composto orgânico, apresentaram menor acúmulo de PAs em função da maior disponibilidade de nutrientes.

Estudos prévios corroboram com essa interpretação, demonstrando que o aumento de PAs, especialmente de Put, constitui resposta ao estresse por deficiência de nutrientes (Bouchereau et al., 1999; Minocha et al., 2014). Nessas condições, a intensificação da expressão da enzima Arginina Descarboxilase (ADC) estimula a síntese de Put, precursora de Spd e Spm (Liu et al., 2015). De fato, a Put foi proposta como biomarcador de deficiência de potássio (Cui et al., 2020). Além disso, em cenários de limitação de nitrogênio, o acúmulo de PAs pode modular a atividade de enzimas como a nitrato redutase e contribuir para a reciclagem de N, auxiliando no balanço C:N e na manutenção da homeostase celular (Moschou et al., 2012; Gupta et al., 2013).

Por outro lado, no tratamento com 25% de composto orgânico, a maior disponibilidade de nutrientes essenciais, como N, P e K (Gabira et al., 2021), reduziu a necessidade de ativação da via de PAs. Nessas condições, precursores metabólicos como arginina, ornitina e S-adenosilmetionina (SAM) foram provavelmente direcionados para rotas primárias de crescimento, incluindo síntese proteica e formação de novas células, em detrimento da via das PAs (Majumdar et al., 2013; Winter et al., 2015; Recalde et al., 2021). Esse redirecionamento metabólico parece ter favorecido a indução de RAs em *A. lebbeck*, evidenciando a importância do equilíbrio nutricional na modulação do metabolismo vegetal.

Embora as PAs sejam reconhecidas como essenciais na rizogênese, sobretudo por estimularem a divisão celular durante a transição G1/S (Tiburcio et al., 2014), elas podem atuar em papéis distintos: como sinalizadoras em cenários de estresse nutricional ou como reguladoras do desenvolvimento em condições adequadas (Paschalidis et al., 2019; Hu et al., 2020, (Rakesh et al., 2021).

Além disso, há evidências de interação direta entre auxinas e PAs, uma vez que a aplicação de auxina pode induzir o acúmulo dessas moléculas em tecidos vegetais, precedendo tanto a divisão celular quanto modificações morfofisiológicas associadas ao enraizamento (Tonon et al., 2001; Yousefi et al., 2021). Neste estudo, verificou-se que o controle apresentou maior acúmulo de PAs, enquanto o tratamento com composto orgânico, responsável pelo melhor enraizamento, não promoveu aumento significativo dessas moléculas. Esses resultados indicam que, em *A. lebbeck*, a rizogênese pode ser desencadeada

tanto pela via clássica auxina–PAs (Mendes et al., 2011) quanto por mecanismos alternativos modulados pelo substrato, reforçando o papel central do equilíbrio nutricional no enraizamento *ex vitro*.

A utilização do composto orgânico de lodo de esgoto, destaca-se como uma forma de descarte mais sustentável, ao contribuir para o aumento da fertilidade, ao mesmo tempo em que se alinha aos princípios da economia circular (Bai et al., 2022). Nesse contexto, a utilização do composto orgânico proveniente do lodo de esgoto surge como uma estratégia promissora para compor substratos de enraizamento de espécies arbóreas, como *A. lebbeck*, melhorando o desenvolvimento de RAs.

7. CONCLUSÃO

O enraizamento de brotações micropropagadas de *A. lebbeck* mostrou-se dependente da aplicação de AIB, sendo a concentração de 250 μM a mais eficiente. O uso de 250 μM de AIB em substrato florestal e vermiculita (1:1, v/v) suplementado com 25% de composto orgânico oriundo de lodo de esgoto, resultou em 78% de enraizamento, significativamente superior aos 37% obtidos apenas com AIB. Essa condição favoreceu o crescimento radicular, a formação das mudas e reduziu os teores de Put, Spd, Spm e PAs totais, representando resultados inéditos para a espécie. Assim, a adição de 25% de composto orgânico ao substrato configura-se como estratégia promissora para otimizar o enraizamento *ex vitro* e, ao mesmo tempo, constitui uma alternativa sustentável para o reaproveitamento de resíduos provenientes de estações de tratamento de esgoto urbano.

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

Devido à importância medicinal e farmacológica de *A. lebbeck*, torna-se necessário avançar na elucidação dos fatores que modulam seu enraizamento *ex vitro*. Investigações futuras devem priorizar análises nutricionais, com o objetivo de identificar os macronutrientes e micronutrientes determinantes para o desenvolvimento radicular em condições de substrato enriquecido com composto orgânico.

Paralelamente, a caracterização da dinâmica hormonal, especialmente a interação entre auxinas e PAs, poderá esclarecer os mecanismos regulatórios envolvidos no processo de rizogênese. Abordagens proteômicas também se apresentam promissoras para compreender as alterações moleculares responsáveis pela aquisição de competência celular para a formação de RAs.

Ademais, avaliações de médio e longo prazo, contemplando a aclimatização e o crescimento em condições de campo, são essenciais para validar a eficiência do composto orgânico como insumo sustentável e funcional na micropropagação da espécie.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamowski, M., and Friml, J. (2015). PIN-Dependent Auxin Transport: Action, Regulation, and Evolution. *The Plant Cell*, 27(1), 20–32. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.134874>
- Ahmed, D., Kumar, V., Verma, A., Gupta, P. S., Kumar, H., Dhingra, V., Mishra, V., and Sharma, M. (2014). Antidiabetic, renal/hepatic/pancreas/cardiac protective and antioxidant potential of methanol/dichloromethane extract of *Albizzia lebbbeck* Benth. stem bark (ALEx) on streptozotocin induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 243. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-243>
- Ajithan, C., Vasudevan, V., Sathish, S., Pavan, G., Yamini, E., and Manickavasagam, M. (2022). Exogenous polyamines improved chloroplast count and indirect organogenesis of Indian pea (*Pisum sativum* L.) cv. Ageta 6. *Plant Physiology Reports*, 27(3), 383–397. <https://doi.org/10.1007/s40502-022-00683-8>
- Akintola, O. O., Abodunrin, E. K., Ademigbuji, A. T., Ibode, R. T., and Babatunde, O. O. (2022). Phytoremediation of potentially toxic elements in waste dumpsite soils by *Albizia lebbbeck* L. Benth seedlings. *Journal of Forestry Research and Management*, 19(2), 17–22.
- Alcázar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., Carrasco, P., and Tiburcio, A. F. (2010). Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, 231(6), 1237–1249. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1130-0>
- Amiri, H., Banakar, M. H., and Hemmati Hassan Gavyar, P. (2024). Polyamines: New Plant Growth Regulators Promoting Salt Stress Tolerance in Plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 43(12), 4923–4940. <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11447-z>
- Aragão, V. P. M., de Souza Ribeiro, Y. R., Reis, R. S., Macedo, A. F., Floh, E. I. S., Silveira, V., and Santa-Catarina, C. (2016). *In vitro* organogenesis of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae): the involvement of endogenous polyamines and

carbohydrates on shoot development. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 124, 611–620. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0919-8>

Aragão, V. P. M., Navarro, B. V, Silva, A. T., Silveira, V., and Santa-Catarina, C. (2017). Micropropagation of *Cariniana legalis* (Martius) O. Kuntze, an endangered hardwood tree from the Brazilian Atlantic Forest. *Plant Cell Culture and Micropropagation*, 13(2), 41–50.

Aragão, V. P. M., Reis, R. S., Silveira, V., and Santa-Catarina, C. (2017). Putrescine promotes changes in the endogenous polyamine levels and proteomic profiles to regulate organogenesis in *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 130, 495–505. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1239-y>

Arora, K., Rai, M. K., and Sharma, A. K. (2022). Tissue culture mediated biotechnological interventions in medicinal trees: recent progress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 150(2), 267–287. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02298-1>

Avoseh, O. N., Mtunzi, F. M., Ogunwande, I. A., Ascrizzi, R., and Guido, F. (2021). *Albizia lebbeck* and *Albizia zygia* volatile oils exhibit anti-nociceptive and anti-inflammatory properties in pain models. *Journal of Ethnopharmacology*, 268, 113676. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113676>

Azma, W., Anwar, J., Waseem, A., and Mohammad, F. (2020). Siras (*Albizia lebbeck* (L.) Benth.) and its medicinal uses in Unani medicine-a review. *CellMed Orthocellular Medicine Pharmaceutical Association*, 10(2), 27–31. <https://doi.org/doi:http://dx.doi.org/10.5667/CellMed.2020.0012>

Babu, N. P., Pandikumar, P., and Ignacimuthu, S. (2009). Anti-inflammatory activity of *Albizia lebbeck* Benth., an ethnomedicinal plant, in acute and chronic animal models of inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2), 356–360. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.02.041>

Balkrishna, A., Kaushik, P., Singh, S., Agrahari, P., Kumar, B., Kumar, P., and Arya, V. P. (2025). Potential use of sewage sludge as fertilizer in organic farming. *Cleaner Waste Systems*, 10, 100245. <https://doi.org/10.1016/j.clwas.2025.100245>

- Balkrishna, A., Sakshi, Chauhan, M., Dabas, A., and Arya, V. (2022). A Comprehensive Insight into the Phytochemical, Pharmacological Potential, and Traditional Medicinal Uses of *Albizia lebbeck* (L.) Benth. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2022/5359669>
- Bari, R., and Jones, J. D. G. (2009). Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology*, 69(4), 473–488. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0>
- Bhat, M. A., Mishra, A. K., Shah, S. N., Bhat, M. A., Jan, S., Rahman, S., Baek, K.-H., and Jan, A. T. (2024). Soil and Mineral Nutrients in Plant Health: A Prospective Study of Iron and Phosphorus in the Growth and Development of Plants. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(6), 5194–5222. <https://doi.org/10.3390/cimb46060312>
- Bhojwani, S. S., and Dantu, P. K. (2013). Micropropagation. In *Plant Tissue Culture: An Introductory Text* (pp. 245–274). *Springer India*. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1026-9_17
- Bidabadi, S. S., and Jain, S. M. (2020). Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of *In Vitro* Plant Regeneration. *Plants*, 9(6), 702. <https://doi.org/10.3390/plants9060702>
- Bobby, M. N., Wesely, E. G., and Johnson, M. (2012). *In vitro* anti-bacterial activity of leaves extracts of *Albizia lebbeck* Benth against some selected pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S859–S862. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60324-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60324-4)
- Boudjabi, S., and Chenchouni, H. (2021). On the sustainability of land applications of sewage sludge: How to apply the sewage biosolid in order to improve soil fertility and increase crop yield? *Chemosphere*, 282, 131122. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131122>
- Brunoni, F., Vielba, J. M., and Sánchez, C. (2022). Plant Growth Regulators in Tree Rooting. *Plants*, 11(6), 805. <https://doi.org/10.3390/plants11060805>
- Cai, K., Zhang, D., Li, X., Zhang, Q., Jiang, L., Li, Y., Song, R., Sun, S., Guo, R., Han, R., Hu, X., Zhou, X., Pei, X., and Zhao, X. (2023). Exogenous phytohormone

application and transcriptome analysis provides insights for adventitious root formation in *Taxus cuspidata* S. et Z. *Plant Growth Regulation*, 100(1), 33–53. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00934-6>

Caldeira, M. V. W., Favalessa, M., Delarmelina, W. M., Gonçalves, E. de O., and Santos Moura, R. R. dos. (2018). Sewage sludge assessment on growth of *Acacia mangium* seedlings by principal components analysis and orthogonal contrasts. *Journal of Plant Nutrition*, 41(10), 1303–1311. <https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1450421>

Cardoso, P. H. S., Gonçalves, P. W. B., Alves, G. de O., Pegoraro, R. F., Fernandes, L. A., Frazão, L. A., and Sampaio, R. A. (2022a). Improving the quality of organic compost of sewage sludge using grass cultivation followed by composting. *Journal of Environmental Management*, 314, 115076. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115076>

Chagas, A. P., and Dutra, V. F. (2020). Albizia in Flora do Brasil 2020. In Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Chintawar, S. D., Somani, R. S., Kasture, V. S., and Kasture, S. B. (2002). Nootropic activity of *Albizzia lebbek* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(3), 299–305. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00140-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00140-X)

Chojnacka, K., Skrzypczak, D., Szopa, D., Izydorczyk, G., Moustakas, K., and Witek-Krowiak, A. (2023). Management of biological sewage sludge: Fertilizer nitrogen recovery as the solution to fertilizer crisis. *Journal of Environmental Management*, 326, 116602. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116602>

Chu, S., Wu, D., Liang, L. L., Zhong, F., Hu, Y., Hu, X., Lai, C., and Zeng, S. (2017). Municipal sewage sludge compost promotes *Mangifera persiciforma* tree growth with no risk of heavy metal contamination of soil. *Scientific Reports*, 7(1), 13408. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13895-y>

Clapa, D., Fira, A., and Joshee, N. (2013). An Efficient *Ex Vitro* Rooting and Acclimatization Method for Horticultural Plants Using Float Hydroculture. *HortScience*, 48(9), 1159–1167. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.9.1159>

CONAMA, C. N. do M. A. (2020). Define critérios e procedimentos para produção e aplicação de biossólido em solos, e dá outras providências.

- Correa, L. (2022). *Albizia lebbbeck* – black heart. *Landscape Biology*.
- Couée, I., Hummel, I., Sulmon, C., Gouesbet, G., and Amrani, A. El. (2004). Involvement of polyamines in root development. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 76(1), 1–10. <https://doi.org/10.1023/A:1025895731017>
- Curci, M., Lavecchia, A., Cucci, G., Lacolla, G., De Corato, U., and Crecchio, C. (2020). Short-Term Effects of Sewage Sludge Compost Amendment on Semiarid Soil. *Soil Systems*, 4(3), 48. <https://doi.org/10.3390/soilsystems4030048>
- Debnath, S. C., and Arigundam, U. (2020). *In Vitro* Propagation Strategies of Medicinally Important Berry Crop, Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.). *Agronomy*, 10(5), 744. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050744>
- Delarmelina, W. M., Caldeira, M. V. W., Faria, J. C. T., and Gonçalves, E. de O. (2013). Use of sewage sludge and organic waste in the growth of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers seedlings. *Agro Ambiente Online Magazine*, 7(2), 184–192. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n12p831-836>
- Delgado, M. del M., Gonzalez, I., Lobo, C., Plaza, A., Martinez, S., and Martin, J. V. (2017). Phytoremediation Potential of Thistle (*Cynara Cardunculus* L.) and its Ability to Remove Heavy Metals from Polluted Soils with High Rates of Sewage Sludge. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26(5), 1935–1941. <https://doi.org/10.15244/pjoes/68957>
- Delíbacak, S., and Voronína, L. (2020). Use of sewage sludge in agricultural soils: Useful or harmful. *Eurasian Journal of Soil Science*, 9(2), 126–139. <https://doi.org/10.18393/ejss.687052>
- DesRochers, A., and Thomas, B. R. (2003). A comparison of pre-planting treatments on hardwood cuttings of four hybrid poplar clones. *New Forests*, 26(1), 17–32. <https://doi.org/10.1023/A:1024492103150>
- Dinesh, R. M., Patel, A. K., Vibha, J. B., Shekhawat, S., and Shekhawat, N. S. (2019). Cloning of mature pomegranate (*Punica granatum*) cv. Jalore seedless via *in vitro* shoot production and *ex vitro* rooting. *Vegetos*, 32(2), 181–189. <https://doi.org/10.1007/s42535-019-00021-8>

Du, M., Spalding, E. P., and Gray, W. M. (2020). Rapid Auxin-Mediated Cell Expansion. *Annual Review of Plant Biology*, 71(1), 379–402. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-073019-025907>

ECC, C. da C. E. (1986). Diretiva 86/278/CEE do Conselho, de 12 de junho de 1986, relativa à proteção do meio ambiente, e em particular do solo, na utilização de lamas de depuração na agricultura. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, L181, 6–12.

Elsalam, H. E. A., El- Sharnouby, M. E., Mohamed, A. E., Raafat, B. M., and El-Gamal, E. H. (2021). Effect of Sewage Sludge Compost Usage on Corn and Faba Bean Growth, Carbon and Nitrogen Forms in Plants and Soil. *Agronomy*, 11(4), 628. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040628>

EPA dos EUA, A. de P. A. (1994). 40 CFR Parte 503 — Normas para o uso e descarte de lodo de esgoto: regra final.

Farsang, A., Babcsányi, I., Ladányi, Z., Perei, K., Bodor, A., Csányi, K. T., and Barta, K. (2020). Evaluating the effects of sewage sludge compost applications on the microbial activity, the nutrient and heavy metal content of a Chernozem soil in a field survey. *Arabian Journal of Geosciences*, 13(19), 982. <https://doi.org/10.1007/s12517-020-06005-2>

Fattorini, L., Rovere, F. Della, Andreini, E., Ronzan, M., Falasca, G., and Altamura, M. M. (2017). Indole-3-Butyric Acid Induces Ectopic Formation of Metaxylem in the Hypocotyl of *Arabidopsis thaliana* without Conversion into Indole-3-Acetic Acid and with a Positive Interaction with Ethylene. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms18112474>

Fijałkowski, K., and Kwarciak-Kozłowska, A. (2021). Sewage Sludge as Soil Conditioner and Fertilizer. In *Handbook of Assisted and Amendment: Enhanced Sustainable Remediation Technology* (pp. 283–297). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119670391.ch14>

Freitas, D. A., Alvarenga, A. C., and Soares Durães, A. F. (2019). Addition of sewage sludge to the commercial substrate for the production of seedlings of forest species. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 2(5), 1761–1767.

- Gabira, M. M., Silva, R., Bortolheiro, F., Mateus, C., Boas, R. L. V., Rossi, S., Girona, M. M., and Silva, M. R. D. (2021). Composted sewage sludge as an alternative substrate for forest seedlings production. *IForest - Biogeosciences and Forestry*, 14(6), 569–575. <https://doi.org/10.3832/ifor3929-014>
- Gomes, G. L. B., and Scortecci, K. C. (2021). Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms. *Plant Biology*, 23(6), 894–904. <https://doi.org/10.1111/plb.13303>
- Gonin, M., Bergougnoux, V., Nguyen, T. D., Gantet, P., and Champion, A. (2019). What Makes Adventitious Roots? *Plants*, 8(7), 240. <https://doi.org/10.3390/plants8070240>
- Haberlandt, G. J. (1902). Plant tissue culture: 100 years since Gottlieb Haberlandt.
- Hartmann, H. T. (1997). Plant propagation: principles and practices (6th ed.).
- He, Y., Wang, Q., Ye, Y., Liu, Z., and Sun, H. (2020). The ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and toxicology of genus *Albizia*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 257, 112677. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112677>
- Jagiello-Kubiec, K., Nowakowska, K., Łukaszewska, A. J., and Pacholczak, A. (2021). Morpho-anatomical and biochemical changes associated with rooting of micropropagated ninebark cuttings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 147(2), 229–237. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02119-x>
- Janaszek, A., Silva, A. F. da, Jurišević, N., Kanuchova, M., Kozáková, L., and Kowalik, R. (2024). The Assessment of Sewage Sludge Utilization in Closed-Loop Economy from an Environmental Perspective. *Water*, 16(3), 383. <https://doi.org/10.3390/w16030383>
- Jiang, K., and Asami, T. (2018). Chemical regulators of plant hormones and their applications in basic research and agriculture. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(8), 1265–1300. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1462693>
- Kalia, S., Walter, N. S., and Bagai, U. (2015). Antimalarial efficacy of *Albizia lebbeck* (Leguminosae) against *Plasmodium falciparum* *in vitro* andamp; P.

berghei in vivo. *Indian Journal of Medical Research*, 142(Suppl 1), S101–S107. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.176635>

Kamala, L. B., and Valarmathi, S. (2020). *In vitro* anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Albizia lebbbeck* leaf (l.). *The Journal of Phytopharmacology*, 9(5), 356–360. <https://doi.org/10.31254/phyto.2020.9511>

Kaszler, N., Benkő, P., Bernula, D., Szepesi, Á., Fehér, A., and Gémes, K. (2021). Polyamine Metabolism Is Involved in the Direct Regeneration of Shoots from Arabidopsis Lateral Root Primordia. *Plants*, 10(2), 305. <https://doi.org/10.3390/plants10020305>

Khan, M. A., Wang, Y., Uddin, S., Muhammad, B., Badshah, M. T., Khan, D., Munerr, M. A., Munir, M. Z., and Jia, Z. K. (2020). Propagation of *Magnolia biondii* pamp through stem cuttings using exogenous hormones. *Applied Ecology and Environmental Research*, 18(2), 2213–2229. https://doi.org/10.15666/aeer/1802_22132229

Khanam, M. N., Anis, M., Javed, S. Bin, Mottaghipisheh, J., and Csupor, D. (2022). Adventitious Root Culture—An Alternative Strategy for Secondary Metabolite Production: A Review. *Agronomy*, 12(5), 1178. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051178>

Killiny, N., and Nehela, Y. (2020). Citrus Polyamines: Structure, Biosynthesis, and Physiological Functions. *Plants*, 9(4), 426. <https://doi.org/10.3390/plants9040426>

Kirtikar, K. R., and Basu, B. D. (1999). Indian medicinal plants. In *International Book Distributors* (Vol. 3).

Kosobucki, P. (2024). Study of Compost Based on Sewage Sludge and Different Structural Materials. *Biomass*, 4(2), 273–285. <https://doi.org/10.3390/biomass4020013>

Kramer, E. M., and Bennett, M. J. (2006). Auxin transport: a field in flux. *Trends in Plant Science*, 11(8), 382–386. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.06.002>

Kumar, V., Giridhar, P., Chandrashekar, A., and Ravishankar, G. A. (2008). Polyamines influence morphogenesis and caffeine biosynthesis in *in vitro*

cultures of *Coffea canephora* P. ex Fr. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(2), 217–223. <https://doi.org/10.1007/s11738-007-0110-x>

Kusano, T., Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C., Takahashi, Y., and Takahashi, Y. (2008). Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta*, 228(3), 367–381. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7>

Tien L. H., L. D. Chac, L. T. L. Oanh, P. T. Ly, H. T. Sau, N. Hung, V. Q. Thanh, R. V. Doudkin, and B. B. Thinh. (2020). Effect of auxins (IAA, IBA and NAA) on clonal propagation of *Solanum procumbens* stem cuttings. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 21, 113–120.

Lakehal, A., and Bellini, C. (2019). Control of adventitious root formation: insights into synergistic and antagonistic hormonal interactions. *Physiologia Plantarum*, 165(1), 90–100. <https://doi.org/10.1111/ppl.12823>

Leitzke, L. N., Damiani, C. R., and Schuch, M. W. (2009). Culture medium, IBA concentration and cultivation time *in vitro* rooting of blackberry and raspberry. *Brazilian Journal of Fruit Growing*, 31(2), 582–587. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452009000200037>

Lerin, J., Aragão, V. P. M., Reis, R. S., Silveira, V., and Santa-Catarina, C. (2019). Proteomic profile and polyamine contents are modulated by light source to promote *in vitro* shoot development in *Cariniana legalis* (Martius) O. Kuntze (Lecythidaceae). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 137(2), 329–342. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01574-x>

Lerin, J., de Souza Ribeiro, Y. R., dos Reis de Oliveira, T., Silveira, V., and Santa-Catarina, C. (2020). Histomorphology and proteomics during rooting of *in vitro* shoots in *Cariniana legalis* (Lecythidaceae), a difficult-to-root endangered species from the Brazilian Atlantic Forest. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01955-7>

Leva, A. (2011). Innovative protocol for “*ex vitro* rooting” on olive micropropagation. *Open Life Sciences*, 6(3), 352–358. <https://doi.org/10.2478/s11535-011-0010-3>

Lopes, M. C., D’Andréa Mateus, C. D. M., Alves, D. A. D. S., Tavares, A. R., Sanches, L. V. C., and Villas Bôas, R. L. (2018). Sewage sludge compost as a

substrate for croton seedlings production. *Ornamental Horticulture*, 24(4), 380–386. <https://doi.org/10.14295/oh.v24i4.1234>

Malaikolundhan, H., Mookkan, G., Krishnamoorthi, G., Matheswaran, N., Alsawalha, M., Veeraraghavan, V. P., Krishna Mohan, S., and Di, A. (2020). Anticarcinogenic effect of gold nanoparticles synthesized from *Albizia lebbeck* on HCT-116 colon cancer cell lines. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 48(1), 1206–1213. <https://doi.org/10.1080/21691401.2020.1814313>

Manca, A., da Silva, M. R., Guerrini, I. A., Fernandes, D. M., Villas Bôas, R. L., da Silva, L. C., da Fonseca, A. C., Ruggiu, M. C., Cruz, C. V., Lozano Sivilsaca, D. C., de Moura D'Andréa Mateus, C., Murgia, I., Grilli, E., Ganga, A., and Capra, G. F. (2020). Composted sewage sludge with sugarcane bagasse as a commercial substrate for *Eucalyptus urograndis* seedling production. *Journal of Cleaner Production*, 269, 122145. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122145>

Marinho, T. M. L. (2025). *In Vitro* Morphogenesis in *Albizia lebbeck* (L.) BENTH. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Martin, K. (2003). Rapid *in vitro* multiplication and *ex vitro* rooting of *Rotula aquatica* Lour., a rare rheophytic woody medicinal plant. *Plant Cell Reports*, 21(5), 415–420. <https://doi.org/10.1007/s00299-002-0547-8>

Mehbub, H., Akter, A., Akter, Mst. A., Mandal, M. S. H., Hoque, Md. A., Tuleja, M., and Mehraj, H. (2022). Tissue Culture in Ornamentals: Cultivation Factors, Propagation Techniques, and Its Application. *Plants*, 11(23), 3208. <https://doi.org/10.3390/plants11233208>

Melo, H. S., Gonçalves, A. C. M., Travessas, A. O., and Vestena, S. (2021). Use of sewage sludge in the production and quality of seedlings and nutrient levels in *Hovenia dulcis* (Rhamnaceae). *Iheringia, Botanical Series*, 76, e2021020–e2021020. <https://doi.org/10.21826/2446-82312021v76e2021020>

Mishra, S. S., Gothecha, V. K., and Sharma, A. (2010). *Albizia lebbeck*: A short review. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 4(2), 9–15.

Mohamed, B., Olivier, G., François, G., Laurence, A.-S., Bourgeade, P., Badr, A.-S., and Lotfi, A. (2018). Sewage sludge as a soil amendment in a *Larix decidua*

plantation: Effects on tree growth and floristic diversity. *Science of The Total Environment*, 621, 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.283>

Moraes, R. M., Cerdeira, A. L., and Lourenço, M. V. (2021). Using Micropropagation to Develop Medicinal Plants into Crops. *Molecules*, 26(6), 1752. <https://doi.org/10.3390/molecules26061752>

Moreira da Luz Real, I., Crizel Gomes, G., Fonseca Bierhals, D., Beatriz Devantier Henzel, A., Ramos Molina, A., Timm Beskow, G., Castilhos Freitas, T., Koiti Miura, A., De Souza Gomes Guarino, E., and Penno de Souza, L. (2023). Indolebutyric acid (IBA) and substrate in rooting and development of brazilian peppertree cuttings. *Brazilian Journal of Engineering and Sustainability*, 10(1), 14–21. <https://doi.org/10.15210/rbes.v10i1.24958>

Murashige, T., and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Naija, S., Elloumi, N., Ammar, S., Kevers, C., and Dommes, J. (2009). Involvement of polyamines in the adventitious rooting of micropropagated shoots of the apple rootstock MM106. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 45(1), 83–91. <https://doi.org/10.1007/s11627-008-9165-7>

Nandy, S., Das, T., Tudu, C. K., Mishra, T., Ghorai, M., Gadekar, V. S., Anand, U., Kumar, M., Behl, T., Shaikh, N. K., Jha, N. K., Shekhawat, M. S., Pandey, D. K., Dwivedi, P., Radha, and Dey, A. (2022). Unravelling the multi-faceted regulatory role of polyamines in plant biotechnology, transgenics and secondary metabolomics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(3), 905–929. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11748-3>

Naveed, M., Ghaffar, M., Khan, Z., Gul, N., Ijaz, I., Bibi, A., Pervaiz, S., Alharby, H. F., Tariq, M. S., Ahmed, S. R., Hakeem, K. R., and Tan, D. K. Y. (2023). Morphological and Structural Responses of *Albizia lebbbeck* to Different Lead and Nickel Stress Levels. *Agriculture*, 13(7), 1302. <https://doi.org/10.3390/agriculture13071302>

Neves, C., Santos, H., Santos, H., Santos, H., Vilas-Boas, L., Vilas-Boas, L., and Amâncio, S. (2002). Involvement of free and conjugated polyamines and free

amino acids in the adventitious rooting of micropropagated cork oak and grapevine shoots. *Plant Physiology and Biochemistry*. [https://doi.org/10.1016/s0981-9428\(02\)01472-9](https://doi.org/10.1016/s0981-9428(02)01472-9)

Nguyen, T.-B., and Shima, K. (2019). Composting of Sewage Sludge with a Simple Aeration Method and its Utilization as a Soil Fertilizer. *Environmental Management*, 63(4), 455–465. <https://doi.org/10.1007/s00267-017-0963-8>

Obika, O. I., and Obika, I. E. (2023). Pharmacognostic characters of *Albizia lebbek* (L.) Benth. leaves: macroscopy, microscopy, and phytochemical analysis. *Life Research*, 6(3), 12. <https://doi.org/10.53388/LR20230012>

Oliveira L, S. de, Dias P, C., and Brondani G, E. (2013). Micropropagation of Brazilian forest species. *Brazilian Forestry Research*, 33(76), 443–457. <https://doi.org/doi:10.4336/2013.pfb.33.76.481>

Oliveira, T. dos R., Aragão, V. P. M., Moharana, K. C., Fedosejevs, E., do Amaral, F. P., de Sousa, K. R., Thelen, J. J., Venâncio, T. M., Silveira, V., and Santa-Catarina, C. (2020). Light spectra affect the *in vitro* shoot development of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) by changing the protein profile and polyamine contents. *Biochimica et Biophysica Acta*. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2020.140529>

ONU. (2015). United Nations. Transforming Our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development.

Pacurar, D. I., Perrone, I., and Bellini, C. (2014). Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. *Physiologia Plantarum*. <https://doi.org/10.1111/ppl.12171>

Parrotta, J. A. (2006). *Albizia lebbek* [monograph]. [*Encyclopaedia of Woody Plants*].

Patel, P., Parikh, M., Johari, S., and Gandhi, T. (2015). Antihyperglycemic activity of *Albizzia lebbek* bark extract in streptozotocin-nicotinamide induced type II diabetes mellitus rats. *An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda*, 36(3), 335. <https://doi.org/10.4103/0974-8520.182752>

Perveen, S., Anis, M., and Aref, I. M. (2012). *In vitro* morphogenic response and metal accumulation in *Albizia lebbek* (L.) cultures grown under metal stress.

European Journal of Forest Research, 131(3), 669–681.
<https://doi.org/10.1007/s10342-011-0540-2>

Perveen, S., Anis, M., and Aref, I. M. (2013). *In vitro* plant regeneration of *Albizia lebbbeck* (L.) from seed explants. *Forest Systems*, 22(2), 241–248.
<https://doi.org/10.5424/fs/2013222-03261>

Pessanha, L. dos S., Aragão, V. P. M., dos Reis de Oliveira, T., de Sousa, K. R., Silveira, V., Catarina, C. S., and Santa-Catarina, C. (2022). Benzyladenine affects polyamine contents and proteomic profiles during *in vitro* shoot development and *ex vitro* rooting in *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth. (Fabaceae). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*.
<https://doi.org/10.1007/s11240-022-02332-2>

Picariello, E., Pucci, L., Carotenuto, M., Libralato, G., Lofrano, G., and Baldantoni, D. (2020). Compost and Sewage Sludge for the Improvement of Soil Chemical and Biological Quality of Mediterranean Agroecosystems. *Sustainability*, 13(1), 26. <https://doi.org/10.3390/su13010026>

Pizarro, A., and Díaz-Sala, C. (2019). Cellular dynamics during maturation-related decline of adventitious root formation in forest tree species. *Physiologia Plantarum*, 165(1), 73–80. <https://doi.org/10.1111/ppl.12768>

Pop, T. I., Pamfil, D., and Bellini, C. (2011). Auxin Control in the Formation of Adventitious Roots. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1), 307. <https://doi.org/10.15835/nbha3916101>

Rademacher, W. (2015). Plant Growth Regulators: Backgrounds and Uses in Plant Production. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34(4), 845–872.
<https://doi.org/10.1007/s00344-015-9541-6>

Radomir, A.-M., Stan, R., Florea, A., Ciobotea, C.-M., Bănuță, F. M., Negru, M., Neblea, M. A., and Sumedrea, D. I. (2023). Overview of the Success of *In Vitro* Culture for Ex Situ Conservation and Sustainable Utilization of Endemic and Subendemic Native Plants of Romania. *Sustainability*, 15(3), 2581.
<https://doi.org/10.3390/su15032581>

Rakesh, B., Sudheer, W. N., and Nagella, P. (2021). Role of polyamines in plant tissue culture: An overview. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 145(3), 487–506. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02029-y>

Ranaweera, K. K., Gunasekara, M. T. K., and Eeswara, J. P. (2013). *Ex vitro* rooting: A low cost micropropagation technique for Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz) hybrids. *Scientia Horticulturae*, 155, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.03.001>

Rescalvo-Morales, A., Monja-Mio, K. M., Robert, M. L., and Sánchez-Teyer, L. F. (2019). Telomere length in *Agave tequilana* Weber plants during the *in vitro* to *ex vitro* transition. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 136(1), 133–140. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-1499-1>

Ribeiro, Y. R. de S., Aragão, V. P. M., Carrari-Santos, R., de Sousa, K. R., Macedo, A. F., Floh, E. I. S., Silveira, V., and Santa-Catarina, C. (2024). 2,3,5-triiodobenzoic acid affects the *in vitro* propagation of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) through alterations in endogenous polyamine and indol-3-acetic acid levels and the proteomic profile. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 156(1), 25. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02639-8>

Ribeiro, Y. R. de S., Aragão, V. P. M., de Sousa, K. R., Macedo, A. F., Floh, E. I. S., Silveira, V., and Santa Catarina, C. (2022). Involvement of differentially accumulated proteins and endogenous auxin in adventitious root formation in micropropagated shoot cuttings of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 148(1), 119–135. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02171-7>

Saha, A., and Ahmed, M. (2009). The analgesic and anti-inflammatory activities of the extract of *Albizia lebbeck* in animal model. The Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of the Extract of *Albizia Lebbeck* in Animal Model., *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, (1):74-7.

Saleem, U., Raza, Z., Anwar, F., Chaudary, Z., and Ahmad, B. (2019). Systems pharmacology based approach to investigate the *in-vivo* therapeutic efficacy of *Albizia lebbeck* (L.) in experimental model of Parkinson's disease. *BMC*

Complementary and Alternative Medicine, 19(1), 352.
<https://doi.org/10.1186/s12906-019-2772-5>

Schafer, G., and Lerner, B. L. (2022). Physical and chemical characteristics and analysis of plant substrate. *Ornamental Horticulture*, 28(2), 181–192.
<https://doi.org/10.1590/2447-536x.v28i2.2496>

Shahid, S. A., and Firdous, N. (2012). Antimicrobial screening of *Albizia lebbeck* (L.) Benth. and *Acacia leucophloea* (Roxb.). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(46), 3180–3183. <https://doi.org/DOI:10.5897/AJPP12.790>

Sharma, T., Rani, C., Kumar, D., Kumar, H., and Deep, A. (2022). Phytochemical screening and traditional medicinal potential of *Albizia lebbeck* (L.) Benth: An update. *TMR Modern Herbal Medicine*, 5(4), 23.
<https://doi.org/10.53388/MHM2022B0826001>

Sharma, V., Ankita, Karnwal, A., Sharma, S., Kamal, B., Jadon, V. S., Gupta, S., and Sivanasen, I. (2023). A Comprehensive Review Uncovering the Challenges and Advancements in the *In Vitro* Propagation of Eucalyptus Plantations. *Plants*, 12(17), 3018. <https://doi.org/10.3390/plants12173018>

Silva O, M. D. C., Hernández M, M., Almeida R, S., Moreira R, P., dos Santos L, P. S., and de Melo L, A. (2021). Seedlings of tree species produced in substrates based on organic composts. *Forest*, 51(2), 371–380.
<https://doi.org/DOI:10.5380/rf.v51i2.69047>

Silva, R. dos S., Jalal, A., Nascimento, R. E. N. do, Elias, N. C., Kawakami, K. C., Abreu-Junior, C. H., Oliveira, F. C., Jani, A. D., He, Z., Zhao, F., Filho, M. C. M. T., Rossetto, R., Capra, G. F., and Nogueira, T. A. R. (2022). Composted Sewage Sludge Application Reduces Mineral Fertilization Requirements and Improves Soil Fertility in Sugarcane Seedling Nurseries. *Sustainability*, 14(8), 4684. <https://doi.org/10.3390/su14084684>

Silveira, V., Balbuena, T. S., Santa-Catarina, C., Floh, E. I. S., Guerra, M. P., and Handro, W. (2004). Biochemical changes during seed development in *Pinus taeda* L. *Plant Growth Regulation*, 44(2), 147–156.
<https://doi.org/10.1023/B:GROW.0000049410.63154.ed>

Singh, P. R., and Singh, L. J. (2021). *In vitro* propagation for improvement of medicinal plants: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(1), 1484–1489.

Sivanandhan, G., Mariashibu, T. S., Arun, M., Rajesh, M., Kasthuriengam, S., Selvaraj, N., and Ganapathi, A. (2011). The effect of polyamines on the efficiency of multiplication and rooting of *Withania somnifera* (L.) Dunal and content of some withanolides in obtained plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(6), 2279–2288. <https://doi.org/10.1007/s11738-011-0768-y>

Song, U., and Lee, E. J. (2010). Ecophysiological Responses of Plants After Sewage Sludge Compost Applications. *Journal of Plant Biology*, 53(4), 259–267. <https://doi.org/10.1007/s12374-010-9112-0>

Steffens, B., and Rasmussen, A. (2016). The Physiology of Adventitious Roots. *Plant Physiology*, 170(2), 603–617. <https://doi.org/https://doi.org/10.1104/pp.15.01360>

Sugurbekova, G., Nagyzbekkyzy, E., Sarsenova, A., Danlybayeva, G., Anuarbekova, S., Kudaibergenova, R., Frochot, C., Acherar, S., Zhatkanbayev, Y., and Moldagulova, N. (2023). Sewage Sludge Management and Application in the Form of Sustainable Fertilizer. *Sustainability*, 15(7), 6112. <https://doi.org/10.3390/su15076112>

Tahir, M. M., Mao, J., Li, S., Li, K., Liu, Y., Shao, Y., Zhang, D., and Zhang, X. (2022). Insights into Factors Controlling Adventitious Root Formation in Apples. *Horticulturae*, 8(4), 276. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8040276>

Tang, W., and Newton, R. J. (2005a). Polyamines promote root elongation and growth by increasing root cell division in regenerated *Virginia pine* (*Pinus virginiana* Mill.) plantlets. *Plant Cell Reports*, 24(10), 581–589. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0021-5>

Thiem, B., Hermosaningtyas, A. A., Budzianowska, A., and Kikowska, M. (2023). Polish contributions in developing medicinal plant *in vitro* propagation system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 155(1), 1–28. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02562-y>

- Thorpe, T. A. (2007). History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology*, 37(2), 169–180. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0031-3>
- Tiburcio, A. F., Altabella, T., Bitrián, M., and Alcázar, R. (2014). The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. *Planta*. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2055-9>
- Tisi, A., Angelini, R., and Cona, A. (2011). Does polyamine catabolism influence root development and xylem differentiation under stress conditions? *Plant Signaling and Behavior*, 6(11), 1844–1847. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17640>
- Trigueiro, R. de M., and Guerrini, I. A. (2014). Use of sewage sludge for seedlings production of *Brazilian pepper*. *Tree Magazine*, 38(4), 657–665. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622014000400009>
- Tukey, J. W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance.
- Tymchuk, I., Malovanyy, M., Shkvirko, O., and Yatsukh, K. (2021). Sewage Sludge as a Component to Create a Substrate for Biological Reclamation. *Ecological Engineering and Environmental Technology*, 22(4), 101–110. <https://doi.org/10.12912/27197050/137863>
- Usman, K., Khan, S., Ghulam, S., Khan, M. U., Khan, N., Khan, M. A., and Khalil, S. K. (2012a). Sewage Sludge: An Important Biological Resource for Sustainable Agriculture and Its Environmental Implications. *American Journal of Plant Sciences*, 3(12), 1708–1721. <https://doi.org/10.4236/ajps.2012.312209>
- Van Berkel, K., de Boer, R. J., Scheres, B., and ten Tusscher, K. (2013). Polar auxin transport: models and mechanisms. *Development*, 140(11), 2253–2268. <https://doi.org/10.1242/dev.079111>
- Venkatesh, P., Mukherjee, P. K., Kumar, N. S., Bandyopadhyay, A., Fukui, H., Mizuguchi, H., and Islam, N. (2010). Anti-allergic activity of standardized extract of *Albizia lebbek* with reference to catechin as a phytomarker. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 32(2), 272–276. <https://doi.org/10.3109/08923970903305481>

Vinoth, A., and Ravindhran, R. (2013). *In vitro* propagation-a potential method for plant conservation. *International Journal of Computing Algorithm*, 2, 268–272.

Vráblová, M., Smutná, K., Chamrádová, K., Vrábl, D., Koutník, I., Rusín, J., Bouchalová, M., Gavlová, A., Sezimová, H., Navrátil, M., Chalupa, R., Tenklová, B., and Pavlíková, J. (2024). Co-composting of sewage sludge as an effective technology for the production of substrates with reduced content of pharmaceutical residues. *Science of The Total Environment*, 915, 169818. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169818>

Wang, Y., Khan, M. A., Zhu, Z., Hai, T., Sang, Z., Jia, Z., and Ma, L. (2022). Histological, Morpho-Physiological, and Biochemical Changes during Adventitious Rooting Induced by Exogenous Auxin in *Magnolia wufengensis* Cuttings. *Forests*, 13(6), 925. <https://doi.org/10.3390/f13060925>

Waseem, A., Jamal, A., Ahmad, W., and Fazil, M. (2020). Siras (*Albizia lebbbeck* (L.) Benth.) and its medicinal uses in unani medicine - A Review. *Cellmed Orthocellular Medicine and Pharmaceutical Association*, 10(2), 1–5. <https://doi.org/doi:http://dx.doi.org/10.5667/CellMed.2020.0012>

Woodward, A. W., and Bartel, B. (2005). A Receptor for Auxin. *The Plant Cell*, 17(9), 2425–2429. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.036236>

Xue, D., and Huang, X. (2013). The impact of sewage sludge compost on tree peony growth and soil microbiological, and biochemical properties. *Chemosphere*, 93(4), 583–589. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.065>

Yan, H., Liang, C., Yang, L., and Li, Y. (2010). *In vitro* and *ex vitro* rooting of *Siratia grosvenorii*, a traditional medicinal plant. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(1), 115–120. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0386-0>

Zakari, A., and Audu, A. (2021). Evaluation of potentially toxic metals (PTMs) accumulation and translocation by *Albizia lebbbeck* from industrial soil. *Science World Journal*, 6(2), 157–161.

Zhang, B., Zhou, X., Ren, X., Hu, X., and Ji, B. (2023). Recent Research on Municipal Sludge as Soil Fertilizer in China: a Review. *Water, Air, and Soil Pollution*, 234(2), 119. <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06142-w>

Zhao, Y., Chen, Y., Jiang, C., Lu, M.-Z., and Zhang, J. (2022). Exogenous hormones supplementation improve adventitious root formation in woody plants. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1009531>