



**BIOPROSPECÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO
VEGETAL NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE
EUCALIPTO**

ROBERLAN FERREIRA DA SILVA

2018

ROBERLAN FERREIRA DA SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO VEGETAL NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE
EUCALIPTO.**

Dissertação apresentada na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora:
Prof^a. Dra. Vera Lúcia Divan Baldani

Coorientador:
Prof. Dr. Joilson Silva Ferreira

VITÓRIA DA CONQUISTA
BAHIA – BRASIL
2018

S583b

Silva, Roberlan Ferreira da.

Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal na produção de mudas de eucalipto. / Roberlan Ferreira da Silva, 2018.

78 f. : il.

Orientador (a): Dr^a. Vera Lúcia Divan Baldani.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia. Vitória da Conquista, 2018.

Inclui referência F. 68 - 78.

1. *Eucalyptus urophylla*. 2. Bactérias diazotróficas. 3. Rizobactérias em eucaliptos -. Aplicação. 4. Promoção do crescimento. I. Baldani, Vera Lúcia Divan. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. T. III.

CDD. 634.97342

Catálogo na fonte: Juliana Teixeira de Assunção – CRB 5/1890

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
Área de Concentração em Fitotecnia

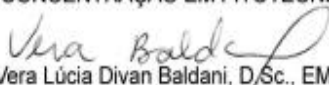
Campus de Vitória da Conquista - BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: "BIOPROSPECÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE EUCALIPTO".

Autor: Roberlan Ferreira da Silva

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela Banca Examinadora:


Profa. Vera Lúcia Divan Baldani, D.Sc., EMBRAPA-RJ
Presidente


Profa. Patrícia Anjos Bittencourt Barreto-Garcia, D.Sc., UESB


Pesq. Paulo Henrique Marques Monroe, D.Sc., PNP/CAPES.

Data de realização: 20 de julho de 2018.

*A Deus, pelo dom da vida e pela realização de mais um sonho;
Aos meus pais, Dario e Irani, por todo amor e dedicação pela família;
Meu irmão, Rodrigo, pelo apoio e amizade;
A minha namorada, Patrícia, pelo companheirismo e amor;
Meus avós Joaquim, Mirani (in memorian), Eduardo e
Leonor (in memorian);
Meus amigos Fabiano Gama e Alex Mafessoni,*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me guiar para as melhores escolhas, por renovar minha fé todos os dias ao acordar, por toda a saúde e força para vencer todas as etapas da vida até o momento.

Aos meus pais, por todo o amor, carinho e dedicação à nossa família, por sempre me incentivarem a estudar e conquistar minha formação acadêmica.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), pela contribuição na minha formação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

À minha orientadora, Dra. Vera Lúcia Divan Baldani, pelos ensinamentos compartilhados, por toda a orientação, compreensão e amizade adquirida neste período.

Aos professores Joilson Silva Ferreira e Divino Levi Miguel, pelas coorientações e auxílios prestados referentes à execução deste trabalho.

À coordenação, às secretárias e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Aos professores da banca examinadora, pelas contribuições.

Ao Laboratório de microbiologia do Solo e a toda a equipe constante nesse período de convivência.

À minha família, por todo o carinho e apoio incondicional em todas as minhas escolhas, em especial a meus tios, Carlos, Marly, Maria, Nair, Reni, Arim, Ari, Israel, Denisia, Neuza e Ozenilde.

Aos colegas Alex Barbosa Mafessoni, Anne Jucielly Barbosa, Bismarck Lopes Bahia e Bruna Lira, pela ajuda na realização dos trabalhos.

Aos amigos Alex, Ana Caetano, Anne Cangussu, André Felipe, Bismarck, Fabiano, Karina, Janaina, Jamil, Renan, Flávia, Anne e Bruna, pela amizade construída, pelos momentos de descontrações e alegrias compartilhadas.

Aos amigos Fabiano Gama, por todo o incentivo e ajuda para que eu ingressasse no curso de mestrado, e Marilene Gama, por toda a ajuda e hospitalidade na minha chegada em Vitória da Conquista.

E a todos que, de alguma forma, fizeram parte da minha formação nesse período.

RESUMO

SILVA, R. F. **Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal na produção de mudas de eucalipto.** Vitória da Conquista - BA: UESB. 2018. 79 f. (Dissertação-Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia)*

O presente trabalho teve por objetivo avaliar e prospectar a associação de diferentes bactérias promotoras de crescimento vegetal e de doses de nitrogênio na produção e transplântio de mudas de *Eucalyptus urophylla*. Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação na área experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* de Vitória da Conquista, durante os meses de fevereiro a outubro de 2018. Foram realizados dois experimentos, um para avaliação e seleção de estirpes de bactérias diazotróficas na produção de mudas e outro com as estirpes pré-selecionadas e doses de nitrogênio. No primeiro experimento, foram avaliadas 14 estirpes dos gêneros *Azospirillum amazonense*, *Pantoea agglomerans*, *Ideonella dechloratans*, *Herbaspirillum frisingense*, *Stenotrophomonas maltophilia*, isoladas de eucalipto (híbrido I144) cultivado no estado de Rondônia. No segundo experimento, foram utilizadas seis estirpes, que promoveram incrementos significativos na produção de mudas combinadas com 0, 30, 60 e 90 kg de N ha⁻¹. As estirpes IFROL1E, L5E, L6E, JV3, JV4 e ZAE94 influenciaram significativamente na produção de mudas, que foram aferidas pelas variáveis altura, diâmetro, área foliar e peso fresco e seco da parte aérea e raiz, com médias superiores à testemunha sem inoculação. A altura e o diâmetro das plantas 60 dias após o transplântio foram influenciados significativamente pelas estirpes IFROL1E, JV4E e ZAE94. As plantas apresentaram maior acúmulo em altura, diâmetro, peso fresco e seco da parte aérea quando adubadas com 90 kg de N ha⁻¹. As estirpes IFROL1E e IFROL5E proporcionam melhor desenvolvimento da parte aérea das plantas de eucalipto quando associadas a doses próximas de 50 kg de N ha⁻¹, e as estirpes IFROJV4E e ZAE94, quando associadas a 90 kg de N ha⁻¹. A inoculação de estirpes dos gêneros *Azospirillum. amazonense*, *Pantoea. agglomerans* e *Herbaspirillum seropedicae* foi eficaz na produção das mudas em viveiro e no desenvolvimento inicial após o transplântio. As rizobactérias apresentaram-se como excelente alternativa para a produção de mudas, e estudos acerca das populações específicas associadas ao gênero *Eucalyptus* devem ser constantes.

Palavras-chave: *Eucalyptus urophylla*, bactérias diazotróficas, promoção do crescimento, estirpes bacterianas.

* Orientadora: Vera Lúcia Divan Baldani, *D. Sc.* – EMBRAPA – RJ e Coorientador: Joilson Silva Ferreira, *D. Sc.* – UESB.

ABSTRACT

SILVA, R. F. **Bioprospecting of plant growth promoting rhizobacteria in the production of eucalyptus seedlings.** Vitória da Conquista - BA: UESB. 2018. 79 f. (Dissertation – Master in Agronomy, Area of Concentration in Phytotechny).*

The objective of the present work was to evaluate and prospect the association of different plant growth promoting bacteria and nitrogen doses in the production and transplanting of *Eucalyptus urophylla* seedlings. The trials were conducted in a greenhouse at the experimental area of the State University of Southwest of Bahia, Campus of Vitória da Conquista, during the months of October to February of 2018. Two experiments were carried out, one for the evaluation and selection of strains of diazotrophic bacteria in the production of seedlings, and the other with selected bacteria and nitrogen doses. In the first experiment it was evaluated 14 strains of the genera *Azospirillum amazonense*, *Pantoea agglomerans*, *Ideonella dechloratans*, *Herbaspirillum frisingense*, *Stenotrophomonas maltophilia*, isolated from eucalyptus (I144 hybrids) cultivated in the state of Rondônia. In the second experiment six strains were used, what promoted significant increases in seedling production combined with 0, 30, 60 and 90 kg of N. ha⁻¹. The IFROL1E, L5E, L6E, JV3, JV4 and ZAE94 strains significantly influenced the seedling production which was measured by the variables height, diameter, leaf area and fresh and dry weight of shoots and roots, with means higher than the control without inoculation. Plant height and diameter 60 days after transplanting were significantly influenced by the IFROL1E, JV4E and ZAE94 strains. The plants presented greater accumulation in height, diameter, fresh weight and dry weight of the aerial part when fertilized with 90 Kg of N ha⁻¹. The IFROL1E and IFROL5E strains provide better development of the aerial part of the eucalyptus plants when associated with doses close to 50 kg of N ha⁻¹ and the strains IFROJV4E and ZAE94 when associated with 90 kg of N ha⁻¹. The inoculation of strains of the genus *Azospirillum Amazonian*, *Pantoea agglomerans* and *Herbaspirillum seropedicae* were effective in nursery seedlings production and in initial development after transplanting. The rhizobacteria presented as an excellent alternative for the production of seedlings and studies of the specific populations associated with the genus *Eucalyptus* should be constant.

Key words: *Eucalyptus urophylla*, diazotrophic bacteria, growth promotion, bacterial strains.

* Advisor: Vera Lúcia Divan Baldani, *D. Sc.* – EMBRAPA – RJ e Co-advisor: Joilson Silva Ferreira, *D. Sc.* – UESB.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Tratamentos utilizados no experimento para a produção de mudas seminais de eucalipto inoculadas com rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, Vitória da Conquista – BA.....30
- Tabela 2 – Resultados de análise química do solo para implantação das mudas de eucalipto, Vitória da Conquista – BA.....32
- Tabela 3 – Solubilização de fosfato (S) e índice de solubilização (IS) e eficiência de solubilização (ES) de estirpes bacterianas isoladas de *Eucalyptus urophylla*, Vitória da Conquista – BA, 2018.....35
- Tabela 4 – Resumo da análise de variância e coeficientes de variação (CV), dos dados obtidos para as variáveis altura da planta (ALT) diâmetro (DIAM), Área foliar (A.F), peso fresco de parte aérea (PFPA), peso seco de parte aérea (PSPA), peso fresco de raiz (PFR), peso seco de raiz (PSR), Clorofila a (C.A), clorofila b (C.B), clorofila Total (C.T) e teor de nitrogênio na planta (TNP) de plântulas de eucalipto 60 dias após a emergência submetidas a inoculação de bactérias diazotróficas, Vitória da Conquista – BA, 2018.....38
- Tabela 5 – Média das variáveis peso fresco da parte aérea (PFPA) e peso seco (PSPA), peso fresco de raízes (PFR) e peso seco de raízes (PSR) de plântulas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após a emergência e inoculação bacteriana em sementes, Vitória da Conquista – BA, 2018.....41
- Tabela 6 – Média das variáveis dos índices de área foliar específica (A.F), clorofila A (C.A), clorofila B (C.B) e clorofila total (C.T) de plântulas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após a emergência e inoculação bacteriana em sementes, Vitória da Conquista – BA, 2018.....44
- Tabela 7 – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) das variáveis Altura de plantas (ALT), diâmetro (DIAM), área foliar específica (A.F), peso fresco de parte aérea (PFPA), peso seco da parte aérea (PSPA), peso fresco de raiz (PFR), peso seco de raiz (PSR), clorofila “a” (C.A), clorofila “b” (C.B), clorofila total (C.T) e teor de nitrogênio na planta (TNP) de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após o transplantio, submetidas a inoculação de estirpes bacterianas e doses de nitrogênio, Vitória da Conquista, 2018.....47

Tabela 8 – Média da Área foliar específica (A.F), peso seco de parte aérea (PSPA), peso fresco de raiz (PFR) e peso seco de raiz (PSR) de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplantio e inoculação bacteriana, Vitória da Conquista – BA, 2018.....52

Tabela 9 – Peso fresco da parte aérea de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplantio, em relação ao desdobramento da interação em função das doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.....57

Tabela 10 – Média do teor de nitrogênio nas plantas (TNP) de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplantio e inoculação bacteriana, em relação ao desdobramento da interação em função das doses de nitrogênio Vitória da Conquista – BA, 2018.....63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Temperaturas mínima, média e máxima do período de outubro/2017 a março/2018, Vitória da Conquista – BA, 2018.....27

Figura 2 – Altura de Plântulas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após emergência e inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E – *Azospirillum amazonense*, IFROL3E – *Azospirillum amazonense* IFROL4E – *Azospirillum amazonense*, IFROL5E – *Azospirillum amazonense*, IFROL6E – *Azospirillum amazonense*, IFROL7E – *Stenotrophomonas maltophilia*, IFROJV1E – *Pantoea agglomerans*, IFROJV2E – *Herbaspirillum frisingense*; IFROJV3E – *Ideonella dechloratans*; IFROJV4E – *Pantoea agglomerans*, IFROJV5E – *Pantoea agglomerans*, BR11366 – *Burkholderia tropica*; ZAE 94 – *Herbaspirillum seropedicae*; Aam82 – *Azospirillum amazonense*; TEST – Sem inoculação, Vitória da Conquista – BA, 2018.....39

Figura 3 – Diâmetro de Plântulas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após emergência e inoculação de estirpes bacterianas: : IFROL1E – *Azospirillum amazonense*, IFROL3E – *Azospirillum amazonense* IFROL4E – *Azospirillum amazonense*, IFROL5E – *Azospirillum amazonense*, IFROL6E – *Azospirillum amazonense*, IFROL7E – *Stenotrophomonas maltophilia*, IFROJV1E – *Pantoea agglomerans*, IFROJV2E – *Herbaspirillum frisingense*; IFROJV3E – *Ideonella dechloratans*; IFROJV4E – *Pantoea agglomerans*, IFROJV5E – *Pantoea agglomerans*, BR11366 – *Burkholderia tropica*; ZAE 94 – *Herbaspirillum seropedicae*; Aam82 – *Azospirillum amazonense*; TEST – Sem inoculação, Vitória da Conquista – BA, 2018.....40

Figura 4 – Altura de mudas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplântio e inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E – *Azospirillum amazonense*, IFROL5E – *Azospirillum amazonense*, IFROL6E – *Azospirillum amazonense*, IFROJV3E – *Ideonella dechloratans*; IFROJV4E – *Pantoea agglomerans*, ZAE 94 – *Herbaspirillum seropedicae*; TEST – Sem inoculação, Vitória da Conquista – BA, 2018.....48

Figura 5 – Diâmetro de mudas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplântio e inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E – *Azospirillum amazonense*, IFROL5E – *Azospirillum amazonense*, IFROL6E – *Azospirillum amazonense*, IFROJV3E – *Ideonella dechloratans*; IFROJV4E – *Pantoea agglomerans*, ZAE 94 – *Herbaspirillum seropedicae*; TEST – Sem inoculação, Vitória da Conquista – BA, 2018.....49

Figura 6 – Altura (A) e diâmetro (B) de mudas seminais de <i>Eucalyptus urophylla</i> aos 60 dias após o transplântio em função de quatro doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.....	51
Figura 7 – Área foliar (A) e peso seco de parte aérea (B) de mudas seminais de <i>Eucalyptus urophylla</i> aos 60 dias após o transplântio em função de quatro doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.....	55
Figura 8 – Peso seco e fresco de raiz de mudas de <i>Eucalyptus urophylla</i> aos 60 dias após o transplântio em função das quatro doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.....	56
Figura 9 – Peso fresco de parte aérea em relação ao desdobramento da interação em função da inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E – <i>Azospirillum Amazonense</i> (A); IFROJV4E – <i>Pantoea agglomerans</i> (B); IFROJV3E – <i>Ideonella dechloratans</i> (C); IFROL5E – <i>Azospirillum amazonense</i> (D); ZAE94 – <i>Herbaspirillum seropedicae</i> (E) IFROL6E – <i>Azospirillum Amazonense</i> (F), Vitória da Conquista – BA, 2018.....	60
Figura 10 – Teores de clorofila “a”, em mudas seminais de <i>Eucalyptus urophylla</i> aos 60 dias após o transplântio em função de quatro doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.....	62
Figura 11 – Teor de nitrogênio na planta em relação ao desdobramento da interação em função da inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E – <i>Azospirillum Amazonense</i> (A); IFROJV4E – <i>Pantoea agglomerans</i> (B); IFROJV3E – <i>Ideonella dechloratans</i> (C); IFROL5E – <i>Azospirillum amazonense</i> (D), ZAE94 – <i>Herbaspirillum seropedicae</i> (E), Testemunha sem inoculação (F), IFROL6E – <i>Azospirillum Amazonense</i> (G), Vitória da Conquista – BA, 2018.....	65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Eucalipto: Origem, importância e espécies cultivadas no Brasil.....	16
2.2 Processos de produção de mudas.....	18
2.3 Rizobactérias em plantas não leguminosas	20
2.4 Aplicações das rizobactérias em eucalipto	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Caracterização da área Experimental	27
3.2. Isolados utilizados	28
3.3. Caracterização fisiológica para solubilização de Fosfato	29
3.4. Experimento I - Produção de mudas seminais de eucalipto em sistema de tubetes inoculadas com rizobactérias, Vitória da Conquista – BA.	30
3.4.1. <i>Delineamento experimental</i>	30
3.4.2. <i>implantação, inoculação e adubação</i>	30
3.5. Experimento II - Avaliação do transplantio de mudas seminais de eucalipto produzidas via inoculação de rizobactérias, combinadas com doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA.	32
3.5.1. <i>Delineamento experimental</i>	32
3.5.2. <i>Transplantio e adubação</i>	32
3.6. Coleta dos dados e variáveis avaliadas.....	33
3.7. Análise estatística	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1. Solubilização de fosfato.....	35
4.2. Experimento I - Produção de mudas seminais de eucalipto em sistema de tubetes inoculadas com rizobactérias, Vitória da Conquista – BA	36
4.2. Experimento II - Avaliação do transplantio de mudas seminais de eucalipto produzidas via inoculação de rizobactérias, combinadas com doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA.	46
5 CONCLUSÕES	67
6 REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

O setor florestal vem se destacando ao longo dos anos com a alta necessidade de produtos oriundos das florestas, como a madeira para serraria, celulose e resina. O gênero *Eucalyptus* tem sido um auxílio no suprimento dessa demanda por madeira com propriedades silviculturais específicas e vantajosas.

A área de plantações florestais para fins industriais no Brasil totalizou 7,74 milhões de hectares em 2014, aumento de 1,8% em relação a 2013. Esse total corresponde a apenas 0,9% do território brasileiro, sendo que os plantios de eucalipto ocupam 5,56 milhões de hectares da área de florestas plantadas no País, o que representa 71,9% do total (IBA, 2015).

Com o crescente avanço das florestas plantadas, o setor de produção de mudas tem se destacado como uma atividade de excelente retorno econômico. A produção de mudas em viveiros florestais é um processo produtivo que requer o uso de equipamentos e insumos e necessita de retorno econômico em curto e médio prazo (GÓES e outros, 2015).

As espécies de eucalipto são propagadas de forma sexuada ou assexuada, sendo a última forma a mais utilizada. Para a produção das mudas, são utilizadas pequenas estacas com gemas apicais viáveis ou sementes que originaram mudas em boas condições.

Portanto, a qualidade das mudas é fator de grande importância, principalmente, nos primeiros meses após o plantio, quando elas são submetidas às condições ambientais mais adversas do que aquelas preponderantes nos viveiros florestais (GROSSNICKLE, 2012).

Portanto, faz-se necessário que as mudas cheguem a campo em perfeitas condições para o plantio, com sistema radicular e parte aérea bem desenvolvidos para melhor captação de água, nutrientes e a realização da fotossíntese. Para isso, torna-se importante a aplicação de biotecnologia para

melhorar as características estruturais e o vigor das mudas, a fim de garantir o seu bom desenvolvimento.

Uma alternativa viável que melhora a qualidade das mudas é o uso de rizobactérias promotoras de crescimento, as quais podem contribuir significativamente para o crescimento vegetal, produzindo hormônios de crescimento e auxiliando no fornecimento de nitrogênio, que é um elemento de extrema importância para as plantas.

Hungria (2011) afirma que as bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCPs) podem estimular o crescimento das plantas de diversas maneiras. A presença desses microrganismos associativos benéficos para as culturas de interesse agrícola é vital, pois estabelece e acelera os processos bioquímicos que influenciam no crescimento e desenvolvimento das plantas.

O maior desenvolvimento está associado ao aumento de produtos químicos disponíveis e à produção de substâncias de crescimento ou controle de agentes patogênicos (BAREA e outros, 2005).

Dentre as BPCPs, estirpes dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum* e *Paenibacillus* são frequentemente descritas como potenciais promotoras do crescimento de plantas (VIEIRA, 2018). Além da fixação do nitrogênio, fatores como a produção de compostos indólicos (ex. auxinas e giberilinas), atividade da enzima nitrato redutase e demais compostos orgânicos podem trazer grandes benefícios para o desenvolvimento das plantas.

As bactérias do gênero *Azospirillum* colonizam preferencialmente o rizoplano e a rizosfera de plantas, devido ao acúmulo de uma variedade de compostos orgânicos liberados pelas raízes por exsudação, secreção e deposição (DOBBELAERE e outros, 2003), e são denominadas endófitas facultativas ou de vida livre.

Bactérias que colonizam preferencialmente tecidos vegetais internos são denominadas endófito obrigatório, como *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum spp.*, *Azoarcus spp.* e *Burkholderia spp.*, e, geralmente, possuem um espectro restrito de plantas hospedeiras (BALDANI

e outros, 1997). Essas proporcionam maior desenvolvimento das raízes e da parte aérea, incrementos na absorção de água e minerais e maior tolerância a estresses abióticos, tais como salinidade e seca (ROSCOE; MIRANDA, 2013).

Apesar da comprovada importância das BPCP, os estudos sobre a atuação desses microrganismos em eucalipto ainda se apresentam em número reduzido. Assim, estudos relacionados a bactérias diazotróficas e à produção de mudas devem ser conduzidos a fim de encontrar microrganismos com maior eficiência nos processos citados anteriormente, buscando resultados positivos à atividade de produção de mudas e a melhoria das condições das plantas para que sejam levadas a campo com maior robustez e tragam, assim, melhorias à silvicultura.

Assim, objetivo deste trabalho foi avaliar e prospectar a associação de diferentes bactérias promotoras de crescimento vegetal e de doses de nitrogênio na produção e transplante de mudas de *Eucalyptus urophylla*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Eucalipto: Origem, importância e espécies cultivadas no Brasil

O gênero *Eucalyptus*, pertencente à família Myrtaceae, (subfamília das Leptospermoideae), amplamente difundida nos trópicos, possui cerca de 600 espécies e subespécies e apresenta uma ampla plasticidade e dispersão mundial; cresce satisfatoriamente em diferentes situações edafoclimáticas e extrapola aquelas das regiões de origem (SANTOS e outros, 2001).

O gênero destaca-se em sua família por apresentar um elevado número de espécies. A maioria dessas espécies tem o centro de diversidade na Austrália e em países próximos: Filipinas, Nova Zelândia e Indonésia (BROOKER e outros, 2002). O eucalipto, nas suas diversas variações, é cultivado mundialmente em locais de clima temperado a tropical, entre os quais se destacam países como a África do Sul, China, Índia e Brasil (ELDRIDGE e outros, 2001).

No Brasil, a chegada das primeiras espécies deu-se após o século XIX; eram utilizadas especialmente para fins paisagísticos e vinham principalmente da Austrália. A data precisa da introdução do eucalipto em nosso país é difícil de ser estimada, devido aos registros de entrada das primeiras sementes em épocas distintas (MARTINI, 2004). O estudo dessa espécie iniciou-se com a descrição das primeiras florestas, em 1788, na Austrália, onde ela representa cerca de 60% das florestas existentes (SERPA, 2014).

A introdução de espécies desse gênero no Brasil só se tornou possível para fins comerciais, devido à fácil adaptabilidade a diferentes condições edafoclimáticas e à semelhança de latitudes tropicais e subtropicais entre o Brasil e o centro de diversidade de *Eucalyptus* spp. (SILVA, 1983).

O impulsor, considerado pai da eucaliptocultura no Brasil, foi o engenheiro agrônomo Edmundo Navarro de Andrade, em 1904 (REZENDE,

2005). Assim, estudos passaram a ser feitos por Edmundo com a finalidade de obter matéria-prima destinada à produção de lenha e dormentes para a Companhia Paulista de Estradas de Ferro. Em seus estudos, Navarro de Andrade comparou várias essências florestais naturais do Brasil com outras exóticas, entre elas, *Eucalyptus globulus* (MARTINI, 2004).

O grande avanço das áreas plantadas utilizando espécies de *Eucalyptus* foi impulsionado pela alta produtividade, rápido crescimento, ampla diversidade de espécies do gênero adaptáveis às várias regiões do Brasil e devido à sua aplicabilidade em diferentes processos do setor florestal (CAMPOS e outros 2009). No Brasil, as espécies mais cultivadas são: *E. camaldulensis*, *E. cloeziana*, *E. dunnii*, *E. grandis*, *E. globulus*, *E. paniculata*, *E. pilularis*, *E. saligna*, *E. staigeriana*, *E. urophylla*, e híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis* (WILCKEN e outros, 2008).

Dentre as espécies puras citadas, *E. grandis* é considerada a espécie mais plantada no Brasil (SPASSIN, 2014). O interesse por essa espécie advém das ótimas características que ela apresenta quando em condições favoráveis ao seu desenvolvimento (MORA; GARCIA, 2000). A boa forma do fuste, boa desrama natural, reduzida quantidade de casca, elevado percentual de cerne, superioridade no incremento volumétrico e o rápido crescimento e desenvolvimento da espécie são algumas das características que a tornaram tão visada (PALUDZYSZYN FILHO e outros, 2006) e altamente plantada na região Sudeste do Brasil (ROCHA; TOMASELLI, 2002).

A espécie *E. urophylla* também apresenta grande potencial para produção, com grande acúmulo de massa em curto período com boa forma de fuste e baixa incidência de pragas e doenças; é também bastante explorada economicamente, de modo especial, pelos híbridos formados com *E. grandis*.

2.2 Processos de produção de mudas

A produção de mudas para reflorestamento, com as características desejáveis, mostra-se ideal quando se semeia direto no solo, pois, ao emergir da semente, a radícula vai aos poucos ocupando as frações de solo ideais para o seu desenvolvimento, de acordo com o estágio fenológico da planta (CARNEIRO, 1995). Contudo, o plantio de sementes florestais a campo mostra-se desvantajoso, pois as taxas de sobrevivência são menores e são necessários maiores cuidados e custos. Tem-se, então, utilizado o plantio de mudas produzidas em viveiro, e, posteriormente, estas são levadas para o campo (SIMÕES, 1987).

Com a necessidade de se obterem grandes quantidades de mudas de qualidade para suprir a demanda dos plantios, empreendedores entraram no ramo silvicultural com viveiros, produzindo em ampla escala mudas seminais de boa qualidade e livres de possíveis doenças que afetariam os plantios futuros; o grande problema encontrado foi a falta de uniformidade das mudas originárias de fontes seminais (PALUDZYSZYN FILHO e outros, 2006).

Com isso, a utilização da silvicultura clonal proporcionou avanços para uma multiplicação rápida e eficiente de genótipos selecionados. O início de programas de clonagem na década de 70 tornou-se fundamental para o desenvolvimento de novas tecnologias, as quais transformaram o cenário florestal brasileiro, proporcionando a obtenção de plantios homogêneos e resistentes à incidência principalmente de cancro (ALFENAS e outros, 2009).

A propagação clonal do eucalipto pode ser caracterizada pelas técnicas de macroestaquia, microestaquia e miniestaquia (ASSIS, 2007). Esta última, em função das diversas vantagens, tem sido a técnica de propagação mais comumente empregada no Brasil. Dentre essas vantagens, podem-se citar os menores custos de produção quanto à implantação e manutenção dos minijardins; transporte e processamento de brotações; alto índice de juvenildade dos brotos e maior velocidade de enraizamento, entre outras (MELO e outros, 2012).

A produção de mudas é uma das fases mais importantes para o estabelecimento dos povoamentos florestais. A nutrição adequada das dessas e o uso de substrato de cultivo apropriado são fatores essenciais para assegurar boa adaptação e crescimento após o plantio (BARROS e outros, 2002). O êxito de um reflorestamento depende de muitos fatores, entre eles, a qualidade das mudas levadas ao campo, as quais, além de resistirem às condições adversas, devem ser capazes de se desenvolver e produzir árvores com crescimento satisfatório (GONÇALVES e outros, 2004).

Os substratos para a produção de mudas podem ser formados por um único material ou pela combinação de diferentes tipos de materiais, como terra de subsolo, composto orgânico, moinha de carvão, casca de arroz carbonizada, vermiculita, areia, cama de aviário, esterco de curral curtido, lodo de esgoto, húmus de minhoca, entre outros (WENDLING, 2002).

A utilização de matéria orgânica na composição do substrato contribui de modo decisivo em muitas propriedades físico-químicas, como capacidade de troca de cátions, formação de complexos e quelatos com numerosos íons, e na capacidade de retenção de umidade, sendo que as fontes mais comuns de resíduo orgânico são representadas pelos resíduos de culturas, estercos, compostos e outros (CALEGARI, 1998). Além disso, precisa fornecer a necessária fixação da planta, e sua qualidade deve permanecer a mesma por todo o ciclo da cultura, a fim de que o processo do sistema de cultivo possa ser padronizado (RÖBER, 2000).

A fertilidade dos substratos deve ser ideal para o bom desenvolvimento das mudas, a fim de garantir mudas com maior qualidade para o transplantio e minimizar os principais problemas na condução de florestas plantadas. Assim, é a qualidade das mudas que garantirá o sucesso do plantio, assim como um menor índice de mortalidade e, conseqüentemente, de replantio (SILVA; ANTONIOLLI; ANDREAZZA, 2002).

Portanto, a inserção de insumos biológicos na produção de mudas pode ser uma alternativa para melhorar a absorção de nutrientes do solo pela planta de forma mais sustentável nos solos (BOFF, 2014). As rizobactérias

promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) mostram-se como uma excelente forma de insumo biológico; elas podem, de acordo com Hungria (2011), induzir enraizamento, crescimento de plantas e controle de doenças em muitas culturas.

2.3 Rizobactérias em plantas não leguminosas

O bom desenvolvimento de uma determinada cultura é caracterizado principalmente pela disponibilidade de nutrientes às plantas; assim, o nitrogênio é o nutriente que mais se encontra nos vegetais superiores devido a uma série de funções fisiológicas que desempenha. É um dos principais elementos constituintes dos aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, clorofila e muitos outros. É também um importante constituinte celular e, por isso, um elemento essencial para todos os organismos vivos (GOMES e outros, 2005; SORATTO, 2010).

Sua participação no metabolismo tem sido bastante estudada na maioria das espécies cultivadas, principalmente as de ciclo anual, mas poucos estudos têm sido conduzidos com espécies florestais em condições tropicais (JESUS e outros, 2012).

Nos países de clima tropical, a agricultura é mais dependente do emprego de fertilizantes nitrogenados, pois, devido à grande quantidade de chuvas e à rápida decomposição da matéria orgânica, grande parte do N é perdida via lixiviação, desnitrificação e pela imobilização microbiana (SALA e outros, 2007).

Nas últimas décadas, esforços foram feitos na tentativa de se utilizarem métodos alternativos, visando à redução do uso de controles químicos tradicionais e de fertilizantes químicos, como a utilização de agentes biológicos (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003; LIMA, 2010). Estes agentes disponibilizam nutrientes essenciais à cultura, promovem crescimento e uma

maior produtividade; pode-se obter a partir deles alta produtividade, com baixo custo e com menos agressão ao ambiente (ARRUDA, 2012).

Dentre os microrganismos biológicos utilizados na agricultura, podemos destacar os fungos micorrízicos e as bactérias diazotróficas. As bactérias diazotróficas são conhecidas por realizarem a quebra da tripla ligação no N₂ atmosférico transformando-o em amônia, realizando o processo conhecido por fixação biológica de nitrogênio (FBN), aumentando a quantidade desse elemento no solo ou o transferindo diretamente à planta quando associadas a ela. Em contrapartida, requerem energia na forma de ATP, que é sintetizada pelas plantas por meio do processo fotossintético.

Entre todas as bactérias procarióticas existentes na natureza, acredita-se que apenas 5% desses microrganismos possuem os genes codificantes responsáveis por realizar o processo biológico de fixação de nitrogênio (RAYMOND e outros, 2004). As bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas são classificadas em: rizosféricas, endofíticas facultativas e endofíticas obrigatórias (BALDANI e outros, 1997). As bactérias rizosféricas colonizam a rizosfera das plantas, enquanto as endofíticas colonizam interiormente a planta, sendo que as facultativas são encontradas nas raízes interna e externamente e as obrigatórias, no interior de raízes e na parte aérea (SOUZA, 2017).

As bactérias diazotróficas endofíticas ainda podem ser homólogas quando isoladas de uma espécie vegetal e eficientes no restabelecimento nas raízes da mesma espécie vegetal, após a inoculação (BALDANI; BALDANI, 2005), e estirpes não homólogas, originalmente, são isoladas de uma espécie vegetal associadas a outra (SALA e outros, 2007).

A capacidade de diversos endófitos bacterianos de promover o crescimento das plantas ocorre como consequência de mecanismos diretos ou indiretos. A promoção direta do crescimento das plantas ocorre quando uma bactéria facilita a aquisição de nutrientes essenciais ou modula o nível de hormônios de uma planta. A promoção indireta do crescimento das plantas

ocorre quando a atividade fitopatogênica é inibida, o que diminui os danos às plantas (GLICK, 2014; SANTOYO e outros, 2012).

Além da fixação biológica de nitrogênio, as BPCP's podem promover o crescimento das plantas pelo aumento na atividade da redutase do nitrato, quando crescem endofiticamente nas plantas; produção de hormônios, como auxinas, citocininas, giberelinas e uma variedade de outras moléculas; solubilização de fosfato; e, por atuarem como agente de controle biológico de patógenos, como elucidado por Hungria (2011), que, revisando vários autores, conceituou as BPCP como grupo de microrganismos benéficos às plantas, devido à sua capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas.

Assim, vários trabalhos demonstram efeito benéfico das bactérias promotoras do crescimento em plantas em diversas culturas com estudos dinâmicos de isolamento, seleção, identificação e quantificação da contribuição das estirpes mais eficientes.

Para algumas culturas, como o milho, cana, arroz e trigo, estudos mostram uma contribuição das BPCP's de, aproximadamente, 25 a 50 kg de N ha⁻¹ (MOREIRA e outros, 2010) para a necessidade de nitrogênio das plantas, o que indica a diminuição dos custos com adubação nitrogenada.

Aumentos significativos nos valores de acúmulo de biomassa foram observados na variedade RB867515 de cana-de-açúcar, quando inoculada com um coquetel de bactérias (*Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica* e *Azospirillum amazonense*), em comparação à adição de estirpes individuais ou de adubação nitrogenada (PEREIRA e outros, 2013).

De Souza Rocha e outros (2018), avaliando o desempenho de milheto inoculado com estirpes de *Azospirillum brasilense*, verificaram que os valores de biomassa fresca e matéria seca das plantas foram 37% superiores em comparação ao tratamento com 100% da dose de nitrogênio aplicado em cobertura.

Estudando a interferência de estirpes de *bacillus* na cultura do feijão comum, foi observado incremento significativo sobre o número de sementes, massa fresca da parte aérea e da raiz e massa seca da parte aérea (CERQUEIRA e outros, 2015).

Sabino e outros (2012), avaliando o desenvolvimento inicial de plântulas de arroz, observaram que a combinação de inoculação com estirpes de bactérias diazotróficas, mais a aplicação de 50 Kg de N ha⁻¹, propicia os maiores acúmulos de biomassa.

A inoculação de *Azospirillum brasilense* em sementes de milho promoveu um incremento na altura e na produção de grãos quando comparada ao controle, o que aumentou a matéria seca das plantas (BRACCINI e outros (2012).

Ferreira e outros (2010), avaliando a sobrevivência de bactérias diazotróficas em dois inoculantes à base de turfa, verificaram que a inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* aumentou em até 13 e 19% a produção e o N-total dos grãos, respectivamente, na variedade de arroz IAC4440.

Esses resultados evidenciam os benefícios que as PGPR podem proporcionar, ao disponibilizarem, nitrogênio às plantas para serem usadas em seu metabolismo e crescimento (ARRUDA, 2012).

2.4 Aplicações das rizobactérias em eucalipto

Apesar da importância comercial e econômica do eucalipto, existem poucos estudos sobre as comunidades microbianas em seus ecossistemas, e pouco se sabe sobre como os microrganismos do solo interagem e beneficiam a nutrição nitrogenada de *Eucalyptus* (SILVA e outros, 2014).

Entre os diversos microrganismos que habitam o solo, as bactérias constituem o grupo mais numeroso e podem variar de acordo com o tipo de solo, manejo e métodos de isolamento empregados (BRANDÃO, 1992). As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) são bactérias

encontradas na rizosfera; podem estar na superfície ou em associação com as raízes e são capazes de potencializar o crescimento da planta de maneira direta ou indireta (GALDIANO JUNIOR e outros, 2011).

O efeito benéfico da aplicação de rizobactérias sobre o enraizamento, crescimento e biocontrole de doenças do eucalipto foi elucidado por Mafia e outros (2005). Além da melhora do enraizamento, as bactérias benéficas têm múltiplas funções, agindo no controle de fitopatógenos, indução de germinação, promoção do crescimento da planta pela produção de hormônios como auxinas e giberelinas, por inibição da síntese de etileno e aumento do estabelecimento de mudas no campo após o transplante (LUZ, 1996; MAFIA e outros, 2009).

Os estudos das bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) em eucalipto apresentam-se em número reduzido. Como exemplo, Zarpelon (2007) avaliou a formulação de um inoculante (Rizolyptus®), contendo várias espécies bacterianas, no enraizamento e crescimento do eucalipto, no qual a inoculação de rizobactérias no substrato de enraizamento acarretou melhoria na qualidade das mudas de eucalipto levadas ao campo, além de promover o controle de patógenos.

Mafia e outros (2005) avaliaram o efeito de rizobactérias promotoras incorporadas ao substrato de minijardins clonais de eucalipto, e foi observado que a produção de mudas de eucalipto em substrato tratado com rizobactérias pré-selecionadas, para posterior formação de minicepas, poderá aumentar a produção de brotos, a depender do isolado de rizobactéria e clone. Os resultados indicam claramente que rizobactérias podem ser utilizadas para maximizar a propagação vegetativa do eucalipto, por estaquia.

Avaliando a germinabilidade de sementes de eucalipto com a aplicação de bactérias extremófilas, foi verificado que algumas estirpes testadas promoveram diminuição no tempo médio de germinação e menor coeficiente de velocidade de germinação, o que evidencia uma germinação mais rápida (MARQUES e outros, 2014).

Estudo avaliando a compatibilidade e o efeito da mistura de isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas sp.*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Pseudomonas fulva*, revelou respostas significativas em comparação à testemunha para as misturas, como o aumento significativo da biomassa de raízes e porcentagem de enraizamento de vários clones (MAFIA e outros, 2007).

Trabalho avaliando bactérias extremófilas facultativas em diferentes solos e seus efeitos no aumento de fitomassa de planta de eucalipto demonstrou que estirpes do gênero *Bacillus sp.* e *Enterobacter sp.* foram capazes de aumentar a massa de matéria seca, tanto de raízes quanto da parte aérea (MARQUES e UESUGUI, 2013).

Avaliando a microbiolização e interação entre rizobactérias promotoras do crescimento e clones de eucalipto, Mafia e outros (2009) mostraram incremento significativo para oito clones de eucalipto, quando microbiolizados, sobre as características de biomassa de raiz e porcentagem de germinação; destacam ainda efeito positivo associado ao controle de podridão radicular causada por *Cylindrocladium spp.*

Logo, esses trabalhos mostram a eficiência das BPCP's em eucalipto, principalmente das pertencentes aos gêneros *Pseudomonas fulva*, *Pseudomonas sp.* e *B.subtilis* (TEIXERA, 2007). Entretanto, um número reduzido relata a presença de outros gêneros, já identificados em diferentes espécies vegetais, com destaque para *Azospirillum sp.*, *Herbaspirillum sp.*, *Burkholderia sp.*, entre outros (BALDANI e outros, 1997; DÖBEREINER, 1990; MOREIRA e outros, 2010).

Melo e outros (2012), trabalhando com inoculação de bactérias do gênero *herbaspirillum seropedicae* na promoção de enraizamento de clones de eucalipto, demonstraram incremento médio de 21,25% de plantas enraizadas em relação ao controle sem inoculação.

Moreira e outros (2010) apontam que, dada a ampla diversidade de habitats, as bactérias diazotróficas têm sido encontradas em associação com

diversas culturas, tais como milho, arroz, cana-de-açúcar, trigo, café, palmeiras, gramíneas, entre outras.

Sendo assim, observa-se a importância de se avaliar e prospectar a associação de diferentes espécies de bactérias diazotróficas no desenvolvimento de plantas de eucalipto.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área Experimental

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na área experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* de Vitória da Conquista, situada a 14° 53' de latitude Sul e 40° 48' de longitude Oeste, a 852 metros de altitude. O clima do município, conforme classificação climática de Köppen-Geiger, é do tipo Cwb (tropical de altitude). A temperatura média anual está em torno de 20,2°C, e a precipitação média é de 733,9mm, com período chuvoso bem definido concentrado entre novembro e janeiro (SEI, 2013).

As características climáticas do período experimental estão apresentadas na Figura 1, conforme dados da estação meteorologia 86697 do INMET, situada em Vitória da Conquista – BA.

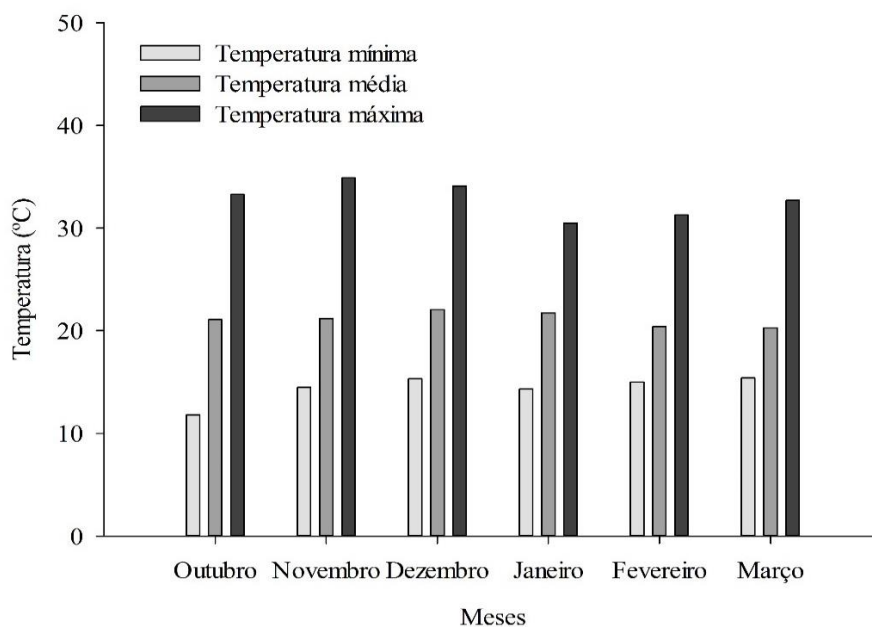


Figura 1. Temperaturas mínima, média e máxima do período de outubro/2017 a março/2018, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia – INMET

De maneira geral, os experimentos foram conduzidos em um ano de condições atípicas, que apresentaram baixas temperaturas, as quais reduziram significativamente o desenvolvimento das plantas.

Foram utilizadas sementes do híbrido *Eucalyptus. urophylla* AEC-0144, sendo este um híbrido espontâneo segregante, produzido por polinização livre e clonado a partir de um plantio comercial, estabelecido com sementes de uma Área Produtora de Sementes (APS) de Turmalina - MG. As sementes foram adquiridas por meio do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF) e eram provenientes da safra de 2014.

3.2. Isolados utilizados

As bactérias utilizadas foram: *Azospirillum amazonense* (5), *Pantoea agglomerans* (3), *Ideonella dechloratans* (1), *Herbaspirillum frisingense* (1) e *Stenotrophomonas maltophilia* (1), isoladas de plantas do híbrido de eucalipto comercialmente conhecido por AEC144, sob registro do MAPA N° 21874, situado em plantio experimental no estado de Rondônia, a 13°07' de latitude sul e 60°29' de longitude leste.

Para título de comparação, também foram utilizadas 3 bactérias padrões da coleção de cultura da EMBRAPA-Agrobiologia, sendo uma estirpe de *Azospirillum amazonenses* (Aam82), uma estirpe de *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11417) e uma estirpe de *Burkholderia tropica* (BR11366), além de uma testemunha absoluta.

Os isolados foram retirados do estoque e mantidos em cultivo em meios específicos, JMV – *Burkholderia*, descrito por Baldani (1996), JNFb – *Herbaspirillum* descrito por Döbereiner; Baldani; Baldadi (1995), LGI – *Azospirillum amazonense*, descrito por Magalhães (1983); esse processo foi mantido durante todo o período experimental.

3.3. Caracterização fisiológica para solubilização de Fosfato

O crescimento e a atividade solubilizadora (capacidade e índice de solubilização) dos isolados foram testados em placas de Petri contendo meio glicose-extrato de levedura/GEL e fosfato de cálcio. O fosfato de cálcio foi obtido pela adição de 1 mL de uma solução de K_2HPO_4 a 5% e 1 mL de uma solução de $CaCl_2$ a 10% por 10 mL de meio (SYLVESTER-BRADLEY e outros, 1982).

Foi utilizado o método *drop plate*, no qual alíquotas de 10 μ l da cultura crescida em meio DYGS foram inoculadas na superfície de placas de petri e incubadas em estufa a 30°C. Foram utilizadas 4 alíquotas por placa e 3 repetições. O diâmetro do halo de solubilização foi observado após 8 dias de incubação.

A capacidade de solubilização foi quantificada com a formação de halo característico ao redor das alíquotas inoculadas, sendo positiva quando ocorreu formação e negativa sem a formação do halo. As medidas do diâmetro (\emptyset) dos halos de solubilização e as do \emptyset das colônias foram mensuradas a cada três dias, utilizando-se um paquímetro digital.

A partir dessas medidas, foram obtidos os índices de solubilização de cada isolado por meio da fórmula: $IS = \emptyset \text{ Halo (mm)} / \emptyset \text{ Colônia (mm)}$ (HARA; OLIVEIRA, 2004). Com os valores dos índices de solubilização, as bactérias foram classificadas como estirpes com baixa ($IS < 2$), média ($2 \leq IS < 4$) e alta solubilização ($IS > 4$) (CHAGAS JUNIOR e outros, 2010).

3.4. Experimento I - Produção de mudas seminais de eucalipto em sistema de tubetes inoculadas com rizobactérias, Vitória da Conquista – BA.

3.4.1. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições e 15 tratamentos, sendo 14 estirpes e uma testemunha absoluta sem inoculação, totalizando 60 parcelas; cada parcela, composta por dez plântulas de eucalipto.

Tabela 1 – Tratamentos utilizados em experimento para avaliação da produção de mudas seminais de eucalipto inoculadas com rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, Vitória da Conquista – BA.

Tratamentos	Estirpe/tratamento	Espécie
1	IFROL1E	<i>Azospirillum amazonense</i>
2	IFROL3E	<i>Azospirillum amazonense</i>
3	IFROL4E	<i>Azospirillum amazonense</i>
4	IFROL5E	<i>Azospirillum amazonense</i>
5	IFROL6E	<i>Azospirillum amazonense</i>
6	IFROL7E	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
7	IFROJV1E	<i>Pantoea agglomerans</i>
8	IFROJV2E	<i>Herbaspirillum frisingense</i>
9	IFROJV3E	<i>Ideonella dechloratans</i>
10	IFROJV4E	<i>Pantoea agglomerans</i>
11	IFROJV5E	<i>Pantoea agglomerans</i>
12	BR11366	<i>Burkholderia tropica</i>
13	ZAE 94 (BR11417)	<i>Herbaspirillum seropedicae</i>
14	Aam82	<i>Azospirillum amazonense</i>
15	Testemunha	Sem inoculação

3.4.2. implantação, inoculação e adubação

Para a instalação do experimento, foram utilizadas bandejas de polipropileno em formato de tubetes contendo 24 células, as quais possuíam volume de, aproximadamente, 9,0 cm²; esses foram preenchidos por substrato comercial à base de turfa de sphagnum, fibra de coco, casca de arroz, casca de pinus e vermiculita da empresa BIOPLANT[®]. Foram realizados dois ciclos de autoclavagem no substrato a 120°C durante um período de 60 minutos cada;

esses ciclos foram espaçados em três dias, com o objetivo de eliminar possíveis microrganismos benéficos ou maléficos presentes, para que não interferissem no resultado experimental.

Após a autoclavagem do substrato, foi realizada uma adubação de suporte para as futuras mudas seguindo-se recomendação do IPEF, sem adição de nitrogênio. Utilizaram-se 200g de FTE, como fonte de micronutrientes, 700g de fósforo (P_2O_5) e 200g de potássio (K_2O); essa recomendação foi para fração de mil litros de substrato. Em seguida, as bandejas foram preenchidas respeitando uma compactação mínima para todas as suas respectivas células e, por fim, foram irrigadas para receber as sementes. No momento do plantio, foram adicionadas cinco sementes por célula, das quais quatro seriam eliminadas 10 DAE (dias após a emergência); apenas uma plântula vigorosa e uniforme seria deixada.

Para a inoculação, foi preparada uma solução bacteriana, por meio da incubação de colônias puras das estirpes em tubos contendo 5 mL de meio DYGS descrito por Baldani (1996), sendo este agitado por 24 horas a 150 RPM, em ambiente escuro e temperatura constante de 30°C. Após a constatação do crescimento bacteriano por meio da D.O em espectrofotômetro a 620 nanômetros, foi transferido 1 mL da solução previamente crescida para erlenmeyer contendo 50 mL de meio DYGS; este permaneceu sob nova agitação por 24 horas a 150 RPM, sob uma temperatura de 30°C e ao abrigo da luz.

O processo de inoculação deu-se por meio da deposição de 0,5ml da suspensão bacteriana, contendo 10^8 células/ml, conforme ajuste da D.O para 1,0, em cada célula da bandeja do seu respectivo tratamento. Ao final do plantio e inoculação, as bandejas foram alocadas em bancadas suspensas em casa de vegetação por 60 dias; foram realizadas adubações de formação quinzenalmente, com soluções livres de fontes nitrogenadas.

3.5. Experimento II - Avaliação do transplântio de mudas seminais de eucalipto produzidas via inoculação de rizobactérias, combinadas com doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA.

3.5.1. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, arranjado em esquema fatorial duplo, sendo o primeiro fator estirpes bacterianas (IFROL1E - *Azospirillum amazonense*, IFROL5E - *Azospirillum amazonense*, IFROL6E - *Azospirillum amazonense*, IFROJV3E - *Ideonella dechloratans*, IFROJV4E - *Pantoea agglomerans*, ZAE94 - *Herbaspirillum seropedicae*) e uma testemunha absoluta e o segundo fator doses de nitrogênio (0, 30, 60, e 90 kg ha⁻¹) com três repetições e 28 tratamentos, totalizando 84 parcelas, cada parcela representada por uma única planta. As estirpes utilizadas foram previamente selecionadas no experimento anterior, onde demonstraram melhor desempenho para as variáveis altura, diâmetro e massa fresca e seca das plantas.

3.5.2. Transplântio e adubação

Na ocasião do transplântio, foram selecionadas 12 mudas de *Eucalyptus urophylla* AEC-0144 com altura e diâmetro uniformes de cada tratamento inoculado; essas foram transplantadas em vasos preenchidos com, aproximadamente, 15 litros de um Latossolo Amarelo típico retirado da camada agricultável 0-20 cm, no campus acima citado. Os valores da análise química do solo são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados de análise química do solo para implantação das mudas de eucalipto, Vitória da Conquista – BA.

Profundidade	pH (H ₂ O)	Mg.dm ⁻³			Cmol _c .dm ⁻³			%	g.dm ³ M.O.
		P*	K ⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Al ⁺³	H ⁺		
0 - 20 cm	5,4	8,5	1,3	15,7	3,6	1,3	30	40	17,3

* Mehlich.

As adubações de potássio, fósforo e micronutrientes foram realizadas de acordo com as recomendações da 5ª Aproximação da Comissão de

Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (ALVAREZ & RIBEIRO, 1999).

As adubações de nitrogênio, de acordo com as respectivas doses (0, 30, 60 e 90 kg ha⁻¹), utilizando como fonte ureia, foram combinadas com os tratamentos e aplicadas cinco dias após o transplântio das mudas.

3.6. Coleta dos dados e variáveis avaliadas

A coleta de dados foi realizada ao final de cada experimento, sessenta dias após o plantio para o primeiro experimento e sessenta dias para o experimento de transplântio e doses. As variáveis analisadas foram: Altura de planta (ALT), diâmetro do coleto (DIAM), área foliar (A.F), peso fresco de parte aérea (PFPA), peso seco da parte aérea (PSPA), peso fresco de raiz (PFR), peso seco de raiz (PSR), índices de clorofila “a”(C.A), clorofila “b” (C.B), clorofila total (C.T) e o teor de nitrogênio na planta (TNP).

As avaliações de altura foram determinadas com auxílio de régua graduada de, aproximadamente, um metro, medindo-se a partir do solo até a última folha expandida. O diâmetro foi determinado utilizando-se paquímetro manual digital, medindo-se as plântulas cerca de um centímetro acima do nível do substrato.

As determinações de área foliar específica foram realizadas mediante o destacamento das folhas expandidas das plântulas de eucalipto e passando-as em scanner medidor de área foliar da marca LI-COR® modelo LI-3100C. Para verificação dos teores de clorofila nas plântulas, utilizou-se o aparelho portátil ClorofiLOG, modelo CFL1030, executando-se 4 medições por repetição para a obtenção da média.

Após as avaliações anteriores, as plântulas já separadas em parte aérea e raiz, sendo estas lavadas para se retirar todo o material orgânico, foram pesadas em balança analítica de precisão para determinação do peso fresco de raiz e parte aérea e, em seguida, acondicionadas em sacos de papel levados a

estufa de secagem com ventilação forçada a 65°C por um período de, aproximadamente, 72 horas, e, então, determinou-se o peso seco.

As amostras foram moídas em moinho tipo willey e reduzidas a partículas menores que 0,02mm. Foi realizada a determinação da matéria seca real, pesando-se 1g de cada amostra em cadinhos de porcelana, alocados posteriormente em estufa de secagem a 105°C por 24 horas; obteve-se o percentual da matéria seca por diferença do peso inicial. O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de digestão Kjeldahl, conforme descrito por Bremner e Mulvaney (1982).

3.7. Análise estatística

Os dados foram tabulados e analisados quanto à normalidade (teste de shapiro-wilk) e homogeneidade (teste de Bartlet), e a análise de variância, utilizando-se o Programa SISVAR (FERREIRA, 2011); aplicou-se o teste de médias (Skott-Knott) para os parâmetros qualitativos, e os dados quantitativos foram submetidos à análise de regressão. Os gráficos foram plotados utilizando-se o programa SigmaPLOT versão 12.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Solubilização de fosfato

Ao se avaliar a capacidade dos isolados em solubilizar fosfatos, verificou-se que, dos 15 isolados testados para a seleção de estirpes que apresentam potencial de fixar nitrogênio e promover o crescimento das plantas, apenas os isolados IFROL7E, JV4E, JV5E, BR11366 e Aam82 possuem a capacidade de solubilizar K_2HPO_4 , apresentando índice de solubilização de 2,28; 1,61; 1,55; 2,00; 2,19 respectivamente, sendo a estirpe L7E a mais eficiente (Tabela 3).

Tabela 3 – Solubilização (S) e índice de solubilização (IS) e eficiência de solubilização (ES) de fosfato por estirpes bacterianas isoladas de *Eucalyptus urophylla*, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Código	Estirpes Bacterianas	Meio	S	IS	ES
IFROL1E	<i>Azospirillum amazonense</i>	LGI	-	-	-
IFROL3E	<i>Azospirillum amazonense</i>	LGI	-	-	-
IFROL4E	<i>Azospirillum amazonense</i>	LGI	-	-	-
IFROL5E	<i>Azospirillum amazonense</i>	LGI	-	-	-
IFROL6E	<i>Azospirillum amazonense</i>	LGI	-	-	-
IFROL7E	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	LGI	+	2,28	Média
IFROJV1E	<i>Pantoea agglomerans</i>	JMV	-	-	-
IFROJV2E	<i>Herbaspirillum frisingense</i>	JMV	-	-	-
IFROJV3E	<i>Ideonella dechloratans</i>	JMV	-	-	-
IFROJV4E	<i>Pantoea agglomerans</i>	JMV	+	1,61	Baixa
IFROJV5E	<i>Pantoea agglomerans</i>	JMV	+	1,55	Baixa
BR11366	<i>Burkholderia tropica</i>	JMV	+	2,00	Média
ZAE 94	<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	JNFB	-	-	-
Aam82	<i>Azospirillum amazonense</i>	LGI	+	2,19	Média

+ solubilizante, - não solubilizante.

Essa característica atribuída a essa estirpe é de total importância, pois os solos tropicais possuem baixa disponibilidade de fósforo e transformam a atividade solubilizadora em técnica promissora para a agricultura. A reduzida disponibilidade de fósforo nos solos tropicais decorre da reatividade das formas solúveis de P com cálcio (Ca), ferro (Fe), magnésio (Mg) e alumínio

(A1), formando compostos de baixa solubilidade (CHAGAS JUNIOR e outros, 2010).

De acordo com os índices propostos por Chagas Junior e outros (2010), as estirpes capazes de solubilizar fosfato neste estudo possuem baixa ou média ES. Em estudo realizado pelos mesmos autores avaliando a capacidade de solubilização de fosfato e eficiência simbiótica de rizóbios de 205 isolados, apenas 68 apresentaram capacidade de solubilização; desses, 09 isolados tiveram média ES ($2 \leq IS < 4$), e apenas um possuiu alta eficiência de solubilização ($IS > 4$).

4.2. Experimento I - Produção de mudas seminais de eucalipto em sistema de tubetes inoculadas com rizobactérias, Vitória da Conquista – BA

Os resultados obtidos no experimento de produção de mudas via inoculação de rizobactérias em sementes de eucalipto mostraram efeito significativo ($P < 0,05$) para todos os parâmetros avaliados. Na tabela 4, está apresentado o resumo da análise de variância para as variáveis de altura da planta, diâmetro, Área foliar, peso fresco de parte aérea, peso seco de parte aérea, peso fresco de raiz, peso seco de raiz, clorofila “a”, clorofila “b”, clorofila total e teor de nitrogênio das plantas.

Na figura 2, estão apresentadas as médias de altura das plantas, entre as quais as estirpes IFROL1E, L5E, L6E, JV1, JV3E, JV4E, ZAE94 e Aam82 foram superiores à testemunha, cujas estirpes L1E, JV4E e ZAE94 promoveram ganhos superiores a todas as demais estirpes avaliadas, apresentando incremento médio a essa variável de 83,36%, 86,73% e 97,95% respectivamente.

As estirpes L5E, L6E, JV3E e Aam82 promoveram incremento em altura em relação à testemunha em torno de 69,08%, 60,20%, 59,69% e 62,24% respectivamente, o que demonstra efeito positivo no desenvolvimento das plantas quando inoculadas com BPCP's.

Assim, ganhos superiores foram encontrados neste estudo, quando comparados com os relatados por outros autores que trabalharam com os mesmos gêneros de bactérias e espécie de planta.

Melo e outros (2012) demonstraram efeitos significativos sobre a altura de mudas inoculadas com bactérias diazotróficas do gênero *Herbaspirillum seropedicae*, as quais promoveram ganhos acima de 21,25%, de maneira que não houve efeito deletério da inoculação sobre as plantas.

Da mesma forma, Rasch, Bonaldo e Oliveira, (2013), avaliando a inoculação de *Bacillus subtilis* no substrato ou nas estacas para produção de mudas de eucalipto, relatam ganhos em altura acima de 20% para o clone I144 (*Eucaliptus urophylla*) e 34,6% para o clone 1277 (*Eucaliptus camaldulensis* x *Eucaliptus grandis*).

Tabela 4 – Resumo da análise de variância e coeficientes de variação (CV) dos dados obtidos para as variáveis altura da planta (ALT) diâmetro (DIAM), Área foliar (A.F), peso fresco de parte aérea (PFPA), peso seco de parte aérea (PSPA), peso fresco de raiz (PFR), peso seco de raiz (PSR), Clorofila a (C.A), clorofila b (C.B), clorofila Total (C.T) e nitrogênio total (NT) de plântulas de eucalipto 60 dias após a emergência submetidas à inoculação de bactérias diazotróficas, Vitória da Conquista – BA, 2018.

FV	GL	Quadrado Médio										
		ALT	DIAM	A. F	PFPA	PSPA	PFR	PSR	C.A	C.B	C.T	TNP
Tratamento	14	61,7743*	0,6408*	944,42*	1,1066*	0,0941*	1,1906*	0,0128*	56,1768*	19,0630*	132,7027*	0,1934*
Resíduo	45	0,7713	0,0134	15,0652	0,0083	0,0011	0,0596	0,0001	18,4181	31,49	33,2904	0,0336
CV (%)	--	6,67	8,71	13,98	10,68	12,11	23,97	8,98	15,41	8,71	17,19	16,80

* significativos pelo teste F a 5% de probabilidade, respectivamente.

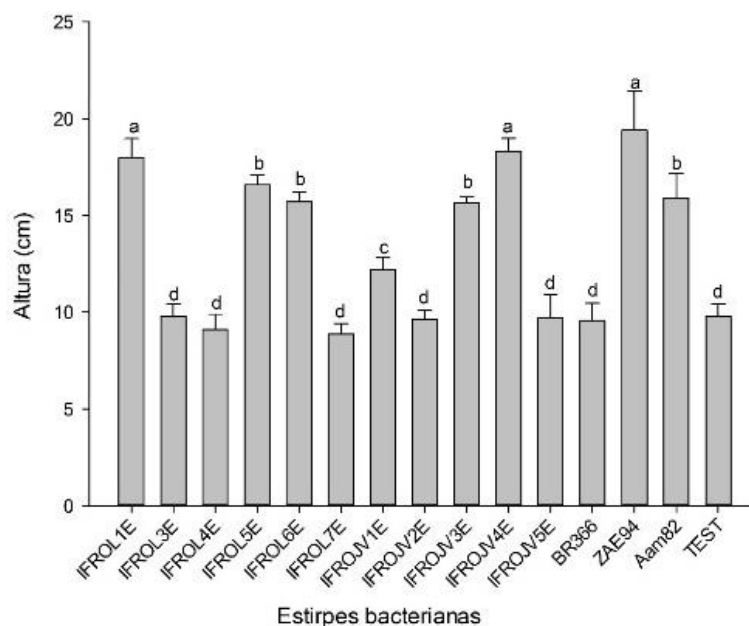


Figura 2 – Altura de Plântulas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após emergência e inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E – *Azospirillum amazonense*, IFROL3E – *Azospirillum amazonense*, IFROL4E – *Azospirillum amazonense*, IFROL5E – *Azospirillum amazonense*, IFROL6E – *Azospirillum amazonense*, IFROL7E – *Stenotrophomonas maltophilia*, IFROJV1E – *Pantoea agglomerans*, IFROJV2E – *Herbaspirillum frisingense*, IFROJV3E – *Ideonella dechloratans*, IFROJV4E – *Pantoea agglomerans*, IFROJV5E – *Pantoea agglomerans*, BR11366 – *Burkholderia tropica*, ZAE 94 – *Herbaspirillum seropedicae*, Aam82 – *Azospirillum amazonense*, TEST – Sem inoculação, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Letras minúsculas diferentes entre as colunas, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de significância. As barras acima das colunas representam o erro padrão.

As médias observadas para a variável diâmetro estão apresentadas na figura 3. Assim como para a variável altura, as estirpes IFROJV1E, L1E, L5E, Aam82, JV3E, JV4E, L6E e ZAE94 foram superiores à testemunha, apresentando incremento com variação em torno de 18,01% a 82,88%, dando ênfase às estirpes JV4E, L6E e ZAE94, que foram superiores às demais com um incremento médio de 73,87% em comparação à testemunha.

Os efeitos positivos das estirpes sobre as variáveis avaliadas neste estudo devem estar ligados principalmente à indução direta de crescimento (GLICK, 2014; SANTOYO e outros, 2012), principalmente pela liberação de

hormônios vegetais, como auxinas, giberilinas e citocianinas (MAFIA e outros, 2009; MOREIRA e outros, 2010; HUNGRIA, 2011).

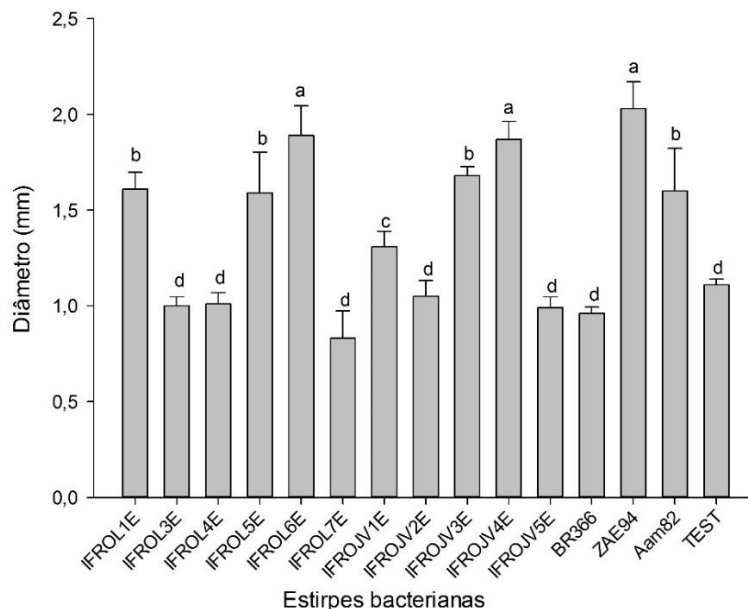


Figura 3 – Diâmetro de Plântulas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após emergência e inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E – *Azospirillum amazonense*, IFROL3E – *Azospirillum amazonense*, IFROL4E – *Azospirillum amazonense*, IFROL5E – *Azospirillum amazonense*, IFROL6E – *Azospirillum amazonense*, IFROL7E – *Stenotrophomonas maltophilia*, IFROJV1E – *Pantoea agglomerans*, IFROJV2E – *Herbaspirillum frisingense*, IFROJV3E – *Ideonella dechloratans*, IFROJV4E – *Pantoea agglomerans*, IFROJV5E – *Pantoea agglomerans*, BR11366 – *Burkholderia tropica*, ZAE 94 – *Herbaspirillum seropedicae*, Aam82 – *Azospirillum amazonense*, TEST – Sem inoculação, Vitória da Conquista – BA, 2018. Letras minúsculas diferentes entre as colunas, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de significância. As barras acima das colunas representam o erro padrão.

Avaliando-se o peso da matéria fresca e seca de parte aérea e peso fresco e seco de raiz, observa-se que, para essas variáveis, as respostas mais significativas foram encontradas com as estirpes dos gêneros *Azospirillum Amazonense*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum frisingense* e *Pantoea agglomerans*.

Os melhores resultados para PFFA foram obtidos quando as plantas foram inoculadas com as estirpes ZAE94, L1E, L5E, L6E, JV3E, JV4E e Aam82,

sendo que as estirpes ZAE94 e L1E destacam-se apresentando um incremento 4,5 e 4,0 vezes maior que a testemunha, respectivamente.

Tabela 5 – Média das variáveis peso fresco da parte aérea (PFPA), peso seco de parte aérea (PSPA), peso fresco de raízes (PFR) e peso seco de raízes (PSR) de plântulas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após a emergência e inoculação bacteriana em sementes, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Código	Estirpes Bacterianas	Peso (g)			
		PFPA	PSPA	PFR	PSR
IFROL1E	<i>Azospirillum amazonense</i>	1,67b	0,36d	1,78a	0,19a
IFROL3E	<i>Azospirillum amazonense</i>	0,30h	0,10g	0,45c	0,05e
IFROL4E	<i>Azospirillum amazonense</i>	0,42g	0,12g	0,65c	0,06e
IFROL5E	<i>Azospirillum amazonense</i>	1,32c	0,42c	1,61a	0,14c
IFROL6E	<i>Azospirillum amazonense</i>	1,27c	0,46b	1,29b	0,17b
IFROL7E	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,28h	0,09g	0,50c	0,04f
IFROJV1E	<i>Pantoea agglomerans</i>	0,71f	0,25f	0,63c	0,10d
IFROJV2E	<i>Herbaspirillum frisingense</i>	0,44g	0,29e	0,54c	0,09d
IFROJV3E	<i>Ideonella dechloratans</i>	1,14d	0,36d	1,42b	0,16c
IFROJV4E	<i>Pantoea agglomerans</i>	1,18d	0,40c	1,63a	0,17b
IFROJV5E	<i>Pantoea agglomerans</i>	0,39g	0,14g	0,56c	0,06e
BR11366	<i>Burkholderia tropica</i>	0,43g	0,13g	0,42c	0,07e
ZAE 94	<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	1,86a	0,58a	1,35b	0,20a
Aam82	<i>Azospirillum amazonense</i>	0,93e	0,33e	1,83a	0,16c
Testemunha	<i>Sem inoculação</i>	0,41g	0,14g	0,54c	0,07e

Letras distintas na coluna demonstram diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Esse incremento foi suficiente para promover diferenças significativas no PSPA, no qual todos os isolados foram superiores à testemunha, apresentando incremento acima de 78,57%, os quais são os melhores resultados demonstrados pelas estirpes ZAE94 e L6E.

Marques e Uesugi (2013) relatam que a técnica de microbiolização de sementes revelou na análise geral das médias do peso de matéria seca da parte aérea que todas as estirpes levaram a ganhos significativos: o melhor isolado testado incrementou cerca de 78% a mais em relação à testemunha. Moreira e Araújo (2013) verificaram que os isolados bacterianos mais promissores proporcionaram aumentos da ordem de 53 a 167% na produção de massa seca na parte aérea de *Eucalyptus urograndis*, quando comparados ao controle.

Além da síntese de hormônios e FBN que os microrganismos podem promover e fornecer às plantas quando se encontram em associação, estes ainda podem melhorar a fertilidade do ambiente em que a planta encontra-se,

principalmente pela mineralização de matéria orgânica. Com a mineralização, quantidades significativas de nutrientes ficam prontamente disponíveis para serem absorvidas pelas plantas e, assim, favorecem o seu crescimento e, conseqüentemente, o maior incremento de massa.

Para a variável PFR, os melhores resultados foram demonstrados pelas estirpes L1E, L5E, Aam82, ZAE94, L6E e JV3E, entre as quais se destacaram as estirpes L1E, L5E, Aam82 do gênero *Azospirillum amazonense* e JV4E *Pantoea agglomerans*, que foram superiores às demais, promovendo um incremento acima de 198,14% (Tabela 5). Melo e outros (2012), avaliando o efeito de bactérias na promoção do enraizamento em clone de eucalipto, demonstraram que a incorporação de *Herbaspirillum seropedicae* no substrato no momento do transplântio das estacas promoveu aumentos significativos nos pesos fresco e seco das mudas.

As estirpes IFROL3E, L4E, JV5 e BR366 foram similares à testemunha, pois não promoveram incrementos significativos ao peso seco de raiz. O PSR foi inferior à testemunha apenas para a estirpe L7E (*Stenotrophomonas maltophilia*). Esse resultado difere dos encontrados por Rojas-Sólis e outros (2018), que, avaliando a inoculação de *Pseudomonas stutzeri* e *Stenotrophomonas maltophilia*, encontraram aumentos significativos no comprimento e peso fresco de raiz de mudas de tomate.

Em contrapartida, os isolados IFROJV2E, JV1E, L5E, JV3E, L6E, JV4E, L1E e ZAE94 promoveram um incremento nessa variável, com valores que oscilam de 28,57% a 185,71% de massa seca; com isso, mostram que são altamente promissoras na produção de mudas seminais. Em um trabalho realizado por Timm e outros (2016) com uma mistura de cepas de *Pseudomonas* e *Burkholderia* inoculadas em plantas *Populus*, observaram-se melhorias na biomassa radicular. Da mesma forma, Mafia e outros (2007) constataram benefícios no acúmulo de biomassa de raiz, cujos ganhos foram superiores a 78%.

A grande variação existente entre os efeitos das rizobactérias sugerem que há certa especificidade entre as estirpes inoculadas e a variedade de

eucalipto testada, como observado em trabalhos realizados com bactérias diazotróficas por Melo e outros (2012) e bactérias extremófilas por (Marques e Uesugi, 2013), nos quais algumas estirpes testadas promoveram melhorias no enraizamento, acúmulo de massa e resistência a patógenos (MAFIA e outros, 2009).

As interações que ocorrem entre microrganismos e plantas são capazes de modificar a estrutura e sistemática da planta, uma vez que essas podem secretar hormônios do crescimento, como auxinas. Esse hormônio possui influência principalmente no sistema radicular; pode promover o alongamento das raízes principais, estimular a emissão de raízes secundárias e pelos absorventes e, ainda, expressar acúmulo de massa sobre os componentes da raiz.

Um maior vigor nas plântulas foi observado nos tratamentos inoculados ao se avaliar o índice de área foliar específica (Tabela 6), no qual as estirpes IFROJV1E, JV3E, L1E, Aam82, JV4E, L5E, L6E e ZAE94 foram superiores à testemunha. Com relação a essa variável, infere-se que, com o maior desenvolvimento da parte aérea, o processo fotossintético é mais eficiente, e, conseqüentemente, ocorre uma maior síntese de compostos fotossintetizados, o que melhora o desenvolvimento das plantas, como ocorre neste trabalho, no qual essas estirpes promoveram ganhos significativos em todas as variáveis avaliadas.

Em trabalho desenvolvido por Ricci e outros (2005), que avaliaram o desenvolvimento de mudas de café inoculadas com *Azospirillum brasilense*, foi verificado efeito semelhante para área foliar específica quando submetidas à inoculação; houve aumento de 29,69% em relação à testemunha sem inoculação.

Os teores de clorofila “a” foram influenciados significativamente pela inoculação das estirpes de rizobactérias promotoras do crescimento; as estirpes IFROL1E, L5E, L6E, JV1E, JV3E, JV4E e ZAE94 foram superiores à testemunha. Para os teores de clorofila “b” e clorofila total, somente as

estirpes ZAE94 e JV4E foram superiores, uma vez que, para a clorofila total, ocorre a soma das demais (Tabela 6).

Tabela 6 – Média das variáveis dos índices de área foliar específica (A.F), clorofila A (C.A), clorofila B (C.B), clorofila total (C.T) e nitrogênio total (N>T) de plântulas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após a emergência e inoculação bacteriana em sementes, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Código	Estirpes Bacterianas	A.F (cm ²)	C.A	C.B	C.T	TNP (%)
IFROL1E	<i>Azospirillum amazonense</i>	33,02c	29,06a	5,70c	34,97b	1,22b
IFROL3E	<i>Azospirillum amazonense</i>	11,36f	27,05b	4,70c	31,75b	0,99b
IFROL4E	<i>Azospirillum amazonense</i>	17,65e	22,96b	3,46c	26,42b	1,05b
IFROL5E	<i>Azospirillum amazonense</i>	41,37b	29,88a	5,08c	34,97b	1,06b
IFROL6E	<i>Azospirillum amazonense</i>	42,95b	28,48a	6,10c	34,58b	0,85b
IFROL7E	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	11,36f	26,06b	4,57c	30,63b	0,96b
IFROJV1E	<i>Pantoea agglomerans</i>	24,81d	29,15a	5,87c	35,02b	0,92b
IFROJV2E	<i>Herbaspirillum frisingense</i>	18,42e	25,93b	2,75c	28,68b	0,93b
IFROJV3E	<i>Ideonella dechloratans</i>	32,93c	30,16a	6,91c	37,08b	1,05b
IFROJV4E	<i>Pantoea agglomerans</i>	34,28c	33,26a	8,70b	41,96a	1,19b
IFROJV5E	<i>Pantoea agglomerans</i>	16,74e	22,98b	4,36c	27,35b	0,84b
BR11366	<i>Burkholderia tropica</i>	15,26e	23,46b	5,16c	28,62b	1,10b
ZAE 94	<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	67,50a	36,53a	11,78a	48,32a	1,79a
Aam82	<i>Azospirillum amazonense</i>	33,84c	26,42b	5,73c	32,16b	1,48a
Testemunha	<i>Sem inoculação</i>	15,02e	26,27b	4,93c	31,21b	0,91b

Letras distintas na coluna demonstram diferença significativa pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

Os teores de clorofila na planta refletem drasticamente sobre esta, uma vez que representam o potencial do aparato fotossintético da planta, que é responsável por promover a síntese de energia luminosa em energia química na fase fotoquímica da fotossíntese.

De maneira geral, as plantas superiores contêm maiores níveis de clorofila “a”, e isso atrelado ao bom desenvolvimento das plantas com maior expansão foliar é capaz de promover ganhos significativos sobre a massa total das plantas. Ademais, é importante destacar que, neste estudo, os níveis de clorofila “a” foram bastante influenciados, principalmente, pela inoculação das estirpes e acarretaram maiores ganhos de massa seca de parte aérea e raiz das plantas.

Logo, esses resultados condizem com as afirmações relatadas por Schubert (1986) e Cojho e outros (1993), que afirmam que as bactérias

fixadoras de N liberam para a planta hospedeira N na forma de amônio, ou seja, quanto mais amônio liberado, maior a disponibilidade de N e, conseqüentemente, mais clorofila na folha.

Além dos teores de clorofila, Malavolta (2006) descreve que o vegetal também depende do N para realização de um ou mais processos vitais da planta, como síntese de proteína, absorção iônica, fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular.

A inoculação obteve efeito significativo para os teores de nitrogênio nas plantas ($P < 0,05$): as estirpes Aam82 e ZAE94 obtiveram valores superiores à testemunha e aos demais tratamentos (Tabela 6). Estudos realizados por Sousa (2017) com as estirpes Aam82 e ZAE94 demonstraram acúmulo de nitrogênio total em plantas de sorgo na ordem de 14,27% e de 20,01% respectivamente em relação à testemunha. Da mesma forma, o trabalho realizado por Ferreira e outros (2010) demonstra efeitos da estirpe ZAE94 na ordem de 13,61 no teor de nitrogênio na massa de grãos de arroz, o que evidencia a capacidade dessa em fixar nitrogênio.

As estirpes IFROL4E, L5E, JV3E, JV4 e BR366, mesmo não diferindo estatisticamente da testemunha, demonstram incrementos significativos na ordem de 15,38%, 16,48%, 15,38, 30,76% e 20,87% no teor de nitrogênio das plantas respectivamente.

O acúmulo de nitrogênio nas plantas pode estar atrelado principalmente à FBN promovida por esses microrganismos e a atividades desses no solo, o que contribui com a mineralização da matéria orgânica e nas plantas. Assim, ocorre aumento na eficiência de absorção de água e nutrientes por meio do sistema radicular mais desenvolvido.

De maneira geral, o uso das rizobactérias para produção de mudas seminais de eucalipto apresentou-se como excelente alternativa para a produção de mudas, uma vez que estas influenciaram no desenvolvimento das mudas, que apresentaram maior diâmetro caulinar, altura, massa radicular e massa de parte aérea das plantas a serem transplantadas em campo.

4.2. Experimento II - Avaliação do transplântio de mudas seminais de eucalipto produzidas via inoculação de rizobactérias, combinadas com doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA.

Os resultados obtidos no experimento para avaliação do transplântio de mudas seminais de eucalipto produzidas via inoculação de RPCP demonstram efeito significativo sobre os fatores isolados, estirpes e doses para as seguintes variáveis: altura de plantas, diâmetro, área foliar específica, peso seco da parte aérea, peso fresco de raiz, peso seco de raiz e clorofila “a” (Tabela 7).

Para os índices de clorofila “b” e clorofila total, não houve efeito isolado ou da interação dos fatores, como demonstrado no resumo da análise de variâncias (Tabela 7). Houve interação significativa ($P < 0,05$) entre as doses de nitrogênio e a inoculação para as variáveis peso fresco de parte aérea e teor de nitrogênio; foi realizado o desdobramento da interação para verificação dos efeitos (Tabela 7).

Tabela 7 – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) das variáveis Altura de plantas (ALT), diâmetro (DIAM), área foliar específica (A.F), peso fresco de parte aérea (PFPA), peso seco da parte aérea (PSPA), peso fresco de raiz (PFR), Peso seco de raiz (PSR), clorofila “a” (C.A), clorofila “b” (C.B), clorofila total (C.T) e teor de nitrogênio na planta (TNP) de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após o transplântio, submetidas à inoculação de estirpes bacterianas e doses de nitrogênio, Vitória da Conquista, 2018.

FV	GL	Quadrado Médio										
		ALT	DIAM	A. F	PFPA	PSPA	PFR	PSR	C.A	C.B	C.T	TNP
Inoculo	6	619,023*	8,217*	856565,93*	1937,09*	151,73*	186,81*	15,02*	15,38 ^{ns}	4,69 ^{ns}	36,91 ^{ns}	0,4426*
Doses N	3	1187,27*	12,636*	1167400,67*	5801,57*	217,20*	322,62*	24,43*	23,12*	6,05 ^{ns}	52,79 ^{ns}	0,2696*
(I) x (D)	18	82,822 ^{ns}	0,668 ^{ns}	125918,81 ^{ns}	207,60*	15,15 ^{ns}	21,11 ^{ns}	1,03 ^{ns}	6,88 ^{ns}	2,40 ^{ns}	16,63 ^{ns}	0,1411*
Resíduo	56	69,333	0,961	93010,14	84,22	13,71	13,18	1,42	8,58	3,37	22,37	0,064
CV (%)		14,75	16,02	32,70	21,10	21,37	21,48	13,67	10,77	25,77	13,78	14,63

* e ^{ns}, significativos e não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade, respectivamente.

Avaliando-se o efeito isolado das estirpes bacterianas sobre o desenvolvimento em altura das plantas de eucalipto, pode-se verificar efeito satisfatório para as estirpes IFROL1E (*Azospirillum amazonense*), IFROJV4E (*Pantoea agglomerans*) e ZAE94 (*Herbaspirillum seropedicae*), que foram superiores à testemunha (Figura 4). Os resultados demonstram que os isolados supracitados proporcionaram cerca de 32,25%, 23,03% e 36,18% de incremento em altura comparados ao tratamento sem inoculação.

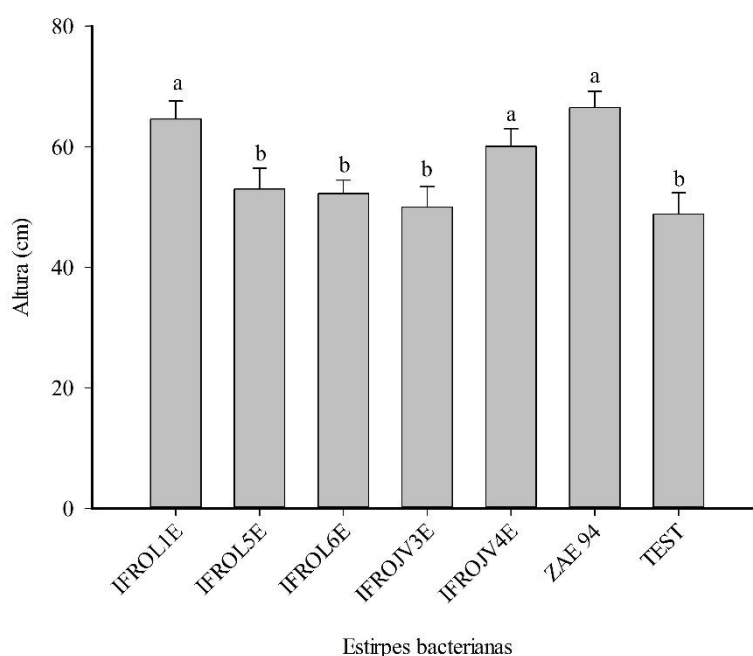


Figura 4 – Altura de mudas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplante e inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E – *Azospirillum amazonense*, IFROL5E – *Azospirillum amazonense*, IFROL6E – *Azospirillum amazonense*, IFROJV3E – *Ideonella dechloratans*, IFROJV4E – *Pantoea agglomerans*, ZAE 94 – *Herbaspirillum seropedicae*, TEST – Sem inoculação, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Letras minúsculas diferentes entre as colunas, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de significância. As barras acima das colunas representam o erro padrão.

Fato semelhante ocorre com a variável diâmetro, que obteve incremento significativo na ordem de 28,34%, 37,99% e 38,38% respectivamente (Figura 5), quando inoculadas com essas mesmas estirpes.

Isso ocorre porque existe uma relação direta entre essas variáveis, uma vez que a planta desenvolve sua arquitetura de maneira simétrica e uniforme; muita das vezes, essas variáveis são utilizadas para estabelecer valores de índices de qualidade de mudas.

Esses efeitos estão atrelados principalmente à maior eficiência dessas estirpes em promover o crescimento das plantas no estágio de produção das mudas, como apresentado nos dados do experimento anterior, em que essas estirpes promoveram maiores acúmulos de peso fresco de parte aérea, peso seco e fresco de raízes, altura e diâmetro.

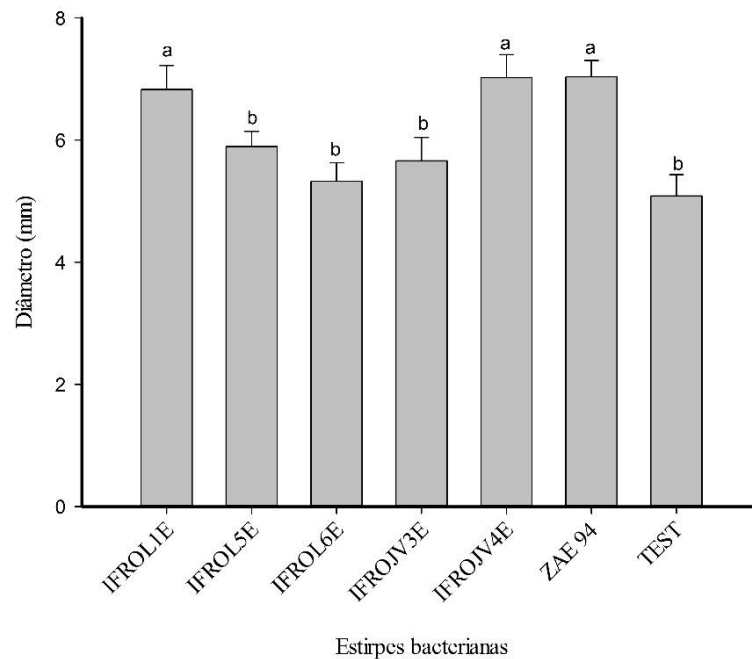


Figura 5 – Diâmetro de mudas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplante e inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E – *Azospirillum amazonense*, IFROL5E – *Azospirillum amazonense*, IFROL6E – *Azospirillum amazonense*, IFROJV3E – *Ideonella dechloratans*, IFROJV4E – *Pantoea agglomerans*, ZAE 94 – *Herbaspirillum seropedicae*, TEST – Sem inoculação, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Letras minúsculas diferentes entre as colunas, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de significância. As barras acima das colunas representam o erro padrão.

Trabalhos realizados recentemente com rizobactérias promotoras do crescimento de plantas têm demonstrado as potencialidades desses microrganismos em aumentar o crescimento das plantas de eucalipto quando inoculadas (MELO e outros, 2012; MOREIRA; ARAÚJO 2013; RASCH; BONALDO; OLIVEIRA, 2013).

Dartora e outros (2013), trabalhando com adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho, obtiveram efeito da inoculação sobre o diâmetro basal do colmo no estágio vegetativo da planta na ordem de 15%.

Avaliando o efeito isolado das doses de nitrogênio sobre a altura das plantas, houve efeito significativo ($P < 0,05$), apresentou regressão linear crescente com $R^2 = 0,9484$. Observando as doses testadas, os resultados mostram que a dose de 90 kg de N ha^{-1} foi capaz de produzir plantas com maior altura média (66,24cm). Em comparação ao tratamento controle, esse resultado representa um incremento de, aproximadamente, 37,86% (Figura 6A).

De acordo com Araújo e outros (2003), o fornecimento de N proporcionou ganho linear no crescimento de clones de *Eucalyptus* em Espodossolos na região sul da Bahia. Em avaliação feita aos 24 meses por esses mesmos autores, relatou-se incremento de até 109% no crescimento em relação à testemunha.

Da mesma forma, Jesus e outros (2012) demonstraram efeito positivo das doses N sobre o desenvolvimento das plantas de eucalipto: a dose de 154 kg de N ha^{-1} incrementou ganhos de 58,1% em relação ao controle sem adubação.

O diâmetro das plantas também foi influenciado pelas doses de nitrogênio ($P < 0,05$). Analisando as doses testadas, os resultados apontam que a dose de 90 kg de N ha^{-1} proporcionou plantas com um diâmetro caulinar superior às demais doses (6,93mm), promovendo um incremento em relação ao controle de, aproximadamente, 36,68% (Figura 6B).

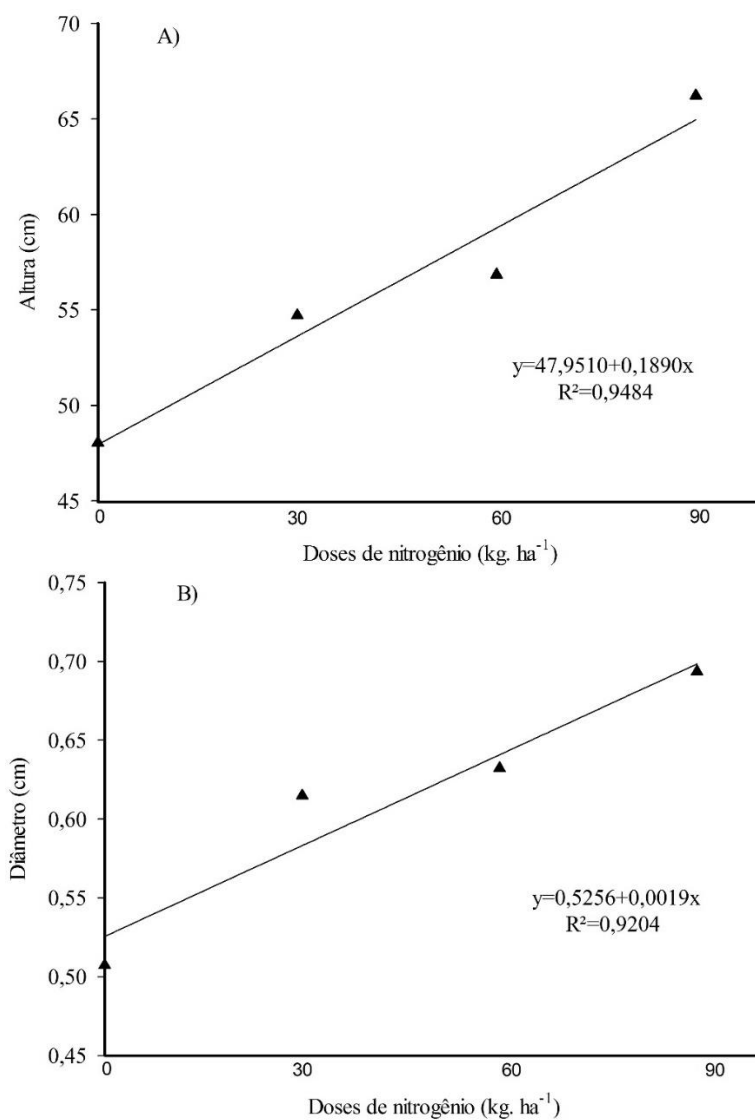


Figura 6 – Altura (A) e diâmetro (B) de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após o transplante em função de quatro doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.

O nitrogênio é o macronutriente requerido em maiores quantidades pelas plantas; participa de muitos compostos nas plantas, apresentando-se principalmente na formação de todas as proteínas compostas por aminoácidos e nos ácidos nucleicos DNA e RNA.

Assis (2018), estudando o efeito de fertilizantes no desenvolvimento e qualidade da madeira de eucalipto, verificou efeito crescente do diâmetro das plantas até próximo a 300kg de N ha⁻¹ aos 36 meses de idade.

Em trabalho realizado por Marques e outros (2006), avaliando o efeito das doses de nitrogênio em mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.), relatou-se efeito linear significativo das doses crescentes de nitrogênio sobre a altura das plantas e maior diâmetro do colmo quando as doses foram aplicadas em LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO.

Dessa forma, Ismael e outros (2000) observaram em mudas de *Eucalyptus grandis*, produzidas com soluções nitrogenadas aplicadas via água de irrigação, relação linear das doses sobre a relação altura e diâmetro. Segundo Sturion e Antunes (2000), a relação altura da parte aérea/diâmetro do coleto constitui uma das características mais usadas para avaliar a qualidade de mudas florestais, pois, além de refletir o acúmulo de reservas, assegura maior resistência e melhor fixação no solo.

Avaliando o efeito isolado das estirpes bacterianas houve diferença significativa para as variáveis A.F, PSPA, PFR, PSR (Tabela 8).

Tabela 8 – Média da Área foliar específica (A.F), peso seco de parte aérea (PSPA), peso fresco de raiz (PFR) e peso seco de raiz (PSR) de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplântio e inoculação bacteriana, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Código	Estirpes Bacterianas	A. F	PSPA	PFR	PSR
		(cm ²)	(g)	(g)	(g)
IFROL1E	<i>Azospirillum amazonense</i>	959,26 b	19,53 a	20,06 a	9,34 a
IFROL5E	<i>Azospirillum amazonense</i>	837,14 b	15,11 b	15,19 b	8,42 b
IFROL6E	<i>Azospirillum amazonense</i>	778,99 b	15,34 b	15,25 b	8,31 b
IFROJV3E	<i>Ideonella dechloratans</i>	877,93 b	15,65 b	14,23 b	8,22 b
IFROJV4E	<i>Pantoea agglomerans</i>	1210,37 a	21,90 a	21,02 a	9,93 a
ZAE 94	<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	1328,99 a	21,25 a	21,42 a	10,03 a
Testemunha	Sem inoculação	535,62 c	12,53 b	11,14 c	6,86c

Letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

Os isolados IFROJV4E e ZAE94 obtiveram valores superiores a todos os tratamentos testados para a variável área foliar. Para as variáveis PSPA, PFR e PSR, os isolados IFROL1E, JV4E e ZAE94 obtiveram respostas semelhantes, sendo superiores a todos os tratamentos testados, o que promoveu ganhos significativos nas plantas avaliadas.

De maneira geral, esses isolados promovem o crescimento das plantas principalmente pelo suprimento de N via Fixação biológica, síntese de hormônios ou pela indução do metabolismo da planta para produzir tais compostos.

Melo (1998) relata que são diversos os microrganismos capazes de interagir com as plantas e que podem sintetizar hormônios semelhantes aos produzidos por elas, como reguladores de crescimento, como as auxinas, giberelinas e citocininas. Dentre esses hormônios, a auxina é um dos mais conhecidos devido aos seus importantes papéis nos processos iniciais de formação radicular lateral e adventícia (GASPAR e outros, 1996).

É importante salientar que, mesmo não havendo diferença estatística, as demais estirpes possuem potencial para o desenvolvimento das plantas, uma vez que, ao se avaliar a estirpe IFROJV3E, que menos interferiu no índice de A.F, PSPA, PFR e PSR, temos incrementos na ordem de 63,90%, 24,90%, 27,73% e 19,82% respectivamente. De acordo com Bashan e Levanony (1990), aumentos moderados, em torno de 20%, atribuídos à inoculação com diazotróficos endofíticos, podem ser considerados comercialmente significativos na agricultura moderna.

Aumentos da biomassa da ordem de 44% foram encontrados como resultado da inoculação de *Bacillus megaterium* em experimento com mudas de *Eucalyptus* sp. em vasos (LUCY e outros, 2004).

Teixeira e outros (2007), avaliando a promoção rizobacteriana no enraizamento e crescimento de eucalipto, relatam que a inoculação de *Bacillus subtilis* no substrato favoreceu o aporte de biomassa de raízes com cerca de 82,4% em relação ao tratamento com adição de 1000 µg. g⁻¹ de ácido Indol-butírico e de 106,7% em relação à testemunha absoluta.

Isolados de *Azospirillum* spp. promovem diversas modificações na morfologia das raízes, como aumento em número, comprimento, área e incremento em absorção mineral, que podem estar relacionados a substâncias promotoras de crescimento secretadas por esses microrganismos (MARTIN e outros, 1989; ROESCH e outros, 2005).

Avaliando-se o efeito isolado das doses sobre as características de A.F e PSPA, houve diferença significativa ($P < 0.05$), como apresentado na (Figura 7). Houve efeito quadrático das doses de nitrogênio sobre a A.F apresentando $R^2 = 0,8351$ (Figura 7A). Considerando as doses aplicadas, os resultados mostram que a maior fração de A.F foi observada quando aplicados 73kg de N ha⁻¹, o que representa um acúmulo de 1120,37cm². Considerando o tratamento controle 0 kg de N ha⁻¹, essa dose foi capaz de acrescentar 83,33% a mais em área foliar específica.

Efeitos similares a esses foram verificados em estudo realizado por Ferreira e outros (2018), que observaram aumentos significativos na área foliar de pessegueiros com a adição crescente de adubação nitrogenada. Resultados semelhantes foram obtidos por Guarçoni e Ventura (2011), que relataram que o aumento da quantidade de N levou a um ganho considerável do comprimento das folhas de abacaxizeiro.

As doses também influenciaram significativamente no peso seco de parte aérea ($P < 0,05$), que apresentou regressão linear crescente (Figura 7B). Estudando as doses aplicadas, os dados apontam um maior acúmulo quando houve a aplicação de 90 kg de N ha⁻¹, que proporcionou a formação de plantas com maior peso seco de parte aérea (20,35 g). Em relação ao tratamento controle (0 kg de N ha⁻¹), essa dose promoveu um ganho de, aproximadamente, 55,34% em massa para as plantas. Oliveira e outros (2015) descrevem que o nitrogênio está diretamente ligado ao crescimento e desenvolvimento das plantas em geral.

Em trabalho conduzido por Serpe e outros (2018), que avaliou o efeito de diferentes dosagens de adubação no crescimento inicial de *eucalyptus benthamii*, foram observados efeitos positivos quando realizada a adubação

de base e em cobertura, com aumento no incremento de madeira anual, que remete diretamente ao ganho de massa das plantas e maior produtividade.

Esses dados corroboram Jesus e outros (2012), os quais, avaliando doses e fontes de nitrogênio na produtividade de eucalipto, relatam ganhos de 47,2% em relação à testemunha quando realizaram a aplicação de 143,3 kg de N ha⁻¹.

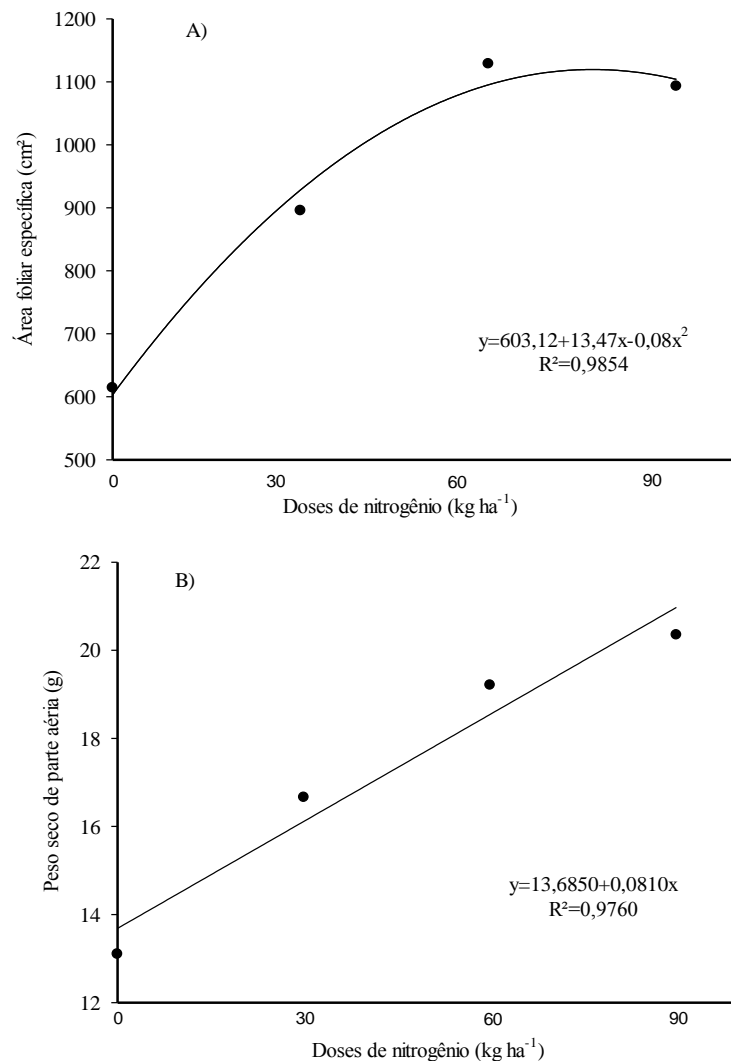


Figura 7 – Área foliar (A) e peso seco de parte aérea (B) de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após o transplante em função de quatro doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Na Figura 8, são apresentados os dados das regressões para análise dos efeitos isolados das doses de nitrogênio sobre o peso fresco de raiz e peso seco de raiz. Houve efeito significativo ($P < 0,05$), com comportamento quadrático. Consideradas as doses aplicadas, os resultados apontam que a dose de 60 kg de N ha^{-1} promoveu acúmulo superior de PFR e PSR nas plantas em comparação às demais doses.

O incremento foi na ordem de 79,01% para o PFR e de 33,33% para o PSR em relação ao controle. Esses dados diferem dos encontrados para massa seca de raiz em trabalho realizado por Marques e outros (2006), que, ao avaliarem fontes e doses de nitrogênio em mudas de *Mimosa caesalpiniaefolia*, relatam ganhos lineares com a aplicação de N sobre a massa seca de raiz até próxima de 200 kg de N ha^{-1} .

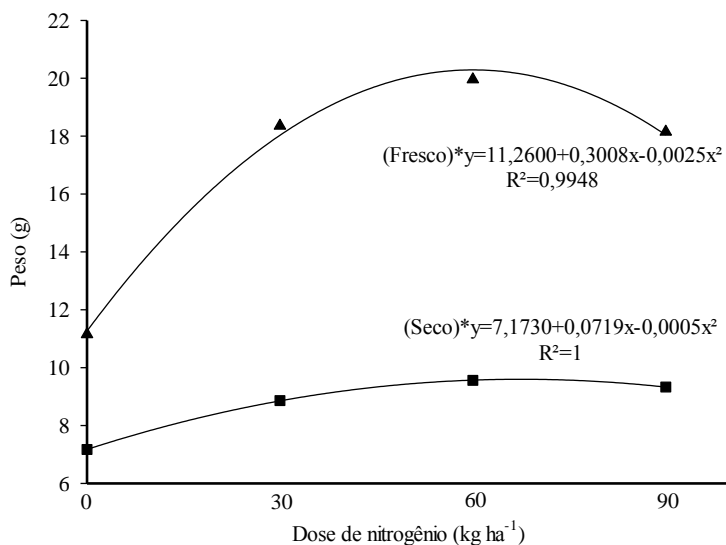


Figura 8 – Peso seco e fresco de raiz de mudas de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após o transplantio em função das quatro doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Segundo Novaes (1998), sob o ponto de vista fisiológico, a quantificação da biomassa radicular é de grande importância, pois está

diretamente ligada à sobrevivência e crescimento inicial das mudas em campo, devido à sua função na absorção de água e nutrientes.

Conforme já evidenciado na (Tabela 7), houve interação significativa entre as doses de nitrogênio e as estirpes de rizobactérias testadas. Na tabela 9, são apresentados os dados da interação entre as doses de nitrogênio e as estirpes bacterianas em relação ao PFPA.

Tabela 9 – Peso fresco da parte aérea de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplante, em relação ao desdobramento da interação em função das doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Código	Estirpes Bacterianas	Peso fresco de parte aérea			
		0 (kg ha ⁻¹)	30 (kg ha ⁻¹)	60 (kg ha ⁻¹)	90 (kg ha ⁻¹)
IFROL1E	<i>Azospirillum amazonense</i>	35,52 a	51,97 a	52,52 b	42,13 b
IFROL5E	<i>Azospirillum amazonense</i>	24,09 b	45,37 a	38,58 b	37,08 b
IFROL6E	<i>Azospirillum amazonense</i>	25,83 b	35,12 b	38,42 b	47,23 b
IFROJV3E	<i>Ideonella dechloratans</i>	32,99 a	31,68 b	43,53 b	46,36 b
IFROJV4E	<i>Pantoea agglomerans</i>	35,54 a	53,70 a	75,92 a	81,27 a
ZAE 94	<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	41,95 a	47,13 a	66,69 a	79,63 a
Testemunha	<i>Sem inoculação</i>	19,65 b	25,99 b	28,75 b	32,88 b

Letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

O desdobramento da interação evidenciou que as estirpes IFROJV4E e ZAE94, independente da dose aplicada, apresentaram-se superiores às demais estirpes testadas e à testemunha, o que evidencia a eficiência de absorção e utilização do nitrogênio disponível no solo.

Avaliando-se as estirpes IFROL1E, JV3E, JV4E e ZAE94 dentro da dose 0 kg de N ha⁻¹, estas apresentam aumentos significativos na ordem de 80,76%, 67,88%, 80,86% e 113,40%, respectivamente, em relação à testemunha absoluta sem inoculação. As estirpes IFROL5E e L6E, mesmo que estatisticamente iguais à testemunha, apresentam acréscimo no peso fresco da parte aérea na ordem de 22,59% e 31,45% respectivamente.

Resultados semelhantes foram encontrados por Neto e outros (2013) com o uso de inoculante comercial para gramíneas com as estirpes AbV5 e

AbV6 de *Azospirillum brasilense* inoculadas em sementes de milho na dose de 3mL L⁻¹, sem adubação nitrogenada; nesse trabalho, houve um incremento significativo na massa fresca da parte aérea de 18% em relação ao controle sem inoculação.

Nos tratamentos acrescidos de 30 kg de N ha⁻¹, as estirpes IFROL1E, L5E, JV4E e ZAE94 promoveram ganhos significativos para a variável em estudo. Vale ressaltar que, mesmo não havendo diferenças estatísticas, as demais estirpes mostraram-se superiores à testemunha sem inoculação em todas as doses testadas, potencializadoras do crescimento e fixadoras de nitrogênio.

Alguns gêneros de plantas associativas necessitam de determinada disponibilidade de nitrogênio no solo, para, então, realizar o processo simbiótico com as bactérias presentes na região próxima às raízes, conhecida como rizosfera. Assim, sinais emitidos pelas plantas são captados por diversos microrganismos que estabelecem inúmeras interações com as plantas, utilizando energia sintetizada pelas plantas para seu desenvolvimento por meio da fotossíntese, e, em contrapartida, disponibilizam nitrogênio via fixação biológica e/ou fornecendo hormônios do crescimento.

Na Índia, Suman e outros (2008) mostraram que variedades de cana-de-açúcar, com grande número de bactérias diazotróficas, quando submetidas à metade da dose recomendada de fertilizante nitrogenado (50 kg de N ha⁻¹), atingiram níveis de produtividade similares aos de plantas com a dose completa.

Ao se utilizar a dose de 60 kg de N ha^{-1a}, as estirpes que mais promoveram o desenvolvimento das plantas foram IFROJV4E e ZAE94, sendo superiores aos demais tratamentos e à testemunha sem inoculação. Esse acréscimo representa cerca de 164,06% e 131,96% sobre o peso seco de parte aérea. O mesmo ocorre ao se utilizar a dose de 90 kg de N ha⁻¹: as mesmas estirpes apresentam maiores ganhos em relação à testemunha e às demais estirpes.

Segundo Baldani e outros (2002), o N é provavelmente o fator chave para a associação de bactérias diazotróficas com plantas não leguminosas, como, por exemplo, a cana-de-açúcar.

Suman e outros (2013) verificaram que o inoculante composto de cinco espécies de bactérias diazotróficas (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense* e *Burkholderia tropica*) associado a doses de nitrogênio (0, 75 e 150 kg ha⁻¹), promoveu incremento na produção de colmos. Além disso, houve melhora na eficiência de utilização do N-fertilizante em todos os níveis de adubação, com o melhor resultado expresso na dose de 75 kg de N ha⁻¹ associada ao inoculante.

De maneira geral, é importante ressaltar que todas as estirpes testadas foram superiores à testemunha sem inoculação, demonstrando ser capazes de promover um aumento significativo no desenvolvimento das plantas de eucalipto. Segundo Reis Junior e outros (2008), o uso de bactérias promotoras de crescimento, além de beneficiar o mecanismo de fixação biológica de nitrogênio, auxilia na produção de hormônios que estimulam o crescimento vegetal.

O desdobramento da interação das doses dentro da inoculação revelou que, para o PFPA, houve efeito significativo com ajuste linear nos tratamentos inoculados com as estirpes IFROJV4E, JV3E, ZAE94 e L6E (Figura 9 – B, C, E, F), com tendência de acréscimo no PFPA em função das doses, entre as quais a dose de 90 kg de N ha⁻¹ foi superior às demais.

As estirpes IFROIV4E e ZAE94 obtiveram os melhores incrementos de biomassa no PFPA quando associadas às maiores doses, mostrando-se eficientes no processo de Fixação do nitrogênio. Em trabalho realizado por Zilli e outros (2007), foram evidenciados ganhos semelhantes aos encontrados neste trabalho, no qual a inoculação com a estirpe ZAE94, associada a 80 kg de N ha⁻¹, promoveu aumentos de 30,7% na produção de grãos de milho em relação ao controle.

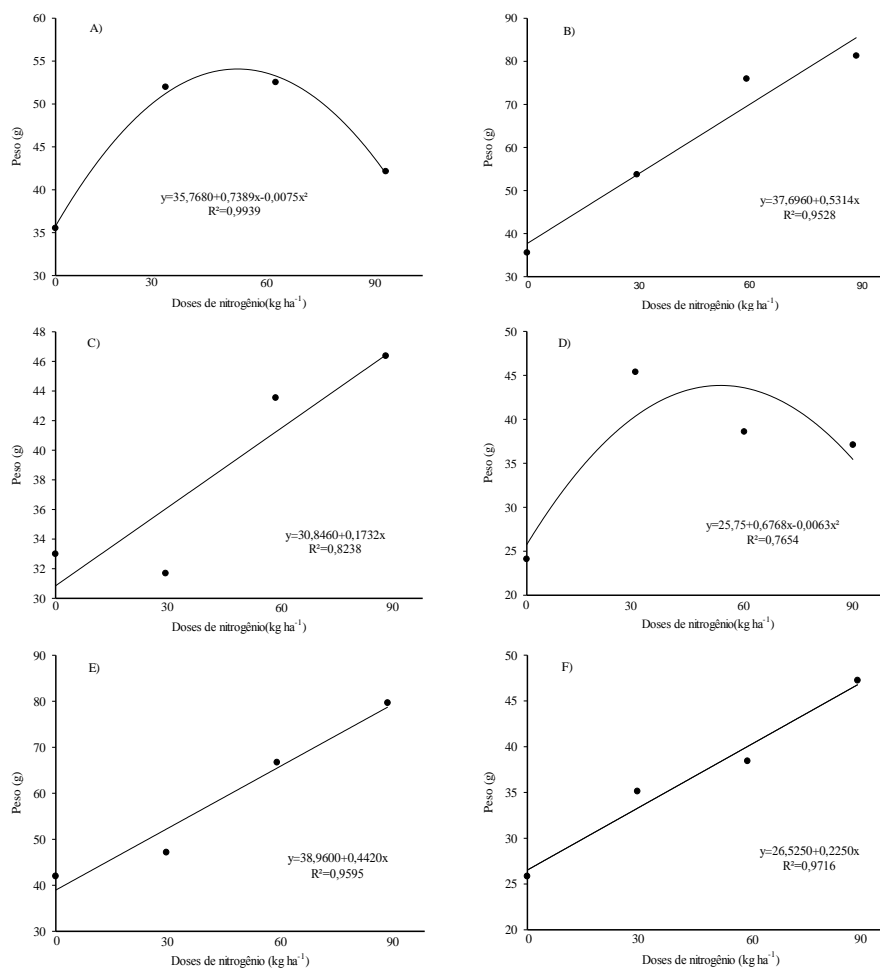


Figura 9 – Peso fresco de parte aérea em relação ao desdobramento da interação em função da inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E-*Azospirillum Amazonense* (A); IFROJV4E-*Pantoea agglomerans* (B); IFROJV3E-*Ideonella dechloratans* (C); IFROL5E-*Azospirillum amazonense* (D); ZAE94-*Herbaspirillum seropedicae* (E) IFROL6E-*Azospirillum Amazonense* (F), Vitória da Conquista – BA, 2018.

Para os tratamentos inoculados com as estirpes IFROL1E e L5E (Figura 9 – A, D), houve um ajuste quadrático em que o ponto máximo de

acúmulo foi de 49,29 e 53,71 kg de N ha⁻¹, pelo qual se verificou um aumento no PFFPA na ordem de 53,96 e 42,92 gramas respectivamente.

Pereira (2011), trabalhando com inoculante composto por bactérias diazotróficas (*Azospirillum amazonense*; *Herbaspirillum seropedicae*; *Herbaspirillum rubrisubalbicans*; *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Burkholderia tropica*) aplicado diretamente no rebole da soqueira de cana-de-açúcar 28 dias após o corte sob diferentes níveis de nitrogênio (0, 50, 100 e 150 kg de N ha⁻¹), constatou que a inoculação associada à dose de 50 kg de N ha⁻¹ promoveu efeito significativo quando comparada com as demais doses.

Esse efeito da interação dessas estirpes com a dose intermediária de, aproximadamente, 50 kg de N ha⁻¹ pode estar relacionada principalmente com a atividade das enzimas envolvidas na assimilação do nitrogênio. Rudnick e outros (1997) demonstram que a atividade da enzima nitrogenase presente nas bactérias diazotróficas pode ser inibida de forma rápida e reversível quando estas são submetidas a altas concentrações de amônio.

As doses de nitrogênio influenciaram nos teores de clorofila das plantas de eucalipto significativamente (Figura 10); houve efeito quadrático em função das doses testadas, com ponto máximo de acúmulo para os índices de clorofila “a” próximos de 53,94 kg de N ha⁻¹.

Segundo Leal e outros (2007), N é um componente da molécula de clorofila e é necessário para a fotossíntese. A adição de nitrogênio nas plantas normalmente possui efeitos benéficos no desenvolvimento e produtividade destas, no entanto existe um limite de absorção para esse nutriente e o excesso é perdido por lixiviação ou volatilização.

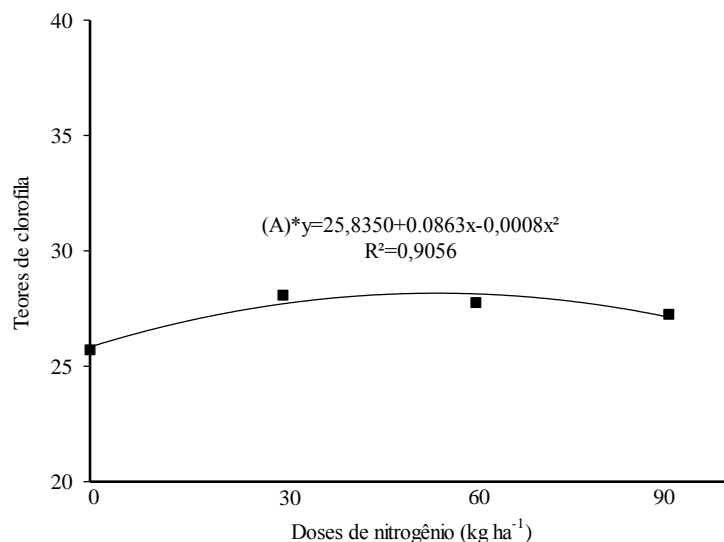


Figura 10 – Teores de clorofila (A) em mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após o transplântio em função de quatro doses de nitrogênio, Vitória da Conquista – BA, 2018.

Outra hipótese levantada é a de que as grandes doses aplicadas podem alterar o pH do solo e dificultaram a absorção de outros nutrientes, provocando provavelmente um desequilíbrio nutricional, uma vez que o trabalho foi realizado em vasos. Lange e outros (2006), trabalhando com a aplicação de ureia em diferentes tipos de manejo do solo, destacam que há um aumento significativo no pH do solo com a adição de ureia.

Médias da interação entre as estirpes e as doses de nitrogênio para a variável nitrogênio total são apresentadas a seguir (Tabela 11; Figura 11 e Figura 12). Os teores de nitrogênio encontrados neste trabalho são similares aos encontrados por Neves e outros (2011), que avaliaram a qualidade da madeira de *Eucalyptus urophylla*.

Avaliando-se o efeito da inoculação sobre as doses aplicadas, foi possível observar que o teor de nitrogênio modifica-se de acordo com o desenvolvimento das plantas com total relação entre as estirpes.

Tabela 10 – Média do teor de nitrogênio na planta (TNP) de mudas seminais de *Eucalyptus urophylla* aos 60 dias após transplante e inoculação bacteriana, em relação ao desdobramento da interação em função das doses de nitrogênio Vitória da Conquista – BA, 2018.

Código	Estirpes Bacterianas	Teor de nitrogênio (%)			
		0 (kg ha ⁻¹)	30 (kg ha ⁻¹)	60 (kg ha ⁻¹)	90 (kg ha ⁻¹)
IFROL1E	<i>Azospirillum amazonense</i>	1,45 b	1,39 a	1,53 b	2,04 a
IFROL5E	<i>Azospirillum amazonense</i>	1,96 a	1,73 a	1,67 b	1,79 b
IFROL6E	<i>Azospirillum amazonense</i>	2,11 a	1,59 a	1,66 b	1,55 b
IFROJV3E	<i>Ideonella dechloratans</i>	1,94 a	1,66 a	2,10 a	2,29 a
IFROJV4E	<i>Pantoea agglomerans</i>	1,57 b	1,46 a	1,39 b	1,92 a
ZAE 94	<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	1,44 b	1,41 a	1,51 b	1,49 b
Testemunha	Sem inoculação	2,28 a	1,97 a	1,76 b	1,68 b

Letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Quando inoculadas estirpes eficientes como IFROL1E, JV4E e ZAE94, foi possível observar que estas promovem o desenvolvimento da planta em altura, diâmetro, peso fresco da parte aérea, peso seco da parte aérea, peso fresco de raiz, peso seco de raiz e área foliar.

Esse efeito é resultado do maior alongamento celular e formação de compostos estruturais, como aminoácidos, proteínas, entre outros, que favoreceram o desenvolvimento das plantas com base nas avaliações citadas e acarretaram menor teor de nitrogênio das plantas, quando associadas ao tratamento sem adubação.

Fato semelhante ocorre com as estirpes quando associadas à dose de 30 kg de N ha⁻¹: mesmo não havendo diferenças estatísticas, as estirpes apresentaram menor participação na concentração de nitrogênio nos tecidos das plantas, principalmente quando se trata das estirpes mais eficientes em promoção do crescimento.

De maneira geral, as estirpes tiveram bom desempenho associadas à dose de 60 kg de N ha⁻¹; foram verificados altos teores de nitrogênio apenas para a estirpe IFROJV3E, que obteve baixo acúmulo de PFPA e PSPA em relação aos demais tratamentos inoculados.

Da mesma forma, ocorre com as estirpes IFROL1E e JV3E; quando associadas à dose de 90 kg de N ha⁻¹, apresentam valores inferiores de PFFPA, o que representa pouco incremento dessa variável e demonstra teores elevados de nitrogênio no tecido vegetal da planta, na ordem de 2,04% e 2,29% respectivamente.

De forma análoga ao presente trabalho, Suman e outros (2005) demonstram efeitos positivos de sete isolados quando associados à menor dose testada, mas, no maior nível de aplicação de nitrogênio, apenas três isolados aumentaram significativamente a matéria seca total da cana-de-açúcar, donde se conclui que, além da interação planta-bactéria, a dose do nitrogênio aplicada afeta a resposta à inoculação.

Muthukumarasamy e outros (1999) relatam que as bactérias do gênero *Herbaspirillum* spp. são consideradas mais resistentes a elevadas doses de nitrogênio, como evidenciado neste trabalho, em que, mesmo em altas concentrações de nitrogênio, essa estirpe foi eficiente. Assim, podemos dizer que a inoculação não substitui o adubo nitrogenado, porém promove a melhor absorção e utilização do nitrogênio disponível (SAUBIDET e outros, 2002).

Aferindo-se o efeito das doses em função da inoculação para o teor de nitrogênio nas plantas, foi possível observar que as estirpes possuem comportamentos específicos quando associadas às doses de nitrogênio.

A estirpe IFROL1E possui resposta linear positiva quando associada às doses, apresentando maior percentual de nitrogênio quando associada à maior dose, aproximadamente, 40,68% em relação à dose zero (Figura 11 – A).

As estirpes IFROJV4E e JV3E apresentam comportamento quadrático, demonstrando maiores teores de nitrogênio, quando associadas à aplicação de 90 kg de N ha⁻¹ (Figura 11 – B, C).

Destaca-se que essas estirpes foram superiores às respostas observadas no tratamento sem inoculação, o que mostra a eficiência em fornecer nitrogênio para as plantas ou em possibilitar que a planta faça o melhor uso deste elemento.

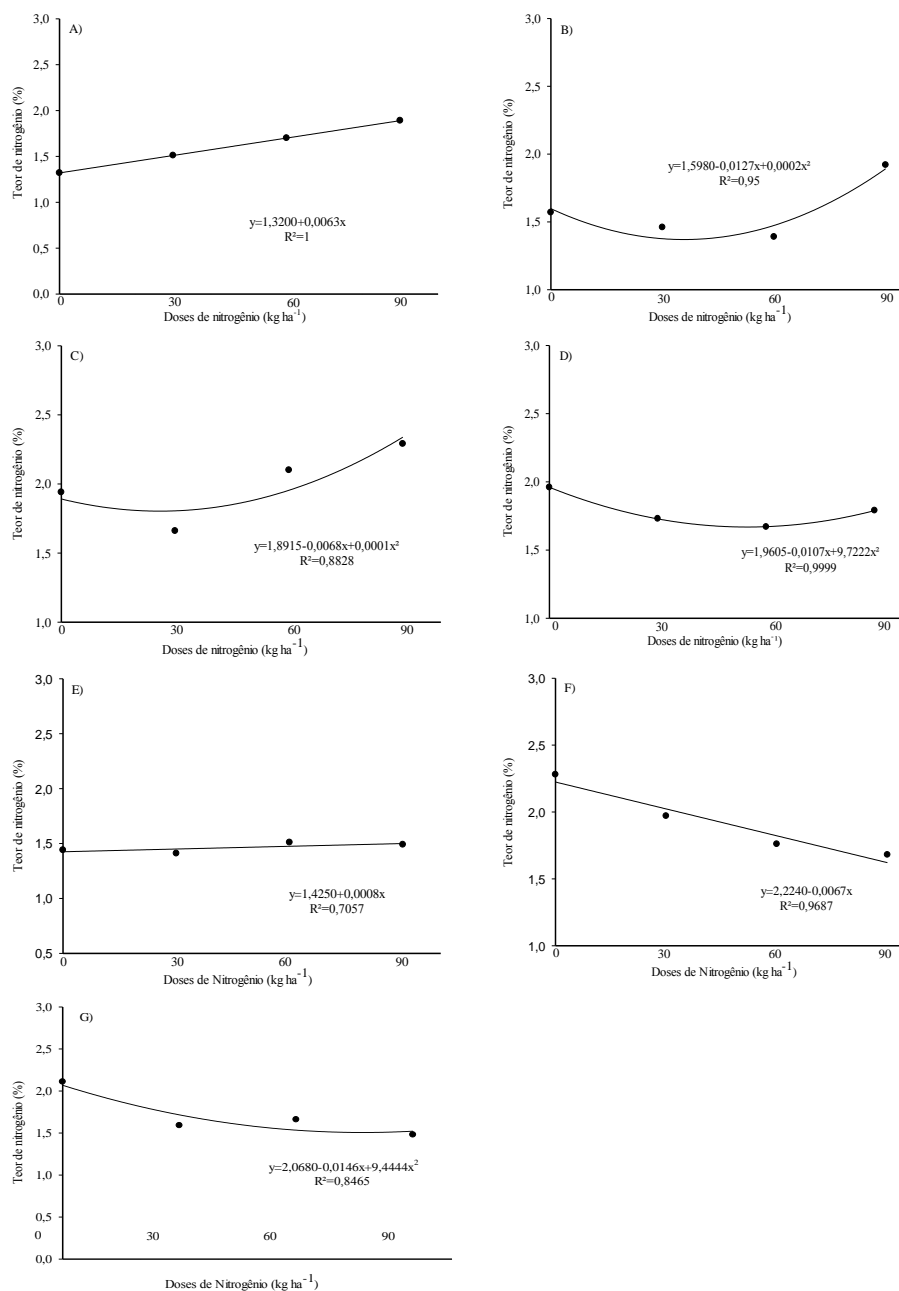


Figura 11 – Teor de nitrogênio nas plantas em relação ao desdobramento da interação em função da inoculação de estirpes bacterianas: IFROL1E-*Azospirillum Amazonense* (A); IFROJV4E-*Pantoea agglomerans* (B); IFROJV3E-*Ideonella dechloratans* (C); IFROL5E-*Azospirillum amazonense* (D); ZAE94-*Herbaspirillum seropedicae* (E), Testemunha sem inoculação (F), IFROL6E-*Azospirillum Amazonense* (G), Vitória da Conquista – BA, 2018.

As estirpes IFROL5E e L6E apresentam comportamento linear decrescente em relação à adição de nitrogênio, comportamento este semelhante ao da testemunha sem inoculação, para as quais as maiores concentrações de nitrogênio são observadas quando não há adubação nitrogenada (Figura 11 – F), na qual esses valores correlacionam-se com os menores incrementos das demais variáveis.

O efeito da diluição do nitrogênio pode estar ligado ao fato de este elemento ser muito móvel dentro da planta, e, como as rizobactérias influenciam no alongamento dos tecidos pela ação, principalmente, de hormônios, a eficiência de utilização desse elemento é aumentada com a distribuição para órgãos diversos da planta, entre os quais se destacam as raízes.

A estirpe ZAE94 foi a única capaz de manter os valores do teor de nitrogênio independente das doses utilizadas (Figura 12 – E), resultado esse justificado por dois fatores. Essa estirpe é altamente eficiente na fixação de nitrogênio em diversas culturas, como milho (SANTOS e outros, 2015), arroz (FERREIRA e outros, 2010) e sorgo (Sousa, 2017), promovendo incremento nos teores de nitrogênio; destaca-se ainda que o gênero *Herbaspirillum* spp. é considerado mais resistente a elevadas doses de nitrogênio (MUTHUKUMARASAMY e outros, 1999).

5 CONCLUSÕES

A produção de mudas de eucalipto com a inoculação obteve maior incremento do peso de raiz, parte aérea, altura e diâmetro, o que proporcionou melhor desenvolvimento, tanto do sistema radicular quanto da parte aérea em comparação com a testemunha absoluta.

A inoculação de estirpes dos gêneros *Azospirillum amazonense*, *Pantoea agglomerans* e *Herbaspirillum seropedicae* é extremamente eficaz na produção das mudas em viveiro e no desenvolvimento inicial após transplântio.

O uso das rizobactérias apresentaram-se como excelente alternativa para a produção de mudas, e estudos das populações específicas associadas ao gênero *Eucalyptus* devem ser constantes.

6 REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do Eucalipto**. Viçosa: UFV, 500p, 2009.
- ALVAREZ V, V. H; RIBEIRO, A. C. Calagem. In: Comissão de fertilidade do solo do estado de minas gerais (CFSMG). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5ª aproximação, Viçosa, p.41-60, 1999.
- ARAÚJO, E.F.; GAVA, J.L.; SOUZA, A.J.; SILVEIRA, R.L.V.A. Crescimento de clones de *Eucalyptus* em resposta à aplicação de nitrogênio em espodossolo no sul da Bahia. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO**. Ribeirão Preto: SBCS, p. 1-4. 2003.
- ARRUDA, L. M. **Seleção e Caracterização de Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Milho Cultivadas no Rio Grande do Sul**. 58 f. 2012. Dissertação (Mestrado) Curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.
- ASSIS, C. O.; TRUGILHO, P. F.; GOULART, S. L.; ASSIS, M. R. D.; BIANCHI, M. L. Effect of Nitrogen Application on the Production and Quality of Wood and Charcoal from a Hybrid of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Floresta e Ambiente**, v. 25, n. 1, 2018.
- ASSIS, T. F.; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: Borém, A. (Ed.). **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: Suprema, p. 93 – 121, 2007
- BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n.5-6, p. 911-922, 1997.
- BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; DÖBEREINER, J. A brief story of nitrogen fixation in sugarcane – reasons for success in Brazil. **Functional Plant Biology**, v.29, p.417-423, 2002.
- BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.77, n.3, p.549-579, 2005.
- BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a new root-associated nitrogen fixing bacterium. **Int J Syst Bacteriol**. v.36 p.86-93, 1986.

- BALDANI, V.L.D. **Efeito da Inoculação de *Herbaspirillum* spp., no processo de colonização e infecção de plantas de arroz, e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica.** 1996. 238 f. Tese Doutorado em Agronomia (Ciência do Solo), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Rio de Janeiro, 1996.
- BAREA, J.M.; POZO, M.J.; AZCÓN, A. Microbial cooperation in the rhizosphere. **J Exp Bot.** 2005. V.56(417), p.1761-1776.
- BARROS, N.F. **Nutrição e adubação de eucalipto.** Belo Horizonte: EPAMIG. Informe Agropecuário, p.186. 2002.
- BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Situação atual da tecnologia de inoculação do *Azospirillum*: *Azospirillum* como um desafio para a agricultura. **Canadian Journal of Microbiology** , v. 36, n. 9, p. 591-608, 1990.
- BOFF, V.L.; HENTZ, A.M.; MANESCHY, R.Q. Fungos micorrizicos arbusculares em mudas de paricá: colonização, dependência e relações com o desenvolvimento das plantas. **Enciclopédia Biosfera.** Centro Científico Conhecer. - Goiânia, v.10, 18, 2014.
- BRACCINI, A.L.; DAN, L.G.M.; PICCINI, G.G. e outros Seed inoculation with *azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, v.25, n.2, p.58-64, 2012.
- BRANDÃO E.M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. *In*: CARDOSO E.J.B, TSAI S.M, NEVES M.C.P. (eds). **Microbiologia do solo. Brasileira de Ciência do solo.** Campinas, Brasil, Sociedade, 1-15.1992.
- BREMNER, M.; MULVANEY, C. S. Nitrogen-Total1. Methods of soil analysis. Part 2. **Chemical and microbiological properties**, n.2, p. 595-624, 1982.
- BROOKER, M. I. H.; SLEE, A. V.; DUFFY, S. M. EUCLID: ***Eucalypts of Southern Australia***. Online sample. 2 eds. 2002. Disponível em <<http://www.anbg.gov.au/cpbr/cdkeys/Euclid/sample/html/index.htm>> Acesso em: 21 de abril de 2018.
- CALEGARI, A. **Espécies para cobertura do solo.** In: Instituto Agrônomo do Paraná. Plantio direto: pequena propriedade sustentável. Londrina, Paraná, 255 p. 1998.
- CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W.(eds.) **Métodos alternativos de controle fitossanitário,** Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p.79-96,2003.
- CAMPOS, D.T.S. da; STIEVEN, A.C; RAMOS, F.T. Associação micorrízica em plantios de eucalipto no Brasil e no estado do Mato Grosso. **Revista Biodiversidade**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 56 – 58, 2009.

- CARNEIRO, J. G. de A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF; Campos: UENF, 1995.
- CERQUEIRA, W. F.; DE MORAIS, J. S.; SANTANA, J., EUCLIDES DA BAHIA, B. A. Influência de bactérias do gênero *bacillus* sobre o crescimento de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Enciclopédia Biosfera. v.11, 82-93, 2015.
- CHAGAS JUNIOR, F. A.; DE OLIVEIRA, L. A.; NASCIMENTO, A.O.; WILLERDING, A. L. Capacidade de solubilização de fosfatos e eficiência simbiótica de rizóbios isolados de solos da Amazônia. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 2, 2010.
- COJHO, E. H.; REIS, V. M.; SCHENBREG, A. C. G.; DÖBEREINER, J. Interactions of *Acetobacter diazotrophicus* with an amylolytic yeast in nitrogen-free batch culture. **FEMS Microbiology Letters**, v.106, p. 341-346, 1993.
- DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, 2013.
- DE SOUZA ROCHA, A. F.; COSTA, R. R. G. F. Eficiência do *Azospirillum brasilense* em milho sob doses de adubação nitrogenada. In **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)**, ISSN 2447-8687, v.4, 2018.
- DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.22, p.107- 149, 2003.
- DÖBEREINER J. **Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica de nitrogênio no Brasil**. Estd. Av., 4:144-152. 1990.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Embrapa SPI, 1995.
- ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARWOOD, C.; Van, W.Y.K, G. **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford Science Publications. Oxford, New York. 2001.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FERREIRA, J. S.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Seleção de inoculantes à base de turfa contendo bactérias diazotróficas em duas variedades de arroz. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 179-185, 2010.

- FERREIRA, L. V.; PICOLOTTO, L.; DOS SANTOS PEREIRA, I.; SCHMITZ, J. D.; ANTUNES, L. E. C. Adubação nitrogenada em ciclos consecutivos e seu impacto no manejo adensado de pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 2, p. 172-181, 2018.
- GALDIANO JÚNIOR, R. F., PEDRINHO, E. A. N., CASTELLANE, T. C. L.; LEMOS, E. G. D. M. Auxin-producing bacteria isolated from the roots of *Cattleya walkeriana*, an endangered Brazilian orchid, and their role in acclimatization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 3, p. 729-737, 2011.
- GALVANI, F.; GAERTNER, E. **Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta**. Circular técnica, V.63, p. 34, 2006.
- GASPAR, T.; KEVERS, C.; PENEL, C.; GREPPIN, H.; REID, D.M.; THORPE, T.A. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. In vitro - **Plant Cell. Dev. Biol.**, v. 32, p. 272-289, 1996.
- GLICK, B.R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological research**, v. 169, n. 1, p. 30-39, 2014.
- GÓES, G. S.; GROSS, E.; BRITO-ROCHA, E.; MIELKE, M. S. Efeitos da inoculação com bactérias diazotróficas e da adubação nitrogenada no crescimento e na qualidade de mudas de *Ingalaurina (SW.) Willd.* (Fabaceae). **RevistaÁrvore**, v. 39(6), p.1031-1038, 2015.
- GOMES, A. A.; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R. Relação entre distribuição de nitrogênio e colonização por bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1105-1113, 2005.
- GONÇALVES, E. D. O.; GONÇALVES, W.; JACOVINE, L. A.G. Avaliação qualitativa de mudas destinadas à arborização urbana no Estado de Minas Gerais. **Revista Árvore**, v. 28, n. 4, 2004.
- GROSSNICKLE, S.C. Why Seedlings survive: influence of plant attributes. **New Forests**, V. 43, n.5/6, p.711-738, 2012.
- GUARÇONI, A.M.; VENTURA, J.A. Adubação N-P-K e o desenvolvimento, produtividade e qualidade dos frutos do abacaxi 'Gold' (MD-2). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.35, p.1367-1376, 2011.
- HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, L. A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta amazônica**, v. 34, n. 3, p. 343-357, 2004.
- HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: EMBRAPA-SOJA, (Documentos n. 325. EMBRAPA-SOJA, ISSN 1516-781X), p. 36, 2011.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES (IBA), 2015 ano base 2014. Disponível em: <http://iba.org/images/shared/iba_2015.pdf>. Acesso em jan. 2018.

ISMAEL, J.J.; VALERI, S.V.; CARVALHO, C.M.; SILVA, C.R.; SILVA, M.R. Efeitos de doses de nitrogênio e níveis de estresse hídrico sobre parâmetros morfofisiológicos de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill Ex Maiden na fase de rustificação. In: CONGRESSO E EXPOSIÇÃO INTERNACIONAL SOBRE FLORESTAS. Porto Seguro. **Resumos técnicos...** Rio de Janeiro: Instituto Biosfera, 2000. p.121.

JESUS, G. L. D.; BARROS, N. F. D.; SILVA, I. R. D.; NEVES, J. C. L.; HENRIQUES, E. P.; LIMA, V. C.; SOARES, E. M. B. Doses e fontes de nitrogênio na produtividade do eucalipto e nas frações da matéria orgânica em solo da região do cerrado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, 201-214, 2012.

LANGE, A.; CARVALHO, J. L. N. de; DAMIN, V.; CRUZ, J. C.; MARQUES, J. J. Alterações em atributos do solo decorrentes da aplicação de nitrogênio e palha em sistema semeadura direta na cultura do milho. **Ciência Rural**, v. 36, n. 2, p. 460-467, 2006

LEAL, R.M.; NATALE, W.; PRADO, R. de M.; ZACCARO, R.P. Adubação nitrogenada na implantação e na formação de pomares de caramboleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.1111-1119, 2007.

LIMA, F. F. **Bacillus subtilis e níveis de nitrogênio sobre o desenvolvimento e a produtividade do milho**, UFPI, Teresina - PI, 2010.

LUCY, M.; REED, E.; GLICK, B.R. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. **Antonie Leeuwenhoek**, v.86, n.1, p.1-25, 2004.

LUZ W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4, p.1-49, 1996.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, E. M.; ZARPELON, T. G.; SIQUEIRA, L. de. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de eucalipto tratados com rizobactérias selecionadas. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.29, n.6, p.843-851, 2005.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; FERREIRA, E. M.; BINOTI, D. H. B.; SIQUEIRA, L. Microbiolização e interação entre rizobactérias promotoras do crescimento e clones de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa – MG, v.33, n.5, p.789-797, 2009.

MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C.; MAFFIA, L. A.; FERREIRA, E. M.; DE SIQUEIRA, L. Compatibilidade e efeito da mistura de isolados de rizobactérias na indução do enraizamento e crescimento de clones de eucalipto. **Revista Árvore**, v. 31, n. 4, 2007.

- MAGALHÃES, F.M.M. **Caracterização e distribuição de uma nova espécie de bactéria fixadora de nitrogênio**. 1983. 89p. Tese de Mestrado. Manaus, Instituto Nacional de Pesquisa do Amazonas/FUA, 1983
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006. 631p.
- MARQUES, E.; UESUGI, C. H. Avaliação de bactérias extremófilas facultativas na produção de fitomassa do híbrido "*urograndis*" de eucalipto, a partir de sementes. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, vol.37, n.1, p. 41-47, 2013.
- MARQUES, E; AQUILES, R. K.; BLUM, L.E.B.; UESUGI, C.H. Bactérias extremófilas facultativas melhorando a germinabilidade de sementes de *Eucalyptus urophylla* S.T. blake. **Revista Árvore**, v. 38, n. 3, 2014.
- MARQUES, V. B.; DE PAIVA, H. N.; GOMES, J. M.; NEVES, J. C. L. Efeitos de fontes e doses de nitrogênio no crescimento de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.). **Scientia Forestalis**, n. 71, p. 77-85, 2006.
- MARTIN, P.; GLATZLE, A.; KOLB, W.; OMAI, H.; SCHMIDT, W. N-fixing bacteria in the rhizosphere: Quantification and hormonal effects on root development. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v.152, n.2, p.237-245, 1989.
- MARTINI, A.J. **O plantador de eucaliptos: A questão da preservação florestal no Brasil e o resgate documental do legado de Edmundo Navarro de Andrade**. Dissertação (Pós-graduação) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- MELO, IS. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. Em: Melo, IS; Azevedo, JL (eds). **Ecologia Microbiana**. EMBRAPA Meio Ambiente, Jaguariúna, p.86-116, 1998.
- MELO, L. C.; OLIVEIRA, C. V.; MANFREDI, C. BALDANI, V. L. D.; FERREIRA, J. S. Efeito de bactérias na promoção do enraizamento em clone de eucalipto. **Revista Enciclopédia biosfera**, centro científico conhecer, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 737 - 747, 2012.
- MORA, A. L.; GARCIA, C. H. **A cultura do eucalipto no Brasil**. Sociedade Brasileira de Silvicultura. Ficha Catalográfica, São Paulo, 112p, 2000.
- MOREIRA, A.L.L; ARAUJO, F.F. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Revista Árvore**, v. 37, n. 5, 2013.
- MOREIRA, F.M.S; SILVA, K.; NÓBREGA R.S.A.; CARVALHO F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, 1:74-99, 2010.

- MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; LAKSHMINARASIMHAN, C. Influence of N fertilization on the isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and *Hesbaspirillum* spp. from Indian sugar cane varieties. **Biology and Fertility of Soil**, v.29, p.157-164, 1999.
- NETO, F.J.D; YOSHIMI, F.K.; GARCIA, R.D.; MIYAMOTO, Y.R.; DOMINGUES, M.C.S. Desenvolvimento e produtividade do milho verde safrinha em resposta à aplicação foliar com *Azospirillum brasilense*. **Enciclopédia Biosfera**, V. 34, n.17; p. 1030, 2013.
- NEVES, T.A.; PROTÁSIO, T.P.; COUTO, A.M.; TRUGILHO, P.F.; SILVA, V.O.; VIEIRA, C.M.M. Avaliação de clones de *Eucalyptus* em diferentes locais visando à produção de carvão vegetal. **Pesquisa Florestal Brasileira**. Colombo, v.31, p. 319-330, 2011.
- NOVAES, A. B. **Avaliação morfofisiológica da qualidade de mudas de *Pinus taeda* L., produzidas em raiz nua e em diferentes tipos de recipientes**. 1998. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.
- OLIVARES, F.L.; BALDANI, V.L.D.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in root, stems, and leaves, predominantly of Gramineae. **Biol Fertil Soils**. V.21, p.197-200, 1996.
- OLIVEIRA, P.N. de.; DOVIS, V.L.; MATTOS JUNIOR, D. de. Nitrogênio na cultura dos citros. **Informações Agronômicas**, n.151, p.6-14, 2015.
- PALUDZYSZYN FILHO, E.; TELLES DOS SANTOS, P. E.; FERREIRA, C. A. **Eucaliptos indicados para plantio no Estado do Paraná**. Dados eletrônicos. Colombo: Embrapa Florestas, 2006.
- PALUDZYSZYN FILHO, F. Cultivo do eucalipto: indicações de espécies. Colombo, PR: **Embrapa Florestas**, 2003. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivoEucalipto/02_indicacao_de_especies.htm#topo. Acesso em: 27/03/2018.
- PEREIRA, W. **Produtividade e qualidade tecnológica da cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas**. 2011. 70f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.
- PEREIRA, W.; LEITE, J.M.; HIPÓLITO, G.S. e outros Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.2, p.363-370, 2013.
- PÔRTO, M. L.; PUIATTI, M.; FONTES, P. C. R.; CECON, P. R.; ALVES, J. C.; ARRUDA, J. A. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio na cultura da abobrinha. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 29, n. 3, p. 311-315, 2011.

- RAASCH, L. D.; BONALDO, S. M.; DE OLIVEIRA, A. A. F. *Bacillus subtilis*: enraizamento e crescimento de miniestacas de eucalipto em Sinop, norte de Mato Grosso. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 5, 2013.
- RAYMOND, J. SIEFERT, J. L.; STAPLES, C. R.; BLANKENSHIP, R. E. 80 The natural history of nitrogen fixation. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 21, n. 3, p. 541-554, 2004.
- REIS JUNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; ENDES, I. C.; MEHTA, A. **Isolamento, caracterização e seleção de estirpes de *Azospirillum amazonense* e *Herbaspirillum seropedicae* associadas a diferentes variedades de milho cultivadas no cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 36 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento), 2008.
- REZENDE, J. L. P.; RODRIGUES, C.; OLIVEIRA, A.D. Efeito dos tributos no custo de produção, na rotação e na reforma de *Eucalyptus spp*. **Cerne**, Lavras, 11(1), 70-83.2005.
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. V. H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359p.
- RICCI, M.S.; COSTA J.C.; REIS V.M.; OLIVEIRA F.F.; SILVA M.F.; RODRIGUES L.F.C. Promoção de crescimento de Mudas de Café (*Coffea arabica*) Inoculadas com *Azospirillum brasilense* Estirpe Cd. **Circular técnica**. Embrapa-RJ, v. 11, ISSN 1519-7328, 2005.
- RÖBER, R. Substratos hortícolas: possibilidades e limites de sua composição e uso;exemplos da pesquisa, da indústria e do consumo. In Kämpf, A. N. e M. H., Fermino (Ed.) **Substratos para plantas: a base da produção vegetal em recipientes**. Gênese, Porto Alegre, p.123-138, 2000.
- ROCHA, M. P.; TOMASELLI, I. Efeito do modelo de desdobro na qualidade da madeira serrada de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus dunnii*. **Cerne**, Lavras, v. 8, n. 2, p. 70-83, 2002
- ROESCH, L.F.; CAMARGO, F.O.; SELBACH, P.A; SA, E. L. S. D. Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1201-1204, 2005.
- ROJAS-SOLÍS, D.; ZETTER-SALMÓN, E.; CONTRERAS-PÉREZ, M.; ROCHA-GRANADOS, M.D.C; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; SANTOYO, G. *Pseudomonas stutzeri* E25 and *Stenotrophomonas maltophilia* CR71 endophytes produce antifungal volatile organic compounds and exhibit additive plant growth-promoting effects. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 13, p. 46-52, 2018.
- ROSCOE, R.; MIRANDA, R.A.S. **Fixação Biológica de Nitrogênio e Promoção de Crescimento em Milho Safrinha**. In: ROSCOE, R.; LOURENÇÃO, A.L.F.; GRIGOLLI, J.F.J. e outros (Eds.) Tecnologia e

produção: milho safrinha e culturas de inverno 2013. Curitiba: Midiograf, p. 38-44, 2013.

RUDNICK, P.; MELETZUS, D.; GREEN, A.; HE, L.; KENNEDY, C. Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, p. 831 -841, 1997.

SABINO, D. C. C.; FERREIRA, J. S.; GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, V. L. D. Bactérias diazotróficas como promotoras do desenvolvimento inicial de plântulas de arroz. **Enciclopédia Biosfera**, 8(15), 2337-2345, 2012.

SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, J. G.; SILVEIRA, A. P. D. Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em 83 condições de campo. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.42, n.6, p.833-842, 2007.

SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. **Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle**. Colombo: Embrapa Florestas, 2001.20p.

SANTOS, J. D. S.; VIANA, T. D. O.; JESUS, C. M. D.; BALDANI, V. L. D.; FERREIRA, J. S. Inoculation and isolation of plant growth-promoting bacteria in maize grown in Vitória da Conquista, Bahia, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 1, p. 78-85, 2015.

SANTOYO, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. D. C.; GOVINDAPPA, M. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. **Biocontrol Science and Technology**. v.22, n.8, p. 855–872, 2012.

SAUBIDET, M.I.; FATTA, N.; BARNEIX, A.J. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil**, v.245, p.215-222, 2002.

SCHUBERT, K. R. Products of biological nitrogen fixation in higher plants: synthesis, transport, and metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.37, p.539-574, 1986.

SEI – Superintendência de Estudos Econômicos e sociais da Bahia. **Estatísticas dos municípios baianos**. Salvador: SEI, 452p, 2013.

SERPA, M. F. P. **Potencial de enraizamento de mudas e avaliações de crescimento inicial de plantas de diferentes clones de *Eucalyptus***. 2014. 57f. Dissertação (Mestrado em agronomia), Universidade Estadual do sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista – BA, 2014.

SERPE, E. L.; MOTTA, A. C. V.; FIGUEIREDO FILHO, A.; ARCE, J. Efeitos de diferentes dosagens de adubação no crescimento inicial de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 1, n. 1, p. 204-209, 2018.

- SILVA, H.D. **Biomassa e aspectos nutricionais de cinco espécies de *Eucalyptus*, plantadas em solo de baixa fertilidade.** 1983. Dissertação (Mestrado) – Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.
- SILVA, L.D.; CARNEIRO, M.C.; EMÍDIO, V.S.; JUNIOR, S.S.H.; MONTEIRO, M.I.C. Determinação das formas de nitrogênio e nitrogênio total em rochas-reservatório de petróleo por destilação com arraste de vapor e método do indofenol. **Química Nova** [online]. vol.29, n.1, p.46-51, 2006.
- SILVA, M.C.S.; PAULA, T.A.; MOREIRA, B.C.; CAROLINO, M.; CRUZ, C.; BAZZOLLI D.M.S.; SILVA C.C.; KASUYA M.C.M. Nitrogen-Fixing-Bacteria in *Eucalyptus globulus* Plantations. **Plosone**, 9:1-12, 2014
- SILVA, R. F; ANTONIOLLI, Z I; ANDREAZZA, R. Efeito da inoculação com fungos ectomicorrízicos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 1, p. 33-42, 2002.
- SIMÕES, J. W. Problemática da produção de mudas em essências florestais. **IPEF**. v.4, n.3, p.1 – 29, 1987.
- SORATTO, R. P.; PEREIRA, M.; COSTA, T. A. M.; LAMPERT, V. N. Fontes alternativas e doses de nitrogênio no milho safrinha em sucessão à soja. Rev. **Ciência Agronômica**. ISSN 1806-6690; vol.41, n.4, p. 511-518; 2010.
- SOUSA, F.G. **Isolamento, identificação e seleção de bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal associadas à cultura do sorgo, em solos de diferentes biomas.** 202f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista – BA, 2017.
- SPASSIN, A.C. **Avaliação de bactérias como promotoras de crescimento e enraizamento de mudas de *Eucalyptus spp.* sob diferentes formas de dispensa.** 94f. Dissertação (Pós-graduação) Universidade do Sudoeste do Paraná, Irati – PR, 2014.
- STURION, J.A.; ANTUNES, B.M.A. **Produção de mudas de espécies florestais.** In: GALVÃO, A.P.M. Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. p.125-150.
- SUMAN, A.; GAUR, A.; SHRIVASTAVA, A. K.; YADAV, R. L. Improving sugarcane growth and nutrient uptake by inoculating *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Plant Growth Regulation**, v. 47, p. 155-162, 2005.
- SUMAN, A.; SHRIVASTAVA, A. K.; GAUR, A.; SINGH, P.; SINGH, J.; YADAV, R. L. Nitrogen use efficiency of sugarcane in relation to its BNF

- potential and population of endophytic diazotrophs at different N levels. **Plant Growth Regulation**, v.54, p.11, 2008.
- SUMAN, A.; SINGH, P.; LAL, M. Effects of diverse habitat biofertilizers on yield and nitrogen balance in plant-patoon crop cycle of sugarcane in subtropics. **Sugar Tech**, v.15, p.36-43, 2013.
- SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; TORRACA, S.L.; MAGALHÃES, F.M.M; OLIVEIRA, L.A.; PEREIRA, R.M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazônica**, v. 12, n. 1, p. 15-22, 1982.
- TEIXEIRA, D.A.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G.; FERREIRA, E.M.; SIQUEIRA, L.D.; MAFFIA, L.A.; MOUNTEER, A.H. Promoção Rhizobacterial de enraizamento de eucalipto e crescimento. **Brazilian Journal of Microbiology**, 38 (1), 118-123, 2007.
- TIMM, C.M.; PELLETIER, D.A.; JAWDY, S.S; GUNTER, L. E.; HENNING, J. A.; ENGLE, N.; LU, T. Y. Two poplar-associated bacterial isolates induce additive favorable responses in a constructed plant-microbiome system. **Frontiers Plant Science**. v.7, p. 497, 2016.
- VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. Embrapa Meio Ambiente-Livro científico. p. 163, 2018.
- WENDLING, I. **Substratos, adubação e irrigação na produção de mudas**. Viçosa: UFV, p.4, 2002.
- WILCKEN, C.F.; LIMA, A.C.V.; DIAS, T.K.R.; MASSON, M.V.; FERREIRA FILHO, P. J.; PGOGETTO, M. H. F. A. D. do. **Guia prático de manejo de plantações de eucalipto**. Botucatu: SP, p. 1 – 19, 2008.
- ZARPELON, T.G. **Caracterização de rizobactérias e eficiência do Rizolyptus® no enraizamento e crescimento do eucalipto**. 2007. 82f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.
- ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; ALVES, G. C.; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; CORDEIRO, A. C. C. Contribuição da bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae* para o rendimento de grãos de arroz e milho em Roraima. - Embrapa Roraima, Boletim de Desenvolvimento e Pesquisa Boa Vista – RR.; V.06; p. 20; 2007.