

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS DE CURITIBANOS  
DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA, BIODIVERSIDADE E FLORESTAS  
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

Gabriela da Silva Messias

**Caracterização e seleção de bactérias eficientes na produção de AIA e crescimento vegetal em *Mimosa scabrella* Benth.**

Curitibanos, SC

2024

Gabriela da Silva Messias

**Caracterização e seleção de bactérias eficientes na produção de AIA e crescimento vegetal em *Mimosa scabrella* Benth.**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia Florestal do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientador: Prof<sup>a</sup>/Dr<sup>a</sup>. Gloria Regina Botelho

Coorientador: Prof/ Dr. Vinicius Costa Cysneiros

Curitiba, SC

2024

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC. Dados inseridos pelo próprio autor.

Messias, Gabriela da Silva  
Caracterização e seleção de bactérias eficientes na produção de AIA e crescimento vegetal em Mimosa scabrella Benth. / Gabriela da Silva Messias ; orientador, Gloria Regina Botelho, coorientador, Vinicius Costa Cysneiros, 2024.  
54 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Graduação em Engenharia Florestal, Curitibanos, 2024.

Inclui referências.

1. Engenharia Florestal. 2. Microbiologia, Bracatinga, Restauração. I. Botelho, Gloria Regina . II. Cysneiros, Vinicius Costa. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia Florestal. IV. Título.

Gabriela da Silva Messias

**Caracterização e seleção de bactérias eficientes na produção de AIA e crescimento vegetal em *Mimosa scabrella* Benth.**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Engenharia Florestal” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia Florestal

Curitiba-SC, 05 de junho de 2024.



Documento assinado digitalmente

**MARCELO BONAZZA**

Data: 28/06/2024 17:07:05-0300

CPF: \*\*\*.641.899-\*\*

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof./Dr. Marcelo Bonazza Coordenador (a) do Curso

**Banca Examinadora:**



Documento assinado digitalmente

**GLORIA REGINA BOTELHO**

Data: 28/06/2024 16:22:11-0300

CPF: \*\*\*.241.057-\*\*

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof<sup>a</sup>./Dr<sup>a</sup>. Gloria Regina Botelho Orientador (a)  
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

**SERGIO MIANA DE FARIA**

Data: 28/06/2024 17:52:14-0300

CPF: \*\*\*.687.127-\*\*

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Dr. Sergio Miana de Faria Avaliador (a)  
Embrapa Agrobiologia



Documento assinado digitalmente

**Kelen Haygert Lencina**

Data: 28/06/2024 18:49:14-0300

CPF: \*\*\*.476.600-\*\*

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof<sup>a</sup>./Dr<sup>a</sup>. Kelen Haygert Lencina Avaliador (a)  
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus queridos pais e irmã.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Edna e Ananias, por todo o apoio, amor, carinho e compreensão. Por sempre estarem comigo em todos os momentos, apesar da distância. Por serem o meu porto seguro no meio da tempestade que é a vida, por sonhar e realizar este sonho comigo, por nunca me deixar desistir nos momentos difíceis. Eu amo vocês com todo meu coração.

Agradeço as minhas irmãs e sobrinhos por toda a compressão e apoio, mesmo nos momentos em que não pude estar presente, vocês fazem os meus dias cinzas mais felizes.

Agradeço principalmente a minha irmã Beatriz, pois sei que não fui presente nestes anos, que não lhe dei a devida atenção, mas me sinto a pessoa mais importante do mundo ao ouvir você dizer que sou seu exemplo. Luta para que quando chegar sua vez o mundo não seja mais tão cruel, para que seus sonhos se realizem mais fáceis que o meu. Obrigada por cuidar dos nossos pais e do Seth, você sempre vai ser meu bebezinho.

Agradeço aos meus tios, tias e primos, pelo apoio e pelos momentos felizes, cada momento ao lado de vocês é uma felicidade e aprendizagem constante.

Agradeço aos meus amigos, Vinicius, Cintia, Ingrid, Veronica, Ana Clara e Daniel, pelas loucuras, pelo desespero compartilhado, pelas rodas de estudo, pelas conversas, pelas trocas de conhecimento e pela amizade, que pretendo levar para o resto da vida.

Agradeço ao meu namorado por ser meu melhor amigo, confidente e companheiro nestes anos, por ter suportado todos as crises ao meu lado, por dividir esta jornada comigo e por ter me tornado parte da sua família, a essa família o meu muito obrigada.

Agradeço ao apartamento 11 por ser meu lar e meu abrigo, por ter me dado grandes amigas, Stephanie, Andressa, Ana Karolina e Leticia, pelas risadas, pelos jogos e pelas jantas incríveis.

Agradeço a minha orientado Gloria, por todo o conhecimento transmitido, pela oportunidade, pelo empenho e por acreditar em mim, graças a senhora encontrei uma paixão em um mundo tão pequeno e diverso, que não espera, que está em constante desenvolvimento.

Agradeço ao grupo de pesquisa LMPCP e aos meus colegas por toda a ajuda, trocas e apoio durante este período.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina, ao *campus* de Curitiba, ao Curso de Engenharia Florestal, aos técnicos e aos professores do curso por todo conhecimento e pela oportunidade de em breve me torna uma Engenharia Florestal.

## RESUMO

A bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) é uma espécie endêmica do sul do Brasil, de importância social e florestal. É uma espécie pioneira, de desenvolvimento rápido e pouco exigente em condições físicas e químicas do solo. Sua madeira é utilizada para a produção de lenha e carvão, e a árvore em pé pode ser utilizada para a produção de mel de melato de bracatinga, além de auxiliar na deposição de nutrientes ao solo. Esta última característica faz a espécie se destacar como agente ecológico e restaurador de ecossistemas, pois facilita o desenvolvimento de outras espécies nativas, além de possuir a capacidade de realizar ligação simbiótica com algumas espécies bacterianas. Alguns gêneros bacterianos possuem mecanismos que promovem o crescimento, auxiliando no desenvolvimento da planta, maior absorção de nutrientes e proteção contra patógenos. Entre esses está a produção de ácido-indolacético (AIA), um fitormônio responsável pelo desenvolvimento de raízes, aumento de seu número e comprimento, massa seca, densidade de pelos radiculares e crescimento de caules, através do alongamento das células recém-formadas nos meristemas. Este trabalho teve como objetivo caracterizar fenotipicamente dezessete isolados bacterianos retirados de nódulos de bracatinga, no ano de 2015, no município de Curitibanos-SC. Além disto, verificar e quantificar a capacidade em produzir AIA e avaliar sua habilidade em promover o crescimento vegetal. Essa caracterização foi feita *in vitro*, através da morfologia de colônias, teste de Gram, tempo de crescimento e mudança de pH em meio semi-seletivo. Para a análise de produção de AIA foi utilizada a espectrofotometria, com quatro repetições por isolado. Com relação a promoção de crescimento vegetal *in vivo* foi realizada a avaliação de seis isolados selecionados e uma testemunha, em duas progênies de bracatinga. Foram utilizados sete tratamentos com vinte repetições cada. As sementes foram inoculadas em suspensões bacterianas e levadas a casa de vegetação onde permaneceram por 180 DAS (Dias Após a Semeadura), até a avaliação de crescimento em altura, diâmetro a altura do colo, massa total e massas verde e seca de parte aérea e de raiz. A análise estatística foi realizada através a ANOVA, em nível de 5%, as médias comparadas por Scott-Knott, em nível de 5%, no *software* RStudio. A análise *in vitro* demonstrou que todas as bactérias apresentaram colônias circulares, de borda lisa, aspecto gomoso, com elevação do tipo cúpula, de colorações rosa difusas, opacas. Essas eram Gram-negativas, de crescimento rápido, pois desenvolveram-se em 48 h, possuíam o formato celular tipo bastonete. Com relação a mudança de pH do meio YMA com azul de bromotimol, 86,47% não modificaram o pH. Todos os isolados se mostraram positivos para a produção de AIA, apresentando média de 54,32  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , sem diferença significativa entre esses. Observou-se que não houve a formação de nódulos com a inoculação dos isolados. Com relação ao crescimento vegetal, observou-se que apenas o isolado B18 induziu o crescimento da progênie A em altura. Concluindo que os isolados possuem características fenotípicas de rizobactérias, mas possivelmente perderam a capacidade de nodular. Porém são produtores de AIA, e um dos isolados estimulou o crescimento da progênie A.

**Palavras-chave:** Bracatinga. Isolados. Ácido-indolacético. Caracterização. Estimulo.

## ABSTRACT

The bracinga (*Mimosa scabrella* Benth.) is an endemic species from southern Brazil, of social and forestry importance. It is a pioneer species, fast-growing, and not very demanding in terms of the physical and chemical conditions of the soil. Its wood is used for firewood and charcoal production, and the standing tree can be used for the production of bracinga honeydew honey, as well as aiding in the deposition of nutrients to the soil. This latter characteristic makes the species stand out as an ecological agent and ecosystem restorer, as it facilitates the development of other native species and has the ability to form a symbiotic relationship with certain bacterial species. Some bacterial genera have mechanisms that promote growth, assisting in plant development, greater nutrient absorption, and protection against pathogens. Among these is the production of indoleacetic acid (IAA), a phytohormone responsible for root development, increasing their number and length, dry mass, root hair density, and stem growth through the elongation of newly formed cells in the meristems. This study aimed to phenotypically characterize seventeen bacterial isolates taken from bracinga nodules in 2015 in the municipality of Curitiba-SC. Additionally, it aimed to verify and quantify their ability to produce IAA and evaluate their ability to promote plant growth. This characterization was done in vitro through colony morphology, Gram staining, growth time, and pH change in a semi-selective medium. Spectrophotometry was used for the IAA production analysis, with four repetitions per isolate. Regarding in vivo plant growth promotion, the evaluation was performed on six selected isolates and a control, in two bracinga progenies. Seven treatments with twenty repetitions each were used. The seeds were inoculated in bacterial suspensions and taken to a greenhouse where they remained for 180 days after sowing (DAS), until the evaluation of growth in height, stem diameter at ground level, total mass, and fresh and dry masses of the aerial part and root. Statistical analysis was performed using ANOVA at a 5% level, and the means were compared by the Scott-Knott test at a 5% level, using the RStudio software. The in vitro analysis showed that all bacteria presented circular colonies, with smooth edges, gummy appearance, dome-shaped elevation, and diffuse pink, opaque colors. They were Gram-negative, fast-growing, as they developed within 48 hours, and had rod-shaped cells. Regarding the pH change of the YMA medium with bromothymol blue, 86.47% did not modify the pH. All isolates were positive for IAA production, presenting an average of 54.32 µg.mL<sup>-1</sup>, with no significant difference among them. It was observed that there was no nodule formation with the inoculation of the isolates. Regarding plant growth, it was observed that only the B18 isolate induced height growth in progeny A. In conclusion, the isolates have phenotypic characteristics of rhizobacteria but possibly lost the ability to nodulate. However, they are IAA producers, and one of the isolates stimulated the growth of progeny A.

**Keywords:** Bracinga. Isolated. Indole-acetic acid. Description. Stimulus.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Repicagem e purificação dos isolados de bracatinga.....	23
Figura 2- Alteração de pH de meio YMA com azul de bromotimol. ....	24
Figura 3- Análise de produção de AIA.....	25
Figura 4- Curva padrão de AIA.....	26
Figura 5- Mapa de localização das árvores matrizes. ....	27
Figura 6- Beneficiamento das sementes de bracatinga.....	28
Figura 7- Superação de dormência. ....	29
Figura 8- Instalação do experimento em casa de vegetação.....	31

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Caracterização dos Isolados Estocados. ....	32
Tabela 2- Produção quantitativa de AIA. ....	34
Tabela 3- Quantificação UFC.mL <sup>-1</sup> dos isolados. ....	36
Tabela 4- Efeito da inoculação dos isolados, em duas progênies de bracatinga. ....	37
Tabela 5- Efeito da inoculação de isolados bacterianos de nódulos em duas progênies de bracatinga.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABC- Agricultura de Baixo Carbono.

AIA- Ácido-indolacético.

APG- Angiosperm Phylogeny Group.

BPVC- Bactérias promotoras de crescimento de plantas.

CMISA - Coleção de Micro-organismos de Interesse Agrícola da Embrapa Semiárido

DAS- Dias após a semeadura.

DIC- Delineamento inteiramente casualizado

DO- Denominação de Origem.

eRPCPs- Extracellular plant growth promoting bacteria.

FBN- Fixação biológica de nitrogênio.

iRPCPs- Intracelular plant growth promoting bacteria.

LB- Luria Bertani.

LMPCP - Laboratório de Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas.

UFC- Unidade formadora de colônia.

YM- Yeast Mannitol.

YMA- Yeast Mannitol Agar.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
1.1	OBJETIVOS.....	15
1.1.1	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>15</b>
1.1.2	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>16</b>
2.1	A FAMÍLIA FABACEAE E A FIXAÇÃO BIOLÓGICA do N (FBN). .....	16
2.2	AS BRACATINGAS: TAXONOMIA, DESENVOLVIMENTO E USO.....	17
2.3	BACTÉRIAS E SUA CAPACIDADE DE PROMOVER CRESCIMENTO VEGETAL.....	18
2.4	RIZOSFERA, RIZÓBIOS E RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL.....	19
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
3.1	CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS ISOLADOS DE BRACATINGA <i>in vitro</i> .....	22
3.1.1	<b>Repicagens e Purificação.....</b>	<b>22</b>
3.1.2	<b>Caracterização e Análise da Produção de AIA.....</b>	<b>23</b>
3.2	COLETA DAS SEMENTES DE BRACATINGA PARA ANÁLISE DE NODULAÇÃO E ESTÍMULO AO CRESCIMENTO VEGETAL.....	26
3.3	SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E DESINFESTAÇÃO DE SEMENTES.....	28
3.4	PREPARO DOS INÓCULOS DE ISOLADOS.....	29
3.4.1	<b>Quantificação do número Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos isolados bacterianos.....</b>	<b>30</b>
3.5	AVALIAÇÃO DO ESTÍMULO AO CRESCIMENTO VEGETAL PELOS ISOLADOS.....	30
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICAS E PRODUÇÃO DE AIA DE ISOLADOS DE BRACATINGA.....	32
4.1.1	<b>Caracterização fenotípica dos isolados de nódulos de bracatinga. ....</b>	<b>32</b>

<b>4.1.2</b>	<b>Produção de AIA por isolados de bracatinga.....</b>	<b>34</b>
4.2	ESTÍMULO AO CRESCIMENTO VEGETAL PELOS ISOLADOS DE BRACATINGA.....	35
<b>4.2.1</b>	<b>Quantificação de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos isolados bacterianos nos inóculos.....</b>	<b>36</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Análise do estímulo ao crescimento vegetal pelos isolados.....</b>	<b>36</b>
4.2.2.1	<i>Análise avaliativa do estímulo em altura .....</i>	<i>38</i>
4.2.2.2	<i>Análise avaliativa do estímulo em diâmetro.....</i>	<i>39</i>
4.2.2.3	<i>Análise avaliativa do estímulo em massa de raiz.....</i>	<i>40</i>
4.2.2.4	<i>Análise avaliativa do estímulo em massa de parte aérea.....</i>	<i>41</i>
4.2.2.5	<i>Análise avaliativa do estímulo em massa total das plântulas .....</i>	<i>42</i>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>46</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Planalto Catarinense é palco de um grande movimento econômico, proporcionado pelo agronegócio (Simioni; Hoeflich, 2010; Virtuoso *et al.*, 2017). A região se destaca pelo clima, solo, bioma e aspectos ecológicos (Simioni; Hoeflich, 2010; Virtuoso *et al.*, 2017). Esse território é predominado pela Floresta Ombrófila Mista cuja fitoecologia apresenta elementos das floras tropicais (Meyer *et al.*, 2013; Virtuoso *et al.*, 2017).

Entre as espécies de maior evidência neste tipo florístico está a *Mimosa scabrella* Benth., comumente conhecida como bracatinga (Steenbock *et al.*, 2011). Essa espécie endêmica é muito popular na região sul do Brasil, possui ciclo de vida curto e crescimento rápido. Sua matéria-prima pode ser utilizada no setor madeireiro, ecológico e social (Steenbock *et al.*, 2011; Arruda, 2015; Dutra; Morim, 2017).

A bracatinga é um importante agente ecológico, pois cresce em terrenos irregulares, possui a habilidade de incorporar matéria orgânica ao solo, facilitando o desenvolvimento de outras espécies nativas (STCP ENGENHARIA DE PROJETOS LTDA., 2011; Steenbock *et al.*, 2011; Gerber, 2021). Possui a capacidade de realizar ligação simbiótica com microrganismos, que podem auxiliar na recuperação de solos por meio de biomassa microbiana e fixação de nutrientes (Wadt, 2003; Steenbock *et al.*, 2011; Gerber, 2021). Devido a essas características, a cultura é muito utilizada na restauração de ecossistemas que foram alterados por meio da alta manipulação rural, mudando as funções físicas, químicas e biológicas do solo, diminuindo sua qualidade e produtividade (Carvalho, 2002; Lopes *et al.*, 2010).

Para o total desempenho da espécie, assim como todas as espécies vegetais, necessita de nutrientes, primários e secundários. A disponibilidade desses nutrientes essenciais para vida vegetal pode ser feita por meio da adubação química e orgânica ou através do auxílio de microrganismos (Batista, 2012; Chaparro, 2015; Balbinot; Rodrigues; Botelho, 2020).

Para diminuir os custos impostos em projetos de restauração ambiental, com relação ao uso de adubos, e para o aumentar a eficiência dos projetos, os microrganismos surgem como uma alternativa, que além de suprir estas funções, podem estimular o crescimento vegetal, auxiliando assim, plantas como a bracatinga a recuperar ambientes degradados (Oliveira Junior *et al.*, 2010).

Os microrganismos encontrados na região rizosférica dos solos têm sido foco de muitos estudos, com grande relevância na agricultura, pois desencadeiam ações que favorecem os plantios agrícolas e florestais (Sottero, 2003; Breda; Alves; Reis, 2016; Rashid, 2016). Estes são denominadas rizobactérias promotoras de crescimento vegetal, dentro deste grupo estão os

gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Allorhizobium* e *Bradyrhizobium* (Vargas *et al.*, 1994; Wadt, 2003; Vargas, 2013; Alves; Aguila, 2020).). Um dos gêneros mais conhecidos e estudados, é o *Rhizobium* pois podem se associar simbioticamente às plantas da família Fabaceae e fixar o N atmosférico, disponibilizando para o vegetal (Ferreira, 2007; Vargas *et al.*, 1994; Vargas, 2013; Figueira, 2024).

Além da FBN, a síntese de fitormônios tem sido bastante estudada como mecanismo de promoção do crescimento de plantas (Coatti *et al.*; 2010). Dentre os hormônios, as auxinas são metabolizadas por 80% das rizobactérias. Sendo o ácido-indolacético (AIA) uma das substâncias mais produzidas por este grupo, que tem como finalidade auxiliar no crescimento vegetal, através da divisão vegetal, induzindo a produção e alongamento de raízes (Coatti *et al.*; 2010, Figueiredo, 2024). Esta indução também auxilia na redução de custo de adubação e o bom desenvolvimento das plantas em projetos de restauração, pois a ampliando da captação de água e nutrientes (Cassel *et al*, 2021).

Com a implementação do Plano ABC (Agricultura de Baixo Carbono) e com os compromissos ecológicos que o Brasil assumiu ao decorrer desses anos (Soares Filho *et al*, 2014). A recuperação ambiental vem sendo o foco do desenvolvimento sócio-econômico, e como principal agente restaurador, as plantas do grupo leguminosas se destacam, pela associação com bactérias promotoras de crescimento (Oliveira Junior *et al*, 2010; Oliveira *et al*, 2017; Fontes *et al*, 2020). Esta associação pode favorecer o desenvolvimento de mudas em viveiros e o estabelecimento a campo.

Com isso, este estudo espera caracterizar as bactérias isoladas de nódulos encontrados em bracatinga, verificando sua capacidade de produção de AIA e sua capacidade em estimular o crescimento vegetal.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o estímulo ao crescimento de bracatinga por isolados bacterianos de nódulos.

### 1.1.2 Objetivos específicos

Caracterizar fenotipicamente dos isolados bacterianos

Avaliar a capacidade de produção de AIA *in vitro*

Avaliar a capacidade de promover o crescimento *in planta*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A FAMÍLIA FABACEAE E A FIXAÇÃO BIOLÓGICA do N (FBN).

A *Fabaceae* possui ampla diversidade e abundância entre as angiospermas (Souza; Lorenzi, 2008). As leguminosas estão distribuídas mundialmente, contando com 770 gêneros e cerca de 19.500 espécies (LPWG, 2017), representando, uma das maiores famílias de angiospermas, por este motivo, são importantes do ponto de vista econômico (Souza; Lorenzi, 2008).

Suas espécies estão distribuídas em seis subfamílias: Cercidoideae, Detarioideae, Duparquetioideae, Dialioideae, *Caesalpinioideae* e *Papilionoidea* que (LPWG, 2017). Possuem, aproximadamente, 188 gêneros e 2.100 espécies catalogadas no Brasil (Escobar *et al.*, 2014). Essas ocorrem desde picos de montanhas a costas arenosas, de florestas tropicais a desertos, inclusive em ambientes aquáticos (Lewis, 1987). Suas plantas herbáceas são perenes, eretas, rasteiras, difusas, lianas, subarborescentes, arbustivas e arbóreas de pequeno, médio ou grande porte (Lewis, 1987). São monofiléticos com folhas compostas, alternas, occipitais, pétalas frontais diferenciadas e um único ovário de carpelo (Carvalho, 2002). As espécies apresentam frutos, geralmente, do tipo legume, mas apresentam variações: legume bacoide, nucoide e, samaroide e lomento, folículo, sâmara e drupa (Guerra *et al.*, 2007).

A espécie foco deste trabalho, bracinga, pertence à da subfamília *Caesalpinioideae* e ao clado mimosoide (LPWG, 2017). É a segunda maior subfamília entre as *Leguminosae*, com cerca de 4.400 espécies, 148 gêneros. Essas estão distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e nas regiões temperadas, (Lewis *et al.*, 2005)

Este clado assim como outras leguminosa, encontradas em diversas as regiões do globo, associam-se a microrganismo promotores de crescimento (Lopes *et al.*, 2010; Meyer *et al.*, 2015; Santos, 2020). Estes microrganismos são encontrados em nódulos presentes nas raízes ou na rizosfera (Meyer *et al.*, 2015; Santos, 2020). Os microrganismos presentes nos nódulos são em maioria rizóbios, bactérias capazes de se associar simbioticamente com as leguminosas (Lopes *et al.*, 2010). Mas segundo Muresu *et al.* (2019), há a presença de outros microrganismos nesta região, isto pode estar relacionada a exigência da planta em hospedar uma série diversa de microrganismos, para suportar os desafios mais severos.

A associação simbiótica com rizóbios, emprega a capacidade de adquirir nitrogênio, as leguminosas, através da fixação biológica (Lopes *et al.*, 2010). Suprindo de 60 a 100 por cento das necessidades de nitrogênio de uma planta (Lopes *et al.*, 2010). Essa relação começa com a liberação de flavonóides pelas plantas, como sinais para a secreção bacteriana de fatores

Nod, que são detectados nos pêlos radiculares e induzem a nodulação radicular (Kiriachek *et al.*, 2009).

Os nódulos permitem que os rizóbios sobrevivam como bacteroides no hospedeiro que fornece o ambiente anaeróbico necessário para a ação da nitrogenase, enzima responsável pela transformação do nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>) em amônia (NH<sub>3</sub>) (Sampaio, 2013). tornando-o disponível para o metabolismo da planta hospedeira que, por sua vez, fornece vários nutrientes

## 2.2 AS BRACATINGAS: TAXONOMIA, DESENVOLVIMENTO E USO

A bracatinga, *Mimosa scabrella* Benth., tem seu nome popular derivado de uma palavra da língua Guarani, *Abaracatinga*, que significa “árvore branca” (ou floresta), com muitas penas (Hoehne, 1930). Essa é uma das poucas espécies do gênero *Mimosa*, classificada como arbóreo (Steenbock *et al.*, 2011). É uma espécie nativa da região de clima subtropical, do Sul do Brasil. Pode ser encontrada nos Estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Dutra; Morim, 2017; Silva *et al.*, 2021).

É considerada uma espécie precursora que ocorre, principalmente, em estratos secundários de florestas mistas, onde, às vezes, formam núcleos densos e puros, conhecidos como bracatingais (Steenbock *et al.*, 2011). Quando inserida em estratos secundários, apresenta menor densidade e menor número de indivíduos (Steenbock *et al.*, 2011), afetando diretamente seu crescimento. As plantas dessa espécie encontradas em núcleos puros são mais desenvolvidas em altura do tronco, diferentemente, das encontradas em estratos secundários (Bartoszeck *et al.*, 2004).

Por ser uma árvore pouco exigente em condições físicas e químicas do solo, pode cobrir, rapidamente, áreas alteradas ou degradadas. Além disso, ao longo de seu desenvolvimento, é capaz de estimular a vida microbiana no solo, devido à deposição de serapilheira, enriquecida pela quantidade de nitrogênio absorvida e fixada por bactérias, às quais se associam simbioticamente (Ferreira *et al.*, 2019).

Em decorrência das suas propriedades físicas, químicas e biológicas, seu uso é limitado à produção de melado, mel, carvão, lenha, adereços para construção civil e tutores para tomateiro (Dias, 2020). O Mel de Melato de bracatinga é um atributo de Indicação Geográfica na categoria Denominação de Origem (DO) do Planalto Sul brasileiro (Dias, 2021). Esse produto é utilizado e produzido em 134 municípios, sendo 107 de Santa Catarina, 12 do Paraná e 15 do Rio Grande do Sul. Essa mercadoria é única, singular, que só ocorre em condições específicas de clima, altitude e condição geográfica das regiões citadas anteriormente. Por

possuir alta qualidade, impulsiona o mercado nacional, sendo objeto de renda de muitos produtores e é utilizado na alimentação diária da população do Planalto Sul brasileiro (Dias, 2021).

A madeira da bracatinga é muito utilizada para a produção de lenha e carvão, tanto pela indústria, quanto pela população rural, sua madeira, por possuir grande potencial calorífico, é tão utilizada para esses fins, como a madeira de pinus e eucalipto no Brasil (Fabrowski *et al.*, 2015). Além disso, tem potencial para produzir pisos e parquetes pois, sua madeira é relativamente densa (Dias, 2020).

A bracatinga é uma espécie arbórea pouco utilizada para fins moveleiros. O cerne e seu alburno não possuem diferenciação pela coloração, sendo que sua cor varia do marrom-acinzentado ao rosa e o brilho não é proeminente. A densidade da madeira é moderada, com resistência limitada à compressão axial e flexão estática, difícil de cortar, mas fácil aplainar e lixar, e de superfície lisa (Fabrowski *et al.*, 2005). É considerada de baixa durabilidade, mas é permeável aos compostos conservantes, o que auxilia na resistência da madeira (Carvalho, 2002). Essas características mostram que sua madeira tem potencial para ser utilizada no ramo de movelaria, necessitando de mais estudos (Fabrowski *et al.*, 2005).

### 2.3 BACTÉRIAS E SUA CAPACIDADE DE PROMOVER CRESCIMENTO VEGETAL

Os microrganismos estão presentes em todo o globo e são de suma importância para os processos ecológicos. Esses participam da ciclagem de nutrientes, dos processos biogeoquímicos, da fotossíntese, da geração de oxigênio, da manutenção estrutural e fertilidade dos solos (Santoyo *et al.*, 2016; Kumar, 2016). A fração conhecida desses seres não representa toda a sua biodiversidade, significando apenas uma pequena parte dessa comunidade. As bactérias são cerca de 95% da comunidade microbiana encontradas nos solos, e dentro dessa comunidade diversa estão as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) (Oliveira; Urquiaga; Baldani, 2003; Santos, 2020).

As BPVC habitam a rizosfera, estando presentes na região do solo próxima às raízes, e podem ter interação positiva, neutra ou negativa ao crescimento vegetal (Nehl *et al.*, 1996). Essas podem ser classificadas como bactérias de vida livre, rizosférica e endofíticas. As bactérias endofíticas são capazes de se associar intimamente aos tecidos vegetais (Nehl *et al.*, 1996). Com relação ao estímulo ao crescimento, os seres endofíticos detêm características mais adequadas as expressões dos mecanismos de ação, já que no tecido onde estão presentes, há

baixa competição com outras espécies bacterianas e uma alta disponibilidade energética (Oliveira; Urquiaga; Baldani, 2003).

O modo de ação para promoção de crescimento por BPCP, são diretos ou indiretos. Os mecanismos de ação direta são a fixação de nitrogênio, a solubilização de fósforo e a síntese de fitormônios. Já os de ação indireta, como o controle biológico, ocorre através da competição por nutrientes com o patógeno (Kloepper, 1993; Nehl *et al.*, 1996; Whipps, 2001; Sottero, 2003).

A grande maioria das BPCV é capaz de sintetizar reguladores de crescimento vegetal, como os fitormônios, dentre as quais as auxinas, giberelinas, citocininas e, em alguns casos, o etileno (Oliveira *et al.*, 2014; Oliveira; Urquiaga; Baldani, 2003). A síntese de alguns destes fitormônios, como as auxinas, está relacionada a capacidade de estimular o crescimento vegetal, através da divisão celular e indução de raízes, ou mesmo à patogenicidade, aumentando as taxas respiratória e de transpiração, inibindo a lignificação (Oliveira; Urquiaga; Baldani, 2003; Agrios, 2005). Este é um hormônio responsável por estimular o crescimento de raízes, aumento do número e comprimento das raízes laterais, massa seca radicular e número, densidade dos pelos radiculares e crescimento de caules através do alongamento das células recém-formadas nos meristemas (Marchioro, 2005; Santos, 2020).

Dentre as auxinas, a mais estudada é o ácido-indolacético (AIA), pois cerca de 80% das BCPV são capazes de sintetizar esse fitormônio (Loper; Schroth, 1986; Glick, 2012). Ele pode ser biossintetizado por vias dependentes do L-triptofano ou por vias independentes que acontecem a partir de outros precursores (3-indol acetamida, ácido 3-indol pirúvico e 3-indol acetonitrila) (Oliveira; Urquiaga; Baldani, 2003). Essa substância também é utilizada como percurso para a síntese de AIA *in vitro* por bactérias isoladas da rizosfera (Khalid *et al.*, 2004). Esse aminoácido é encontrado de forma natural nos exsudatos radiculares das plantas e isso facilita a síntese da auxina na rizosfera (Lum; Hirsch, 2002).

## 2.4 RIZOSFERA, RIZÓBIOS E RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

Romagnoli *et al.* (2016) definem a rizosfera como o ambiente do solo influenciado pelo sistema radicular das plantas. Por possuir propriedades que permitem acumular mais matéria orgânica, essa região é capaz de atrair mais microrganismos. Isso ocorre devido à grande disponibilidade de nutrientes que favorece o seu crescimento vegetal (Romagnoli, 2016).

Na rizosfera estão localizados microrganismos que desempenham importantes papéis nos sistemas naturais e agrícolas, participando dos ciclos biogeoquímicos e das transformações da matéria orgânica (Cardoso *et al.*, 1992). Essa se divide em três regiões: ectorrizosfera que compreende ao solo próximo às raízes; a endorrizosfera que compreende aos tecidos corticais e o rizoplano, a superfície da raiz, região na qual vários grupos de microrganismos interagem entre si (Cardoso *et al.*, 2016).

Fungos e bactérias colonizam a rizosfera pela transformação do ambiente do solo circundante, servindo como substrato para crescimento seletivo de microrganismos, capazes de utilizar eficientemente determinado substrato (Silveira *et al.*, 2007). Esses microrganismos influenciam na composição e na quantidade de vários componentes dos exsudatos radiculares, interferindo no estado nutricional das raízes das plantas (Silveira *et al.*, 2007).

Dentre esses microrganismos do solo estão as rizobactérias. Esse grupo é composto por quaisquer bactérias que vivem na rizosfera e afetam, benéficamente, o crescimento de espécies vegetais (Botelho; Brasil, 2023). Para Silveira *et al.* (2007), os rizóbios não estão inseridos neste grupo, embora tenha uma atividade benéfica para as plantas, esses não se encaixam no grupo de Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas, por possuírem uma relação simbiótica com as leguminosas. Porém, outros autores, em contraponto, declaram que as bactérias do grupo de RPCP (Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas) são todas as que promovem crescimento ou induzem resistência a patógenos, como a capacidade de fixação de nitrogênio com ou sem simbiose, solubilização de fosfatos, produção de fosfatases, produção de compostos complexos que transformam nutrientes no solo, produção de fitormônios e biorremediação (Botelho *et al.*, 2019; Grange *et al.*, 2007).

Gray; Smith (2005) dividiram esta comunidade em dois grupos, iRPCPs e eRPCPs. O grupo iRPCPs são indivíduos que vivem no interior das células radiculares, enquanto eRPCPs que são bactérias que residem extracelularmente nos tecidos das raízes. Ambos os grupos promovem o crescimento vegetal. Os pertencentes a iRPCPs, através da indução de nódulos, estrutura responsável pela fixação biológica de nitrogênio, nesta categoria estão incluídos os rizóbios, como os gêneros bacterianos: *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Ensifer*. Já os pertencentes a eRPCPs promovem crescimento vegetal, através de síntese de sinais ou substâncias específicas e dentro desse grupo estão os gêneros bacterianos como *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Serratia*.

A fixação do nitrogênio feita pelos rizóbios é realizada a partir da conversão do nitrogênio gasoso (N<sub>2</sub>) em amônia (NH<sub>3</sub>) (Coelho, 2021). As bactérias desse grupo são

utilizadas como inoculantes para culturas agrícolas e florestais, gerando estudos e possibilidade para favorecer esses meios (Botelho *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2018; Wibbelt, 2019). Nas espécies da subfamília *Mimosa* os rizóbios que colonizam suas raízes, fazem a nodulação e fixação de nitrogênio pertencem aos beta-rizóbios, como o gênero *Paraburkholderia*, encontrados mais frequentemente em zonas tropicais (Silva, 2018).

Os rizóbios podem influenciar no crescimento e desenvolvimento de plantas, não apenas pela FBN, mas também, contribuindo com a produção de fitormônios, como as auxinas, comum em diversas rizobactérias (Coatti *et al.*, 2010). A auxina mais comum a ser produzida é o ácido-indolacético (AIA), capaz de promover o crescimento vegetal por meio da estimulação da mitose (Loper; Schroth, 1986; Glick, 2012). A síntese de AIA e a fixação biológica do nitrogênio por bactérias, contribuem efetivamente para o crescimento de plantas leguminosas e não-leguminosas (Coatti *et al.*, 2010).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram realizados no Laboratório de Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas (LMPCP) da Universidade Federal de Santa Catarina *campus* Curitibanos, o qual trabalha com coleções de rizóbios e outras rizobactérias promotoras de crescimento de plantas como *Pseudomonas* fluorescente, *Bacillus* e outras isoladas de diferentes espécies vegetais. A coleção alvo deste estudo, refere-se a bactérias isoladas de nódulos de bracatinga no ano de 2015, referente a trabalhos de iniciação científica de alguns estudantes. Essa coleção foi avaliada para determinar algumas de suas características.

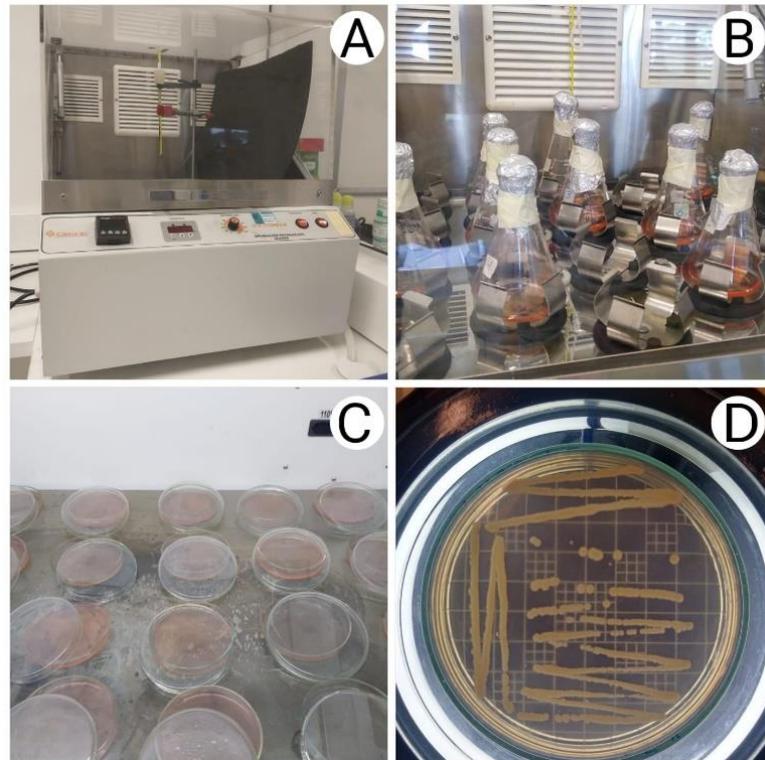
#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS ISOLADOS DE BRACATINGA *in vitro*

##### 3.1.1 Repicagens e Purificação

Inicialmente, como os isolados foram retirados de nódulos de bracatinga e estavam em estoque, o procedimento foi voltado para a caracterização de rizóbios. No qual foi realizado repicagem de dezessete isolados, em meio Yeast Mannitol (YM) líquido (Fred; Waksman, 1928) em erlenmeyers contendo 5 mL das amostras do número um a trinta da coleção. Esses foram levados à incubadora rotativa (Figura 1 A e B) à 27°C e observado o tempo de crescimento, pelo turvamento ou mudança de coloração do meio de cultivo.

Em seguida, foi realizada a repicagem dos isolados em meio (YMA) Yeast Mannitol Agar (Fred; Waksman, 1928) acrescido de Vermelho Congo 2,5% (Figura 1 C), no qual foi feita a identificação das colônias, após, aproximadamente, 48h de crescimento (Figura 1 D). O corante Vermelho Congo possui propriedades fungicidas que são utilizadas para facilitar a distinção entre as possíveis rizóbios e contaminantes (Martins *et al.*, 1997). Os rizóbios são incapazes de absorver o corante aparecendo com uma coloração rosa difusa, brancas, translúcidas, brilhantes e elevadas, com margens inteiras (Grange *et al.*, 2007; Martins *et al.*, 1997).

Figura 1- Repicagem e purificação dos isolados de bracinga. A- Incubadora rotativa (Shaker); B-Frascos contendo meio inoculado com os isolados; C- Meio YMA em placas de Petri para repicagem; D- Isolados purificados em placa.



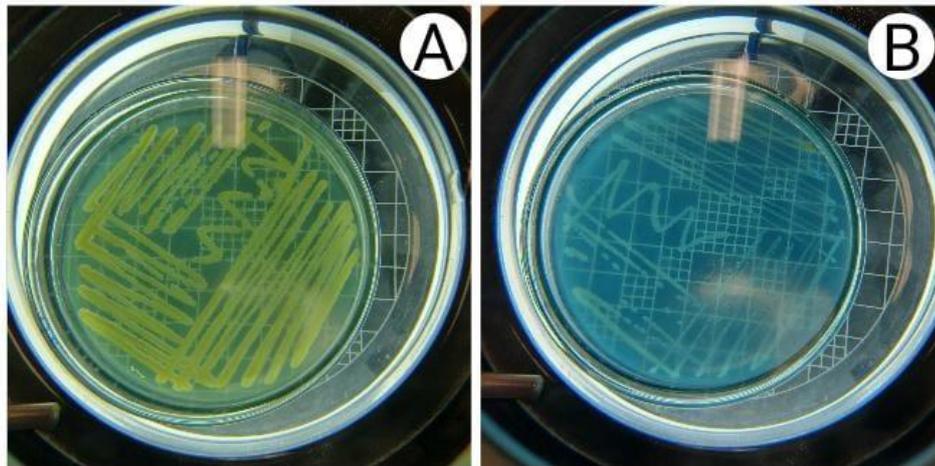
Fonte: Autora, 2024.

### 3.1.2 Caracterização e Análise da Produção de AIA

Os isolados foram caracterizados, quanto ao tempo de crescimento e modificação do pH de meio YMA com azul de bromotimol a 5% (Döbereiner; Andrade; Baldani, 1999), ao formato da colônia (Hungria; Araujo, 1994) e ao teste de Gram (Hucker 1921). Os isolados foram repicados separadamente em placas de YMA Azul de bromotimol. Quanto ao tempo de crescimento, foram considerados de crescimento rápido, aqueles que crescerem em até três dias; crescimento intermediário, os que crescerem entre três a cinco dias; e crescimento lento, aqueles que em tempo superior a cinco dias (Hungria; Araujo, 1994).

Quanto à mudança de pH, os isolados acidulantes foram aqueles que tornaram o meio amarelado e alcalinizantes tornaram o meio azulado (Figura 2). Aqueles que não alteraram o pH, foram considerados neutros (Hungria; Araujo, 1994).

Figura 2- Alteração de pH de meio YMA com azul de bromotimol. A- Bactérias acidulantes; B- Bactérias alcalinizantes.

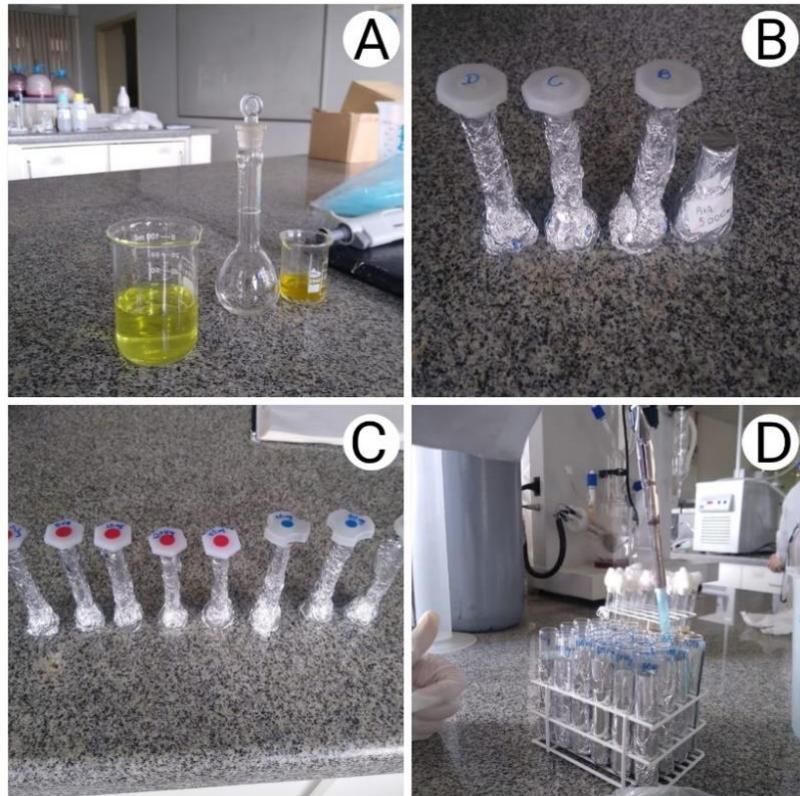


Fonte: Autora, 2024.

A análise de produção de AIA foi feita através das metodologias utilizadas por Marchioro (2005). Os isolados foram levados a crescer em meio LB (Luria Bertani) líquido (Döbereiner; Andrade; Baldani, 1999) por 72h à 27°C. Após este período de crescimento, foram transferidos 10 µL de cada suspensão bacteriana para tubos contendo meio LB com a adição de L-triptofano (0,005g/mL). Os tubos foram mantidos sob à 27 °C durante 72h.

Para a análise qualitativa de produção de AIA, 500 µL de cada suspensão recebeu 500 µL do reagente de Salkowski (0,5 mol/L solução de FeCl<sub>3</sub> em 7,9 mol/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Figura 3 A), que permaneceram no escuro por 30 minutos (Figura 3 D). As amostras que apresentaram coloração rosa, indicaram a produção de AIA (Marchioro, 2005).

Figura 3- Análise de produção de AIA. A- Preparo dos Reagentes; B- Soluções de AIA padrão; C- Pontos da Curva; D- Aplicação do teste de AIA.

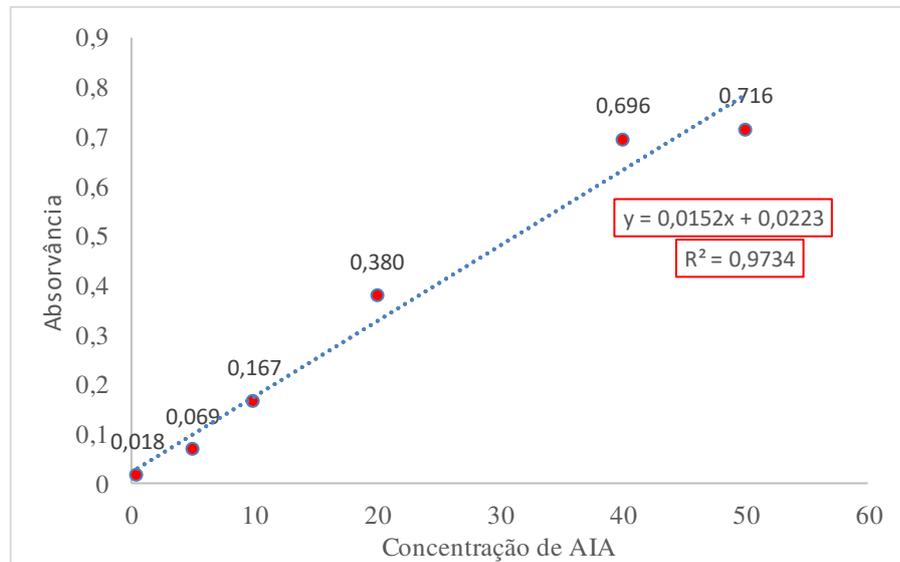


Fonte: Autora, 2024.

Para análise quantitativo de AIA, os isolados que mostraram reação positiva no teste anterior, foram submetidos à espectrofotometria a 540 nm. Foi executada curva padrão (Figura 4), em que se determinou as absorbâncias de soluções conhecidas de AIA (de  $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (Figura 3 B e C) (Marchioro, 2005).

Para a análise de síntese de AIA, o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições por isolado amostrado. Os dados foram submetidos a ANOVA, teste F, em nível de 5% de significância, as médias comparadas por Scott-Knott, em nível de 5%, no *software* RStudio.

Figura 4- Curva padrão de AIA.

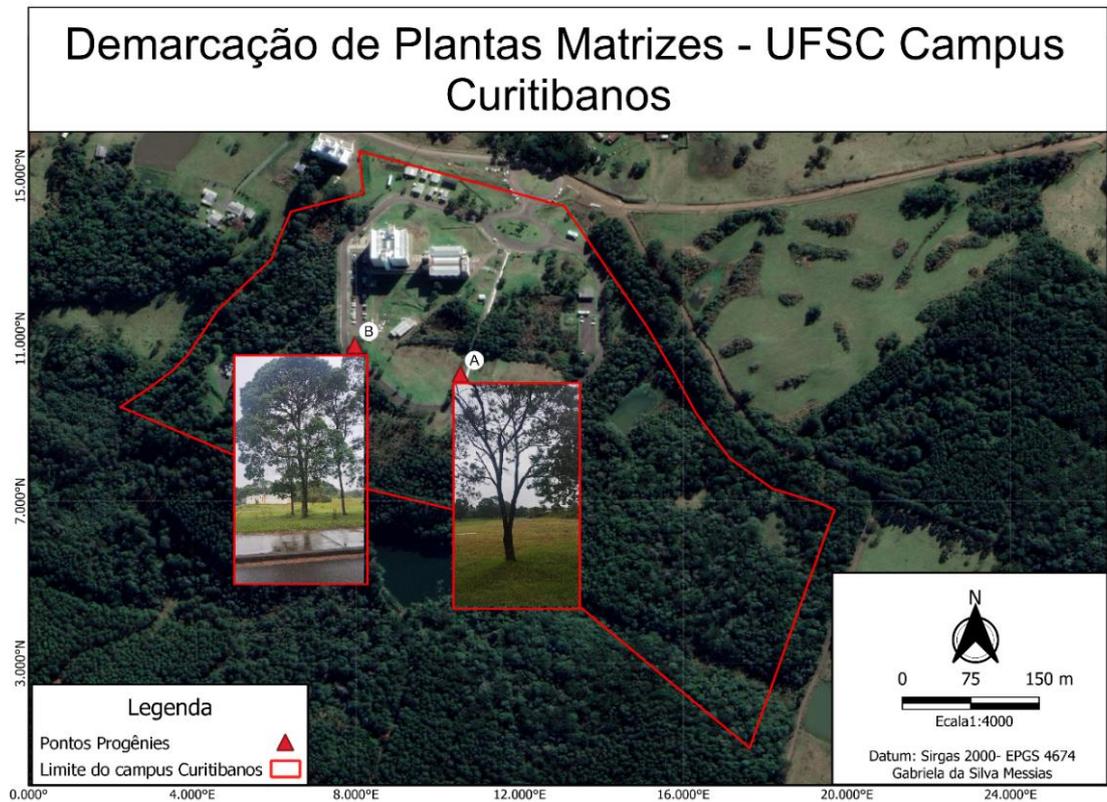


Fonte: Autora, 202

### 3.2 COLETA DAS SEMENTES DE BRACATINGA PARA ANÁLISE DE NODULAÇÃO E ESTÍMULO AO CRESCIMENTO VEGETAL

A coleta das sementes de bracatinga foi feita no *campus* de Curitiba da Universidade Federal de Santa Catarina. Para estas análises foram utilizadas duas plantas matrizes, progênie A e B de bracatinga, observou-se a fitossanidade das árvores selecionadas, se produziram maior número de sementes perante as outras árvores do local, (Figura 5 e Figura 6 A), além de apresentarem distância mínima de 50 metros. A progênie A apresentou maior desenvolvimento em diâmetro, enquanto a progênie B apresentou maior desenvolvimento em altura. Suas sementes foram inoculadas com cada um dos isolados. Para a coleta das sementes foi utilizado podão de dois metros de altura ou serra com cabo extensor (Figura 6 B).

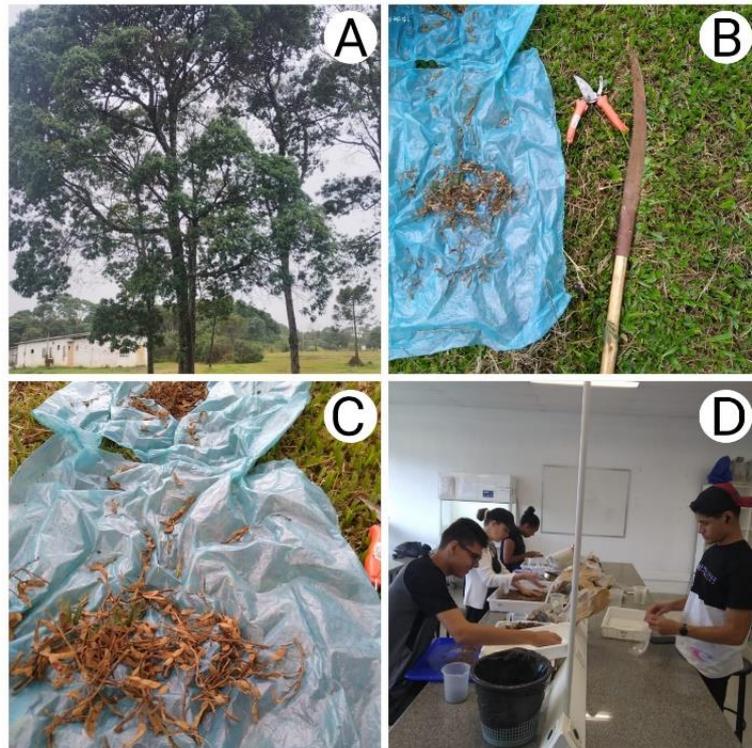
Figura 5- Mapa de localização das árvores matrizes.



Fonte: Autora, 2024.

As sementes foram beneficiadas, separadas e armazenamento em embalagem plástica impermeável (Figura 6 C e D), com teor de umidade de 10% a 11% no ambiente. As sementes se mantêm viáveis por 12 meses com perdas de 12 a 15% de germinação (Carpanezzi *et al.*, 1988).

Figura 6- Beneficiamento das sementes de bracatinga. A- Árvore matriz; B- Matérias de coleta; C- Separação das vagens; D- Retiradas das sementes das vagens.

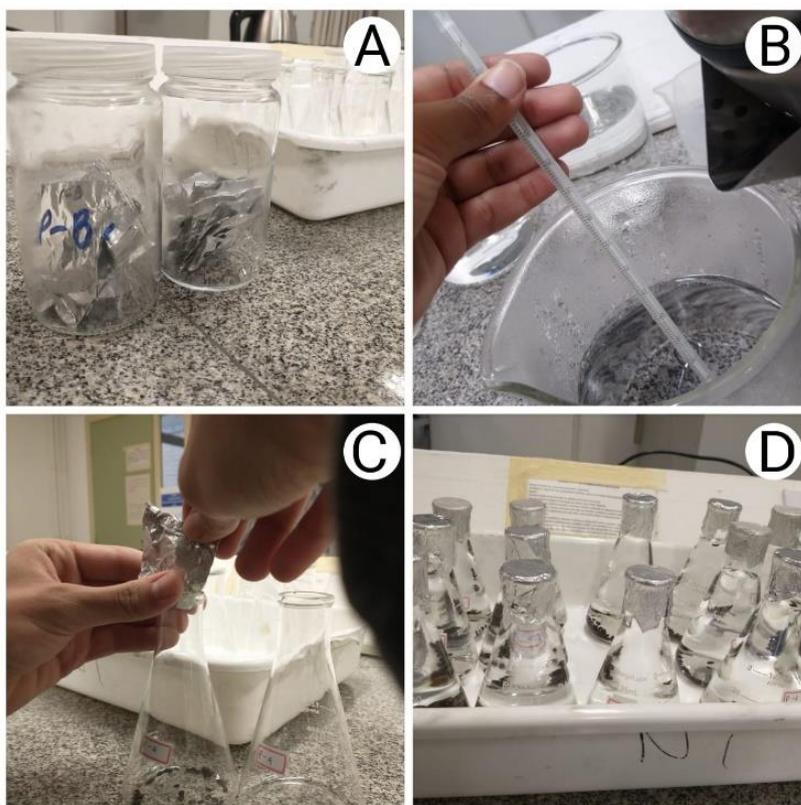


Fonte: Autora. 2024.

### 3.3 SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E DESINFESTAÇÃO DE SEMENTES

As sementes da bracatinga possuem dormência, que consiste em dificuldade para germinar, mesmo em condições ideais de umidade e temperatura, assim como algumas leguminosas (Carpanezi *et al.*, 1988). Para ser realizada a quebra da dormência das sementes foi realizada a separação de 60 sementes por tratamento por progênie (Figura 7 A), sua imersão em água à 80°C e deixados por 24 horas (Figura 7 B, C e D), antes da inoculação e plantio. Posteriormente, foi feita a sua desinfestação, em imersão a álcool 92 GL por 1 minuto com agitação, em 3 minutos no hipoclorito de sódio a 2,5%, e seis a dez lavagens com água destilada esterilizada. As sementes foram colocadas para secar em fluxo laminar para secagem.

Figura 7- Superação de dormência. A- Separação de 60 sementes por tratamento; B: Água a 80°C; C- Separação das sementes em Erlenmeyer para submersão em água; D- Superação de dormência por 24h.



Fonte: Autora, 2024,

### 3.4 SELEÇÃO, PREPARO DOS INÓCULOS DE ISOLADOS E APLICAÇÃO NAS SEMENTES

Foram selecionados de maneira aleatória segundo a produção de AIA seis isolados que produziram AIA (B07, B08, B10, B13, B17, B18), para o preparo do inoculante foram utilizados tubos de ensaios, contendo 5 mL de meio LB líquido, nos quais os seis isolados serão inoculados separadamente. Os frascos foram incubados a 27° C, por 48 h. Depois deste período, em fluxo laminar, foram colocadas 60 sementes por progênie em cada frasco, para a semeadura do experimento, no qual permaneceram por 30 minutos. Em seguida, foi feito o descarte da suspensão e as sementes foram transferidas para placas de Petri, até a secagem. O mesmo procedimento foi repetido para os frascos com meio sem inoculação que foram utilizados como testemunha.

### **3.4.1 Quantificação do número Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos isolados bacterianos**

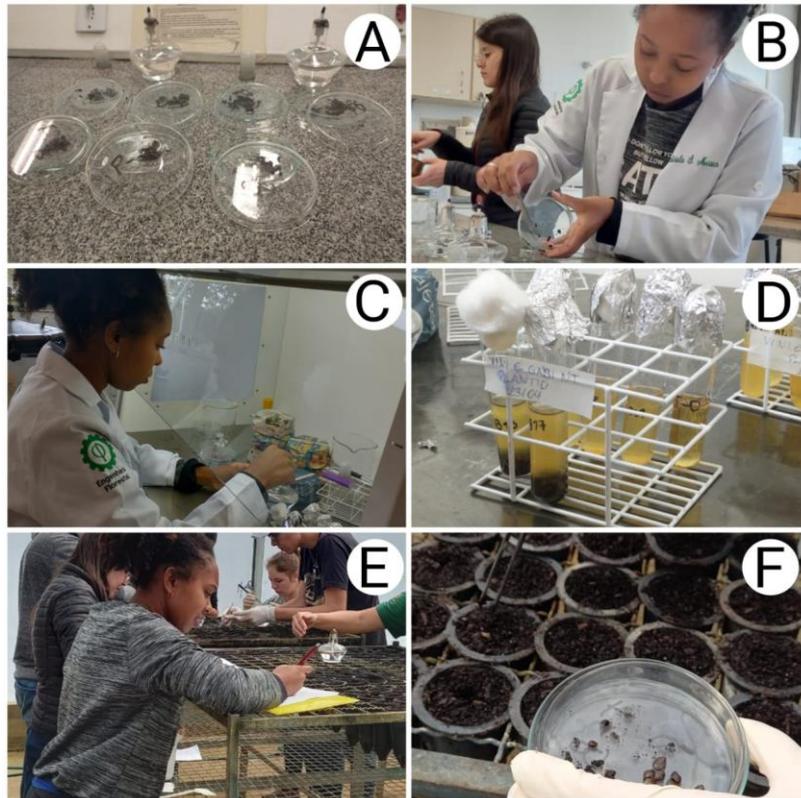
Para a inoculação, foi necessária a quantificação do número de bactérias introduzidas nas sementes de bracatinga, então antes da inoculação das sementes na suspensão bacteriana, foi retirado 1 mL da suspensão para realizar a quantificação das UFC através de diluição seriada, para cada tratamento (isolados B07, B08, B10, B13, B17, B18 e testemunha). A diluição seriada foi realizada em tubos com 9 mL de solução salina 0,9 %, aos quais 1 mL de cada suspensão bacteriana foi acrescentado. A diluição foi realizada até  $10^{-6}$ . Posteriormente foram 100  $\mu$ L das diluições  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  foram adicionados em placas com YMA com vermelho congo (2,5 %) e espalhados com auxílio de alça Drigalski. As placas inoculadas foram incubadas a 27° C, por 48 h. Após este período foi realizada a contagem das (UFC), através da média de três repetições de cada isolado.

### **3.5 AVALIAÇÃO DO ESTÍMULO AO CRESCIMENTO VEGETAL PELOS ISOLADOS**

O experimento foi instalado em casa de vegetação em abril de 2023, em tubetes de 180 cm<sup>3</sup>, previamente, lavados e desinfetados por imersão em solução de hipoclorito (2,5%) e, posteriormente secos. Subsequentemente, esses foram preenchidos com substrato composto de casca de pinus, vermiculita, calcário, supersimples, previamente, lavado, esterilizado e seco (Figura 8).

No dia da semeadura, cada tubete recebeu três sementes referente a um dos tratamentos, conforme descrito no item 3.4. As plantas foram regadas com água destilada esterilizada, de acordo com a necessidade da planta (Figura 8). Quinze dias após a semeadura foi realizado raleio, deixando apenas a plântula mais vigorosa por tubete. Após a queda dos cotilédones, foi aplicada semanalmente a solução nutritiva de Norris (20 mL/planta) esterilizada (Hungria; Araujo, 1994) contendo metade da composição original e sem a adição de N.

Figura 8- Instalação do experimento em casa de vegetação. A- Retirada das sementes do processo de superação de dormência; B- Desinfestação das sementes; C- Inoculação das sementes; D- Sementes submersas em solução de inoculantes; E- Sorteio dos tratamentos e instalação; F- Aplicação de três sementes por tubete.



Fonte: Autora, 2024.

Ao final dos 180 DAS (Dias Após a Semeadura), foram analisadas a presença de nódulos, altura da muda (medida da superfície até a inserção da última folha, com régua milimetrada), diâmetro de colo (medido através de paquímetro), massas verde e seca (após a secagem em estufa de ventilação forçada) de raiz, parte aérea e total (com balança semi-analítica).

Os dados serão submetidos a ANOVA, bifatorial 2 x 7 (progênies e isolados), em nível de 5%, no *software* RStudio, as médias comparadas por Scott-Knott, em nível de 5%.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICAS E PRODUÇÃO DE AIA DE ISOLADOS DE BRACATINGA

#### 4.1.1 Caracterização fenotípica dos isolados de nódulos de bracatinga.

A caracterização fenotípica de bactérias, por meio de análise de colônias e testes fisiológicos não é suficiente para identificá-las, mas pode auxiliar neste processo e no entendimento de seu comportamento para futuras aplicações. Esses microrganismos são uma alternativa promissora e de baixo impacto ambiental para aumentar a eficiência de uso da adubação (Spolaor et al, 2016).

Dezessete isolados bacterianos estocados foram analisados. Esses possuíam formato de colônia circular, de borda lisa, aspecto gomoso, com elevação do tipo cúpula, coloração rosa difusa, opacas de acordo com classificação obtida em Hungria; Araujo (1994) (Tabela 1).

Tabela 1- Caracterização dos isolados de bracatinga.

<b>Isolados</b>	<b>Aspecto da colônia</b>	<b>pH</b>	<b>Tempo de crescimento</b>	<b>Teste Gram</b>	<b>Formato bacteriano</b>
B04	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B05	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B07	Gomoso	Acidificante	48h	Negativa	Bastonete
B08	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B09	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B10	Gomoso	Alcalinizante	48h	Negativa	Bastonete
B11	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B12	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B13	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B14	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B15	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B16	Gomoso	Acidificante	48h	Negativa	Bastonete
B17	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B18	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B19	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B20	Gomoso	Neutra	48h	Negativa	Bastonete
B21	Gomoso	Acidificante	48h	Negativa	Bastonete

De acordo com o teste de Gram, todos os isolados foram classificados como Gram-negativos, com formato celular tipo bastonete. Quanto à taxa de crescimento, os isolados foram considerados de crescimento rápido, desenvolvendo-se em até 48 h (Hungria; Araújo, 1994). Com relação a mudança de pH do meio YMA acrescido de azul de bromotimol, 76,47 % (13)

dos isolados não modificaram o pH, 17,65% (3) foram acidificante e 5,88% (1) foram alcalinizante (Tabela 1). Os isolados capazes de acidificar o meio foram B07, B16 e B21. O isolado B10 foi capaz de tornar o meio básico, sendo o único a apresentar esta característica (Tabela 1).

Pinheiro *et al.* (2023) caracterizaram vinte e três isolados retirados da *Calliandra fasciculata* Benth, uma leguminosa retirada do município de Conceição do Mato Dentro (MG). Os isolados foram avaliados a partir da modificação do pH do meio de cultura, tempo de formação de colônias e características das colônias (coloração das colônias, diâmetro das colônias, borda, forma e elevação). Os resultados encontrados pelos autores são semelhantes aos obtidos neste trabalho, levando-se em consideração características de formato de colônia, produção de muco e taxa de crescimento, que apresentaram formato circular, com muco gomoso e crescimento rápido. Entretanto, diferenciam-se pela coloração e mudança de pH do meio, já que os encontrados pelos autores foram de coloração creme e branca, com mudança de pH em maioria acidificante e no presente estudo, todos os isolados demonstraram coloração rosada e que, em maioria, não modificam o pH.

Já os resultados demonstrados por Ferreira *et al.* (2021), que realizaram a caracterização de isolados obtidos de mistura de solos de diferentes áreas da região de Marabá (PA), corroboraram com os resultados encontrados no presente estudo. Apresentando como características dos isolados colônias circulares, sendo a maioria de elevação plana, com bordas inteiras, de crescimento rápido e em grande parte não alterando o pH do meio, assim como o presente estudo

Ehrhardt-Brocardo (2015) caracterizou bactérias retiradas de nódulos de bracinga, de sete locais distintos das regiões do Vale do Itajaí, Planalto Sul e Meio-Oeste do Estado de Santa Catarina. Os autores apresentaram resultados que diferem dos encontrados no presente trabalhos, pois os isolados analisados eram de elevação do tipo cúpula, opacos e em sua maioria não modificaram o pH do meio.

Segundo as caracterizações descritas por Hungria; Araújo (1994), os isolados obtidos podem pertencer ao grupo rizóbio, pois observou-se reação negativa ao teste de Gram, com formato de células tipo bastonete, formato da colônia cônico e de cúpula, aspecto gomoso e de coloração rosada, sendo esta última característica incomum, mas pode ser observada em alguns componentes deste grupo (Hungria; Araújo, 1994). Entretanto, dentro dos nódulos, pode haver a presença de outras bactérias, além dos rizóbios, que podem ter uma interação positiva com as plantas (Muresu *et al.*, 2019).

#### 4.1.2 Produção de AIA por isolados de bracinga

As auxinas são importantes, pois auxiliam na indução de raízes (Taiz; Zeiger, 2013; Kerbauy, 2012). As RPCP possuem a capacidade de produzir AIA, uma molécula pertencente ao grupo das auxinas (Coatti et al., 2010), sendo este um mecanismo de indução e alongamento de crescimento radicular, aumentando indiferentemente a área de captação de água e nutrientes (Cassel et al, 2021).

A análise de produção de AIA realizada nos isolados demonstrou que todos sintetizaram esta auxina. A análise quantitativa demonstrou que a produção média foi 54,32  $\mu\text{g/mL}$ , não havendo diferença significativa entre os isolados (Tabela 2).

Tabela 2- Produção quantitativa de AIA.

<b>Isolados</b>	<b>AIA (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>
B04	84,21 <sup>a*</sup>
B05	71,89 <sup>a</sup>
B07	48,69 <sup>a</sup>
B08	71,96 <sup>a</sup>
B09	40,79 <sup>a</sup>
B10	169,58 <sup>a</sup>
B11	38,92 <sup>a</sup>
B12	37,52 <sup>a</sup>
B13	66,53 <sup>a</sup>
B14	25,64 <sup>a</sup>
B15	26,93 <sup>a</sup>
B16	36,88 <sup>a</sup>
B17	37,40 <sup>a</sup>
B18	56,30 <sup>a</sup>
B19	42,80 <sup>a</sup>
B20	37,54 <sup>a</sup>
B21	29,90 <sup>a</sup>
<b>Média</b>	<b>54,32</b>
<b>CV%</b>	<b>12,66</b>

\*Valores seguidos de letras iguais não se diferem estatisticamente pelo Teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade de erro.

Observou-se (Tabela 2) que o isolado B10 e B04 apresentaram maior produção de AIA, de 169,58  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 84,21  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. Os menores valores da auxina foram obtidos pelos isolados B14 e B21, com 25,64  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 29,90  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente.

O estudo de Lisot (2017) caracterizou isolados da região de Horizontândia, no município de Curitibaanos (SC). A autora isolou trinta e seis e realizou a caracterização desses isolados e a produção de AIA. Cinquenta por cento dos isolados produziram de AIA, variando entre  $80 \mu\text{g.mL}^{-1}$  a  $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , sendo essas produções superiores as obtidas neste trabalho. Todos os isolados de bracatinga produziram AIA, com variação entre  $25,64 \mu\text{g.mL}^{-1}$  a  $169,58 \mu\text{g.mL}^{-1}$ .

Salienta-se que as auxinas são importantes, pois auxiliam na indução de raízes (Taiz; Zeiger, 2013; Kerbauy, 2012). As RPCP possuem a capacidade de produzir AIA, uma molécula pertencente ao grupo das auxinas (Coatti *et al.*, 2010), sendo este um mecanismo de indução e alongamento de crescimento radicular, aumentando indiferentemente a área de captação de água e nutrientes (Cassel *et al.*, 2021).

Rodrigues (2019) que analisou vinte e sete isolados de *Bacillus* spp., da coleção de rizobactérias da Universidade Federal de Santa Catarina *campus* Curitibaanos, retirados do solo e rizosfera de alho coletados da fazenda Dias, localizada no município de Curitibaanos (SC). Demonstra que todos os isolados caracterizados assim como os isolados do presente estudo são produtores de AIA. Mas apresentam valores de produção inferiores, que variam entre  $3,05 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $34,28 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , e os isolados analisados neste trabalho possuíam capacidade de produção maior, sendo obtidos da mesma região, variando entre  $25,64 \mu\text{g.mL}^{-1}$  a  $169,58 \mu\text{g.mL}^{-1}$ .

Ao comparar os resultados encontrado no presente estudo aos encontrados por Silva (2022), que fez a caracterização de bactérias retiradas de solo rizosférico de *Acacia mearnsii*, de duas áreas de plantio, localizadas nas cidades de Cristal e Jaguarão (RS). Observa-se que apenas 14,84% dos isolados testados pelo autor possuem a capacidade produção de AIA, se diferenciando desse estudo, no qual 100% dos isolados apresentam esta característica. Com relação a produção do fitormonio os resultados demonstrados por Silva (2022) variam entre  $23,3 \mu\text{g.mL}^{-1}$  a  $167,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , sendo semelhante aos encontrados pelos isolados de bracatinga que apresentaram valores entre  $25,64 \mu\text{g.mL}^{-1}$  a  $169,58 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Observou-se semelhança na produção de AIA de isolados retirados da mesma família, já que a *Acacia mearnsii*, também pertence à família *Fabaceae*. Enquanto, para *Bacillus* (Rodrigues, 2019) este valores não passaram de  $34,28 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , indicando uma produção menor.

#### 4.2 ESTÍMULO AO CRESCIMENTO VEGETAL PELOS ISOLADOS DE BRACATINGA

#### 4.2.1 Quantificação de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos isolados bacterianos nos inóculos

Após a caracterização dos isolados, seis isolados bacterianos foram selecionados para as análises *in planta*. Para a inoculação, foi necessária a quantificação do número de bactérias introduzidas nas sementes de bracatinga. A contagem de colônias é um método muito importante, com a finalidade de quantificar e controlar o número de microrganismos inoculados nas plantas, pois em altas concentrações podem competir com as plantas, causando a sua morte ou diminuindo seu desenvolvimento (Acea; Carballas 1990).

A Tabela 3 apresenta os resultados de UFC.mL<sup>-1</sup> de cada isolado testado. Na testemunha, não se detectou presença bacteriana, como o esperado. Para os isolados foram encontrados valores que variavam entre 10<sup>5</sup> a 10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Observou-se ampla variação no número de UFC formada pelos isolados, sendo o isolado B07 aquele que obteve a maior população (1,4x10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>).

Os resultados encontrados estão de acordo com os obtidos em trabalhos anteriores com as coleções do LMPCP (Faquin, 2022; Schwinden, 2021)

Tabela 3- Quantificação UFC.mL<sup>-1</sup> dos isolados.

Isolado	UFC.mL <sup>-1</sup>
Testemunha	-
B07	1,4.10 <sup>9</sup>
B08	6,0.10 <sup>6</sup>
B10	1,72.10 <sup>8</sup>
B13	5,75.10 <sup>5</sup>
B17	5,02.10 <sup>8</sup>
B18	1,81.10 <sup>7</sup>

A contagem de colônias é um método muito importante, com a finalidade de quantificar e controlar o número de microrganismos inoculados nas plantas, pois em altas concentrações podem competir com as plantas, causando a sua morte ou diminuindo seu desenvolvimento (Acea; Carballas 1990).

#### 4.2.2 Análise do estímulo ao crescimento vegetal pelos isolados

##### 4.2.2.1 Análise de nodulação dos isolados

Não foram observados nódulos nas plantas em todos os tratamentos avaliados. Entretanto, não se pode afirmar que os isolados não sejam rizóbios, pois alguns fatores podem limitar a formação de nódulos, como a perda desta capacidade após isolamento e estocagem,

pois os genes da simbiose se encontram em plasmídeos, que podem ser degradados durante estes processo (Santos; Brom; Romero, 1996). Este é um fator que modifica ou limita a capacidade nodulante de rizóbios, como aqueles pertencentes à espécie *Rhizobium leguminosarum* (Santos; Brom; Romero, 1996)

Um dos isolados selecionados apresentou efeito contrário ao esperado, na progênie A. O isolado B07 dizimou 80% das plantas inoculadas. Este fator pode ter ocorrido pela interação microrganismo/planta, que pode ser benéfica ou deletéria como mostra Lopes (2023). O autor ao analisar diferentes cepas bacterianas em *Schizolobium parahyba var. amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby, observou efeito parasitário com relação a uma das cepas estudadas. Nesse mesmo sentido, Silva (2022) expôs que, ao testar bactérias produtoras de AIA, para a promoção de crescimento da *Acacia mearnsii*, houve efeito nocivo dos isolados nas plantas, inibindo seu enraizamento. Isto pode ocorrer porque a quantidade de auxina necessária para o enraizamento, é variável de acordo com a fase organogenética em que a planta se encontra (Kerbaudy, 2019). Entretanto, a quantidade de AIA produzida parece não estar relacionada com a inibição ao crescimento da progênie, visto que os isolados B08, B10, B13 e B18 produziram mais da substância, enquanto o isolado B17 apresentou menor quantidade.

Outro fator que pode interferir no desenvolvimento da planta, é população bacteriana inoculada nas plantas. Como já relatado anteriormente, em elevado número de UFC. mL<sup>-1</sup> de microrganismos pode competir com as plantas por água e nutrientes, causando a sua morte ou diminuindo seu desenvolvimento (Acea; Carballas, 1990).

Tabela 4 - Efeito da inoculação dos isolados, em duas progênies de bracinga.

Tratamento	Altura(cm)		DAC(mm)		MVR(g)		MSR(g)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Testemunha	13,98Ab	16,33Aa	1,40Aa	1,36Aa	4,56Aa	2,96Ba	0,60Aa	0,29Ba
B07	1,54Bd	15,70Aa	0,23Bc	1,56Aa	0,60Bc	2,58Aa	0,07Bc	0,28Aa
B08	7,56Bc	15,51Aa	0,81Bb	1,62Aa	2,39Ab	2,90Aa	0,27Ab	0,30Aa
B10	10,17Bc	15,81Aa	0,96Bb	1,66Aa	2,39Ab	2,92Aa	0,23Ab	0,30Aa
B13	15,03Ab	18,76Aa	1,66Aa	1,42Aa	3,26Aa	2,67Aa	0,34Ab	0,30Aa
B17	20,21Aa	14,17Ba	1,70Aa	1,28Aa	3,73Aa	2,21Ba	0,36Ab	0,25Aa
B18	16,49Ab	16,49Aa	1,65Aa	1,33Aa	4,43Aa	2,82Ba	0,62Aa	0,29Ba
<b>Média</b>	13,95	14,43	1,33	1,36	2,87	2,92	0,33	0,33
<b>CV %</b>	34,84		21,28		31,74		14,14	

Onde: DCA= Diâmetro a altura do colo; MVR- Massa verde de raiz; MSR= Massa seca de raiz. Letras minúsculas iguais não diferem entre si entre isolados. Letras maiúsculas iguais não diferem entre si entre progênies.

#### 4.2.2.2 Análise avaliativa do estímulo em altura

A altura é um importante parâmetro avaliativo para a determinação da qualidade da muda, captação de luminosidade, sendo fundamental para a fotossíntese, desenvolvimento e competição com outras plantas (Rudek; Garcia; Peres, 2013).

Para o estímulo ao crescimento em altura não houve diferença significativa dos isolados em relação à progênie B com a inoculação dos isolados, em que o isolado B13 apresentou o maior valor (Tabela 4). Em contraponto, houve diferença significativa na progênie A com a inoculação dos isolados em que se observou quatro agrupamentos. O primeiro grupo foi formado apenas pelo isolado B17 que apresentou 20,21 cm de altura, diferenciando-se da testemunha. O segundo agrupamento foi formado pela testemunha (13,92 cm), B13 (15,03cm) e o B18 (16,49 cm), o terceiro por B08 (7,79 cm) e B10 (10,17cm), e o quarto agrupamento pelo isolado B07 (1,54cm).

Comparando-se o efeito de cada isolado nas respectivas progênies, observou-se que para progênie B, os isolados B07, B08 e B10 apresentaram diferença estatística em relação à progênie A, sugerindo interação positiva. (Tabela 4). Na literatura, não foram detectados trabalhos semelhantes. Entretanto, o tamanho do inóculo e a produção de AIA parece não ter relevância neste parâmetro. Porém, o tamanho da população de B07 pode estar relacionado com a interação deletéria com a progênie A.

Com relação ao efeito da inoculação de bactérias na altura de plantas, Teixeira (2021) encontrou valores que se diferenciam, parcialmente, do presente trabalho. O autor caracterizou e selecionou bactérias nodulantes retiradas de raízes de *Acacia mangium*, para testar o estímulo ao crescimento vegetal de *Eucalyptus urograndis*. em experimento conduzido no município de Itatinga (SP). O autor relatou que os três isolados selecionados pela produção AIA interagiram com o eucalipto, mas que estatisticamente não foi detectada diferença em relação à altura.

Já Santos (2024) analisou a interação de cepas bacterianas com a aplicação de calagem em solos, seguida de aplicações de fosfato e calagem, para duas espécies arbóreas, *Hevea brasiliensis* e *Bertholletia excelsa*, na região de Humaitá (AM). Os resultados encontrados pelo autor são semelhantes ao encontrado no presente estudo, demonstrando interação positiva entre bactérias e as plantas, aumentando significativamente a altura das plantas.

Lopes (2023) utilizou três cepas de rizobactérias, para verificar o estímulo ao crescimento a *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby. no município de Belém (PA). Demonstrou interação positiva ao estímulo de crescimento em altura assim como os presentes estudo. Mas ao comparar os resultados encontrados pelo autor com o

presente estudo é possível observar que as cepas analisadas demonstram incremento superior em altura, apresentando incremento de aproximadamente 10cm, e no presente estudo observou incremento em altura de 6,23 cm, obtido pelo isolado B17 na progênie A (Tabela 4).

#### 4.2.2.3 *Análise avaliativa do estímulo em diâmetro*

O diâmetro é uma medida física de grande relevância para avaliar o crescimento e desenvolvimento das plantas, pois está relacionada a capacidade de sustentação e transporte de nutrientes (Rudek; Garcia; Peres, 2013).

O parâmetro de diâmetro à altura do colo analisado neste estudo demonstrou que não foi observada diferença significativa em relação a progênie B com a inoculação dos isolados em relação a testemunha (Tabela 4). Porém, observou-se que o isolado B10 apresentou maior valor para este parâmetro 1,62 mm.

Observou-se que em relação a progênie A com os isolados inoculados, houve diferença significativo com a formação de três grupos (Tabela 4). Um desses foi formado pelos isolados B17, B18, B13 e a testemunha, que apresentaram 1,70 mm, 1,65mm, 1,66mm e 1,40mm, respectivamente. Apesar de não haver diferença significativa, observou-se que o isolado B17 incrementou em 21,4% o DAC. O segundo foi formado pelos isolados B10 e B08 e o terceiro pelo isolado B07.

Comparando-se o efeito de cada isolado com as respectivas progênies, observou-se que os isolados B07, B08 e B10 se destacaram quando inoculados na progênie B (Tabela 4)

Santos (2024) demonstrou em seu trabalho, citado anteriormente, o aumento significativo do DAC de *Hevea brasiliensis* e *Bertholletia excelsa* quando inoculado com cepas bacterianas associadas a tratamentos de calagem e adubação. Esses resultados corroboram com os observados no presente trabalho, que também foram positivos para o desenvolvimento em DAC das plantas.

Teixeira (2021) ao comparar o estímulo de crescimento causado por rizobactérias a *Eucalyptus urograndis*, em relação a DAC, observou que não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos e a testemunham. Assim como observado neste estudo o autor observou incremento no DAC nas plantas inoculadas com as rizobactérias, mesmo sem a observação da diferença significativa dos tratamentos.

#### 4.2.2.4 Análise avaliativa do estímulo em massa de raiz

A mensuração de massa de raiz e parte aérea é importante para compreender a formação das mudas florestais de qualidade. Essa está diretamente relacionada com características que definem o nível de eficiência dos experimentos (Gonçalves; Poggiani, 1996; Caldeira; Schumacher; Tedesco, 2000).

Com relação ao parâmetro avaliativo massa de raiz, o MVR e a MSR não demonstraram diferença significativa em relação a progênie B inoculada com os isolados (Tabela 4).

Já a interação entre progênie A e isolados, com relação a MVR e MSR, demonstrou diferença significativa. Para a MVR, houve a formação de três grupos, sendo o primeiro composto pela testemunha (4,56g e 0,60g), o isolado B18 (4,43g e 0,62g), B17 (3,73g e 0,36g) e B13 (3,26g e 0,34). O segundo foi composto pelos isolados B08 e B10 e o terceiro pelo B17. Para MRS, também houve a formação de três agrupamentos, sendo: o primeiro, a testemunha e o isolado B18; o segundo, os isolados B8, B10, B13 e B17 e o terceiro pelo isolado B07.

Com relação ao efeito de cada isolado nas progênies, considerando-se MVR e MSR, observou-se significância para os isolados B17, B18 e testemunha quando inoculadas na progênie A (Tabela 4). O isolado B07 diferiu significativamente quando inoculado na progênie B.

Oliveira *et al* (2021) analisaram estirpes bacterianas para a inoculação de *Mimosa caesalpinifolia* Benth., utilizaram 21 isolados bacterianos, um tratamento com adubação nitrogenada e outro sem adubação, no município de Seropédica (RJ). Os valores de MSR encontrados pelos autores variaram de 58 g para 1943 g, e o presente estudo obteve valores entre 0,25g a 0,62g. Ao comparar estes valores, observa-se que os encontrados pelos autores foram superiores.

Comparando-se os resultados encontrados por Lisot (2017), que estudou bactérias encontradas na mesma região em feijão, a autora observou diferença entre os isolados e a testemunha para a MVR. Porém, para MSR não houve diferença significativa entre os tratamentos com os isolados inoculados. Os resultados de Lisot (2017), assim como os observados no presente demonstraram semelhanças com relação a MVR, mas diferiram em relação ao MSR.

Rodrigues (2016) avaliou microrganismos da Coleção de Micro-organismos de Interesse Agrícola da Embrapa Semiárido (CMISA), no município de Petrolina (PE). O autor inoculou 102 isolados bacterianos (40 isolados de jurema-preta, 44 de angico e 18 de mulungu)

nas três espécies florestais, um controle nitrogenado e uma testemunha. O autor não observou diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha para MSR. A ausência de diferença entre os tratamentos inoculados e a testemunha também foi observada neste trabalho. Isso pode ter acontecido pelo fato do volume do tubete limitar o desenvolvimento radicular (Vargas *et al*, 2011; Teixeira, 2021).

#### 4.2.2.5 Análise avaliativa do estímulo em massa de parte aérea

A massa verde da parte aérea (MVPA) e a massa seca da parte aérea (MSPA) não demonstraram diferença significativa a progênie B com a inoculação dos isolados (Tabela 5).

Tabela 5- Efeito da inoculação de isolados bacterianos de nódulos em duas progênies de bracatinga.

Tratamento	MVPA(g)		MSPA(g)		MVT(g)		MST(g)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Testemunha	0,60Aa	0,52Aa	0,17Aa	0,12Aa	5,17Aa	3,48Ba	0,79Aa	0,42Ba
B07	0,12Bc	0,60Aa	0,03Bc	0,16Aa	0,71Bc	3,18Aa	0,10Bd	0,44Aa
B08	0,33Bb	0,58Aa	0,09Ab	0,14Aa	2,72Ab	3,38Aa	0,37Ac	0,44Aa
B10	0,41Bb	0,75Aa	0,10Bb	0,19Aa	2,80Ab	3,67Aa	0,34Ac	0,49Aa
B13	0,61Aa	0,69Aa	0,16Aa	0,18Aa	3,87Aa	3,67Aa	0,50Ab	0,47Aa
B17	0,76Aa	0,53Aa	0,18Aa	0,13Aa	4,50Aa	2,74Ba	0,54Ab	0,38Aa
B18	0,69Aa	0,48Aa	0,19Aa	0,12Aa	5,13Aa	3,31Ba	0,82Aa	0,41Ba
<b>Média</b>	0,55	0,56	0,14	0,14	3,43	3,48	0,47	0,47
<b>CV %</b>	17,43		7,8		32,02		16,51	

Onde: MVPA= Massa verde de parte aérea; MSPA= Massa seca de parte aérea; MVT= Massa verde total; MST = Massa seca total. Letras minúsculas iguais não diferem entre si entre isolados. Letras maiúsculas iguais não diferem entre si entre progênies.

Já MVPA e MSPA na progênie A inoculada com os isolados demonstraram diferença, agrupando-se em três grupos, sendo o primeiro composto pelos isolados B17 (0,76g e 0,18g), B18 (0,69g e 0,19g), B13 (0,61g e 0,16) e testemunha (0,60g e 0,17g) (Tabela 5). O segundo composto pelos isolados B08 e B10 e o terceiro pelo isolado B07.

Comparando-se efeito de cada isolados nas progênies para MVPA, observou-se que os isolados B07, B08 e B10 foram, significativamente, superiores para a progênie B (Tabela 5). Para MSPA, os isolados B07 e B10 também apresentaram significância na progênie B.

Oliveira *et al.* (2021) estudaram 21 estirpes bacterianas em *Mimosa caesalpinifolia* Benth., para avaliar seu efeito no crescimento da espécie. Os isolados foram obtidos de nódulos da espécie na região de Seropédica (RJ). Os autores demonstraram que houve interação significativa entre a maioria dos isolados e a cultura, mas não houve diferença significativa

entre as estirpes e a testemunha nitrogenada. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos neste trabalho, pois o isolado B18 não se diferenciou da testemunha, mas com valores inferiores aos observados pelos autores (Tabela 5).

Fontes *et al.* (2020) analisaram 56 estirpes retiradas de espécies florestais, como gênero *Inga*, em Seropédica (RJ). Os autores obtiveram valores de MSPA entre 0,48g e 5,13g, sendo o mais alto referente ao tratamento com adubação nitrogenada, seguido daquele com uma estirpe. Os resultados obtidos pelos autores, referente a MSPA, foram superiores aos encontrados neste trabalho, mesmo havendo a utilização de estirpes de diferentes espécies. Isso pode estar relacionado com o tamanho do recipiente utilizado pelos autores, já que com um recipiente de volume maior permite que a planta encontre mais espaço para se desenvolver. Os autores utilizaram vasos do tipo “Leonard” para desenvolver o experimento e no presente trabalho, foram utilizados tubetes.

#### 4.2.2.6 *Análise avaliativa do estímulo em massa total das plantas*

Foram avaliadas a massa verde total (MTV) e seca (MST). Para as MVT e MST não houve diferença significativa quando a progênie B foi inoculada com isolados (Tabela 5). Para a progênie A, observou-se a formação de três grupos para a MVT e quatro grupos para a MST. Para MVT, os grupos formados foram: I- testemunha, isolados B13, B17 e B18; II- isolados B08 e B10; III- isolado B07. Para o MST, os grupos foram I- isolado B18 e testemunha; II- isolados B17 e B13; III- isolados B08 e B10; IV- isolado B07.

Apesar de não diferir estatisticamente da testemunha, para a MST, observou-se que o isolado B18, quando inoculado na progênie A, acumulou mais biomassa (aproximadamente 4% a mais), sugerindo potencial de estímulo ao crescimento das plantas (Tabela 5).

Ao se comparar a ação de cada isolado nas diferentes progênies, observou-se que houve diferença significativa. Para a MVT, o isolado B7 foi mais efetivo na progênie B, enquanto o isolado B17 foi mais eficiente na progênie A (Tabela 5). Houve diferença entre as testemunhas nas duas progênies. Isso pode estar relacionado com a heterogeneidade das amostras de semente de bracatinga que demonstram variabilidade genética entre as progênies, mesmo que sejam da mesma espécie e coletadas na mesma região, pois podem ser de diferentes cruzamentos, oriundos de alogamia ou de fecundação cruzada (Fonseca, 1982).

Fontes *et al* (2020) analisaram 56 estirpes isoladas de nódulos de espécies do gênero *Inga* e de outras espécies florestais. No trabalho, os autores obtiveram valores de massa total de plantas que variaram entre 8,43g a 10,1g, valores superiores ao encontrados nesse estudo

que variaram entre 0,10 g a 0,82g, para a progênie A e de 0,38g a 0,49 g para a progênie B (Tabela 5). Essa variação superior pode estar relacionada com o tamanho do tubete, o desenvolvimento da espécie e com a associação com as bactérias selecionadas pelos autores.

Oliveira *et al* (2021) apresentaram valores de massa seca para a espécies de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. em associação com 21 isolados, de 140g a 4104g, sendo o maior valor obtido no tratamento nitrogenado, seguido da estirpe BR 13975. Os valores apresentados pelos autores descritos foram superiores ao encontrados neste estudo.

A inoculação de plantas com bactérias produtoras de AIA é capaz de estimular o crescimento radicular, modificar a arquitetura das raízes, aumentar a biomassa e consequentemente, aumentar a produtividade (Arkhipova *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2020). Abreu (2021) demonstrou que bactérias com capacidade de sintetizar AIA incrementaram o desenvolvimento da espécie *Hymenaea courbaril*. Entretanto, a interação das bactérias com essa capacidade pode apresentar algumas limitações. Teixeira (2021) mostrou que apesar da inoculação com isolados produtores de AIA, alguns fatores podem limitar o desenvolvimento da planta, como seu crescimento em tubetes. A planta pode ser estimulada a desenvolver raízes, mas devido ao espaço limitado, esse estímulo pode, na verdade, se tornar limitante ao seu crescimento. Observou-se no estudo apresentado por Teixeira (2021), em que o tubete pode ter sido um limitador do desenvolvimento de raízes, já que os isolados inoculados sintetizaram quantidades significativas de AIA, algo que possivelmente tenha ocorrido de maneira semelhante neste estudo. O isolado B17 utilizado no experimento *in planta*, produziu menor quantidade de AIA (Tabela 2) e na progênie A estimulou seu crescimento em altura (Tabela 4), a MRS foi inferior a testemunha (Tabela 4), produzindo menor volume de raízes, suficiente para se desenvolver no tubete, sugerindo a influência desse mecanismo.

Relatos de Silva (2020) demonstraram que ao testar bactérias sintetizadoras de AIA, os resultados encontrados foram contrários aos esperados, pois houve inibição ao enraizamento e crescimento das plantas. Isto pode ocorrer pela quantidade de auxina liberada, já que cada planta possui concentração específica necessária ao seu crescimento. Segundo esse autor, os isolados que mais inibiram as plantas foram aqueles que possuíam capacidade produtora mais elevada. A observação do autor se diferencia deste trabalho, já que o isolado B07 que inibiu o crescimento da progênie A, apresentou uma das menores capacidade produtora entre os isolados testados (Tabela 2).

Diante dos resultados, serão necessários mais estudos sobre promoção de crescimento em bracinga, com estes isolados, para comprovar seu potencial de indução de crescimento e

correlacionando com a produção de AIA ou mecanismos que possam estimulá-lo. A identificação genética dos isolados também é importante.

## 5 CONCLUSÃO

A caracterização fenotípica dos dezessete isolados *in vitro* demonstrou que todas as bactérias apresentaram colônias circulares, de borda lisa, aspecto gomoso, com elevação do tipo cúpula, com colorações rosa difusas, opacas. Todos os isolados eram Gram-negativos e com células de formato tipo bastonete, de crescimento rápido, desenvolvendo-se em 48 h. Não modificaram pH do meio YMA com azul de bromotimol 76,47% do isolado, 17,65% foram acidificante e 5,88% foram alcalinizante. Essas características são descritas para rizóbios.

Os dezessete isolados produziram AIA, em concentrações iguais estatisticamente.

Porém, observou-se que os isolados B10 e B04 apresentaram produção superior, sendo 169,58  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e 84,21  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , respectivamente.

A inoculação dos seis isolados selecionados (B07, B08, B10, B13, B17 e B18) nas duas progênies de bracatinga não apresentou nodulação. Entretanto, seu efeito foi diferente entre essas. Na progênie B, não se observou estímulo ao crescimento com a inoculação. Para a progênie A, a inoculação do isolado B17 estimulou seu crescimento em altura.

Os resultados apresentados sugerem quem os isolados são potenciais promotores de crescimento para a bracatinga, necessitando de mais estudos.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, L. A. *et al.* Initial Development of Hymeneae courbaril (Linnaeus.) (FABACEAE) under inoculation of edophytic bacteria from Bacillus and Herbaspirillum genus. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 12, p. 112954–112965, (2021).  
<https://doi.org/10.34117/bjdv7n12-193>
- ACEA, M. J.; CARBALLAS, T. Principal components analysis of the soil microbial population of humid zone of Galicia (Spain). **Soil Biol. Biochem.**, v. 22, n. 6, p. 749-759, 1990.
- AGRIOS, G. N. How pathogens attack plants. In: AGRIOS, G. N. Plant pathology. San Diego: **Academic Press**. 5 ed., cap. 5, p. 177-205, 2005.
- ALVES; A. C. O.; AGUILA, L. S. H. A importância da fixação biológica para a cultura da soja. In: 6º Semana Integrada UPEL, 2020. **Anais... XXIX Congresso de Iniciação Científica, 2020**, v.1, p. 1-4, 2020.
- ARKHIPOVA, T. N. *et al.* Effect of seed bacterization with plant growth-promoting bacteria on wheat productivity and phosphorus mobility in the rhizosphere. **Plant, Soil and Environment, Prague**, v. 65, n. 6, p. 313–319, 2019.
- ARRUDA, G. O. S. F. BRACATINGA: uma árvore multiuso ao produtor rural. **Jornal Sul Brasil**. 2015. Caderno Rural, 1 p.
- BALBINOT, W. G.; RODRIGUES, S. BOTELHO, G. R. Isolates of Bacillus sp. from garlic: effect on corn development and plant growth-promoting mechanisms. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 44, p. 1-17, 2020.
- BARTOSZECK, A. C. P. S. *et al.* A distribuição diamétrica para bracatingais em diferentes idades, sítios e densidades na região metropolitana de Curitiba. **Floresta**, Curitiba, v. 34, p. 305–323, 2004.
- BATISTA, K. M. **Bracatinga (*Mimosa scabrella*) e seu potencial econômico para a serra catarinense**. Curitiba, 2012. 24 f. Monografia (Especialização) - Curso de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa.
- BOTELHO, G. R. *et al.* Plant growth promoting bacteria from garlic sowed at Curitiba micro-region - Santa Catarina – Brazil. **Ciencia del Suelo**, v. 37, p. 51–65, 2019.
- BOTELHO, G. R.; Brasil, M. Rizobactérias: Uma visão geral da importância para plantas e agrossistemas. **Revista Ambientes em Movimento**, v. 1, n. 3, p. 22-46, 2023.
- BREDA, F. A. F.; ALVES, G. C.; REIS, V. M. Produtividade de milho na presença de doses de N e de inoculação de Herbaspirillum seropedicae. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 1, p. 45–52, 2016.

BREGONCI, I. S. *et al.* Teor foliar de macro e micronutrientes de mudas micropropagadas de abacaxi Gold na fase de aclimação com diferentes níveis de NPK. **Rev. Ciên. Agron**, v. 39, p. 233-239, 2008. Universidade Federal do Ceará.

CALDEIRA, M.V.W.; SCHUMACHER, M.V.; TEDESCO, N. Crescimento de mudas de *Acacia mearnsii* em função de diferentes doses de vermicomposto. **Scientia Forestalis**, n. 57, p. 161-170, 2000.

CARDOSO, E. J. B. N. *et al.* **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: Esalq, 2016.

CARDOSO, E. J. B. N. *et al.* **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. 360 p.

CARPANEZZI, A. A. *et al.* **Manual técnico da bracatinga: (*Mimosa scabrella Benth.*)**. Colombo: Embrapa, 1988. 88 p.

CARVALHO, P. E. R. **Bracatinga**. Colombo-PR: Embrapa Florestas, 2002. 12 p. (59).

CASSEL, J. L. *et al.* Ação da auxina sobre plantas de soja. **Brazilian Journal Of Animal And Environmental Research**, v. 4, n. 3, p. 4628-4643, 15 out. 2021.

CHAPARRO, J. M. **Manipulating the soil microbiome to increase plant health and productivity**. Fort Collins, 2015. 287 f. Tese (Doutorado) - Curso de Philosophy, Department Of Horticulture And Landscape Architecture, Colorado State University.

COATTI, G. C. *et al.* Produção de AIA e Diversidade Fenotípica de Estirpes Elite de Rizóbio Isoladas de Feijoeiro. **Ciência. Biol. Saúde**, v. 12, p. 49-53, 2010.

COELHO, L. G. F. **Inoculação e coinoculação suplementar tardia com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* como estratégias para aumento da nodulação e produtividade do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Brasília, 2021. 92 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Microbiana) — Universidade de Brasília.

DIAS, G. **No Dia da Árvore, conheça a bracatinga**. 2020. Disponível em: <https://www.epagri.sc.gov.br/index.php/2020/09/21/no-dia-da-arvore-conheca-a-bracatinga/>. Acesso em: 14 mar. 2022.

DIAS, G. **Santa Catarina conquista Indicação Geográfica do Mel de Melato da Bracatinga**. 2021. Disponível em: <https://www.agricultura.sc.gov.br/santa-catarina-conquista-indicacao-geografica-do-mel-de-melato-da-bracatinga/>. Acesso em: 04 mar. 2022.

DÖBEREINER, J.; ANDRADE, V. O.; BALDANI, V.; L. D. **Protocolos para Preparo de Meios de Cultura da Embrapa Agrobiologia**. 110. ed. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 39 p.

DUTRA, V. F.; MORIM, M. P. *Mimosa*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim

Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em:  
<http://floradobrasil2015.jbrj.gov.br/FB83459>.

EHRHARDT-BROCARD, N.C.M. et al. Diversidade cultural, morfológica e genética de diazotróficos isolados de nódulos de bracatinga. **Revista Árvore**, v.39, n.5, p.923-933, 2015.

ESCOBAR, N. A. G. *et al.* Sinopse das Caesalpinioideae (Leguminosae) na Serra do Japi, São Paulo, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, p. 751-765, 2014. FapUNIFESP (SciELO).

FABROWSKI, F. J. *et al.* Anatomia comparativa da madeira das variedades populares da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, p. 65-73, 30 2005. Universidade Federal de Santa Maria.

FAQUIN, C. **Controle de *Sclerotium cepivorum* e *Setophoma terrestris* por *Bacillus spp.* na cultura do alho (*Allium sativum* L.)**. Curitiba, 2022, 59 f. TCC- Bacharel em Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina.

FERREIRA, L. V. M.; CARVALHO, A. M.; REIS, A. A. Ocorrência e caracterização de populações de bactérias nodulíferas fixadoras de N<sub>2</sub> oriundas de áreas de assentamento em Marabá, Pará, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 44, n. 1, p. 24-34, 2021.

FERREIRA, P. I. *et al.* *Mimosa scabrella* Benth. as Facilitator of Forest Successional Advance in the South of Brazil. **Floresta e Ambiente**, v. 26, p. 1-11, 2019. FapUNIFESP (SciELO).

FERREIRA, T. C. **Caracterização e seleção de rizóbios noduladores de leguminosas florestais para recuperação de áreas contaminadas por petróleo**. Seropédica, 2007. 45 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia Florestal, Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

FIGUEIRA, T. C. **Bactérias promotoras de crescimento como atenuantes do estresse hídrico no milho**, Rio Verde, 2024, 36 F. TCC- Bacharelado em engenharia agrônoma, instituto federal de educação, ciência e tecnologia goiano.

FIGUEIREDO, P. A. M. Influência da auxina, citocinina e giberelina quando comparadas às formas de uso, seja isolada ou combinadas, e seus efeitos sobre os aspectos morfológicos, fisiológicos, de crescimento e desenvolvimento da cana-de-açúcar cultivada em suas fases iniciais. **Brazilian Journal of Development**, v.10, n.3, p. 1-18, 2024.

FONTES, M. A. *et al.* Seleção de estirpes de rizóbio de alta eficiência na fixação de nitrogênio para *Inga edulis* Mart. em condições estéreis. **Embrapa- Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, v. 103. p. 1-24, 2020.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. **Laboratory manual of general microbiology – with special reference to the microorganisms of the soil**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1928. 145 p.

FRIEDERICH, G. *et al.* Qualidade da madeira e do carvão vegetal de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.). **Revista Ciência da Madeira - RCM**, Lages, v. 6, p. 79–87, 2015.

GERBER, D. *et al.* Mimosa scabrella Benth. planted for forest restoration in southern Brazil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. 1-10, 2021.

GLICK, B. R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, v. 2012, p. 1–15, 2012.

GONÇALVES; J.L.M., POGGIANI; F. Substrato para produção de mudas florestais. *In*: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, Águas de Lindóia, 1996. Sociedade Latino Americana de Ciência do solo, 1996.

GRANGE, L *et al.* New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Brazil. **Soil Biology And Biochemistry**, v. 39, p. 867-876, 2007. Elsevier BV.

GRAY, E.J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and Distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology And Biochemistry**, v. 37, p. 395-412, 2005.

GUERRA, J. G. M. *et al.* **Desempenho de leguminosas tropicais perenes como plantas de cobertura do solo**: Boletim de pesquisa e desenvolvimento. 20. ed. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22 p.

HOEHNE, F.C. **A bracaatinga ou abaracaatinga**. São Paulo: Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de São Paulo, 1930. 47p

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa, 1994. 519 p.

KERBAUY, G. B. Fisiologia vegetal. 3. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2019. v. 1

KHALID, A.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z.A. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, p. 473-480, 2004.

KIRIACHEK, S. G. *et al.* Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 1-16, 2009. FapUNIFESP (SciELO).

KLOEPPER, J.W. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. *In*: Soil Microbial Ecology, Applications in Agricultural and Environmental Management. New York: **Ed. FBJ meeting**, 1993. p. 255-274.

KUMAR, R. R.; JADEJA, V. J. Isolation of Actinomycetes: A complete approach. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 5, p. 606-618, 2016.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. Legumes of the World. **Royal Botanic Gardens**, Kew. 2005.

LEWIS, G.P. **Legumes of Bahia**. The Royal Botanic Garden, Whitstasble. 1987. 369p.

LISOT, J. **Caracterização e seleção de rizóbios isolados do planalto catarinense para inoculação em feijoeiro - comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Curitiba, 2017. 22 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina.

LOPER, J. E.; SCHROTH, M. N. Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. **Phytopatology**, v. 76, p. 386-389, 1986.

LOPES, M. J. S. *et al.* Rizobactérias no crescimento de Paricá. In: Open Science Research XII. **Editora Científica Digital**, v. 12, p. 117-124, 2023.

LOPES, V. G. *et al.* Quantificação de raízes finas em um povoamento de *Pinus taeda* L. e uma área de campo em Cambará do Sul, RS. **Ciência Florestal**, v. 20, p. 569-578, 2010. Universidade Federal de Santa Maria.

LUM, M. R.; HIRSCH, A. M. Roots and their symbiotic microbes: Strategies to obtain nitrogen and phosphorus in a nutrient-limiting environment. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 21, p. 368–382, 2002.

MARCHIORO, L. E. T. **Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio**. Curitiba, 2005. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Setores de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Paraná, Universidade Federal do Paraná.

MARTINS, L. M. V. *et al.* Características relativas ao crescimento em meio de cultura e a morfologia de colônias de "rizóbio". **Comunicado Técnico - Embrapa**, v. 19, p. 1–14, 1997.

MEYER, L. *et al.* Fitossociologia do componente arbóreo/arbustivo da Floresta Ombrófila Densa no Estado de Santa Catarina. **Volume IV - Floresta Ombrófila Densa**, v. 3, p. 157–189, 2013.

MEYER, S. E. *et al.* A large diversity of non-rhizobial endophytes found in legume root nodules in Flanders (Belgium). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 83, p. 1–11, 2015.

MURESU, R. *et al.* Nodule-associated microbiome diversity in wild populations of *Sulla coronaria* reveals clues on the relative importance of culturable rhizobial symbionts and coinfecting endophytes. **Microbiological Research**, v. 221, p. 10–14, 2019.

NEHL, D.B.; BROWN, J.F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. **Applied Soil Ecology**, v. 5, p. 1-20, 1996.

OLIVEIRA JUNIOR, J. Q. *et al.* Recomendação de bactérias para leguminosas florestais. **Embrapa- Comunicado Técnico**, v. 131. p. 1-3. 2010.

OLIVEIRA, A. L. *et al.* Regularização ambiental, novos caminhos para a recuperação de áreas degradadas. **Diversidade e Gestão**, v.1, n. 2, p. 219-233, 2017.

OLIVEIRA, A. L. M. de *et al.* Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a

sustentabilidade da agricultura. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 3, n. 1, p. 56, 2014.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal. **Embrapa- Documentos**, v. 161, p. 1-22, 2003.

OLIVEIRA, I. S. R. *et al.* Estirpes de rizóbio indicadas para a inoculação de *Mimosa caesalpinifolia*. **Embrapa - Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 106, p. 1-24, 2021.

PINHEIRO, A. C. *et al.* Nodulação de leguminosas com potencial de uso na recuperação de áreas degradadas em campo rupestre quartzítico. **Nativa**, v. 11, n. 2, p. 277-282, 2023. DOI: <https://doi.org/10.31413/nativa.v11i2.15346>

RASHID, M. I. *et al.* Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. **Microbiological Research**, v. 183, p. 26–41, 2016.

RODRIGUES, D. R. **Diversidade e eficiência em promoção do crescimento vegetal de bactérias de solos da caatinga pernambucana oriundas de nódulos de leguminosas arbóreas nativas**. Campina Grande, 2016, 79 f. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba.

RODRIGUES, S. ***Bacillus spp.* como promotores de crescimento e no controle de *Sclerotium cepivorum in vitro***. Curitiba, 2019, 44 f. TCC- Bacharel em Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina.

ROMAGNOLI, E. M. *et al.* Rizosfera. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: Esalq, 2016. p. 47-60.

RUDEK, A.; GARCIA, F. A. O.; PERES, F. S. B. Avaliação da qualidade de mudas de eucalipto pela mensuração da área foliar com o uso de imagens digitais. **Enciclopédia biosfera- Centro Científico Conhecer**, v.9, n.17; p. 3775, 2013.

SAMPAIO, F. B. **Isolados de rizóbios capturados por genótipos silvestres de feijoeiro: obtenção, morfologia e uso de fontes de carbono**. Goiânia, 2013. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestre em Agronomia, Universidade Federal de Goiás.

SANTOS, A. G.; BROM, S.; ROMERO, D. Rhizobium plasmids in bacteria-legume interactions. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 2, p. 119-125, 1996.

SANTOS, A. M. S. **Efeitos benéficos de bactérias endofíticas isoladas de nódulos de leguminosas da caatinga no crescimento do milho**. Arapiraca, 2020, 76 f. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente, Universidade Federal de Alagoas.

SANTOS, F. L. *et al.* Inoculation and co-inoculation of growth promoting rhizobacteria in irrigated rice plants. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 14, n. 3, p. 1–5, 2019.

SANTOS, F. L. *et al.* Reduction in nitrogen fertilization in Triticum sp. inoculated and co-inoculated. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 15, n. 2, [art.] e7273, 2020.

SANTOS, R. F. *et al.* Inoculation of *Pinus taeda* Seedlings with Plant Growth-promoting Rhizobacteria. **Floresta e Ambiente**, v. 25, p. 1-7, 2018. FapUNIFESP (SciELO).

SANTOS, S. P. A. **Crescimento e características funcionais de plantas jovens de Hevea brasiliensis (Willd. ex A.Juss. )Müll.Arg.) e Bertholletia excelsa (Bonpl.) submetidas à fertilização fosfatada e a bactérias solubilizadoras de fosfato.** Manaus, 2023 92 f. Dissertação- Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA.

SANTOS, T. A. *et al.* Symbiotic potential of soil microorganisms in promoting the growth of atlantic forest tree species. **Fronteiras**, v.13, n.1, p. 105-129, 2024. DOI <http://dx.doi.org/10.21664/2238-8869.2024v13i1p.105-129>

SANTOYO, G. *et al.* Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92–99, 2016.

SCHWINDEN, T. G. S. **Bactérias endofíticas associadas à micropropagação de Dendrocalamus Asper(Schult F.) Backer Ex Heyne.** Curitiba, 2021, 31 f. TCC- Bacharel em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Catarina.

SILVA, A. P.; DOURADO, M. N. Mecanismos de promoção de crescimento vegetal por bactérias endofíticas. **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 24, n. 1, p. 1-14, 2022.

SILVA, F. B. **Seleção de bactérias do microbioma rizosférico de Acácia Negra, com potencial como promotoras de crescimento vegetal.** Porto Alegre, 2022, 150 f. Dissertação- Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SILVA, L. C. **Isolamento e caracterização de bactérias de nódulos de Mimosa spp. da região sul do Brasil.** Curitiba, 2018. 134 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Ciências (Bioquímica), Universidade Federal do Paraná.

SILVA, M. A. F. *et al.* Mudanças no clima e a distribuição potencial futura de *Mimosa scabrella* Benth. **Revista Acta Ambiental Catarinense**, v. 18, p. 116-128, 2021.

SILVEIRA, A. P. D. *et al.* **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental.** Campinas: Instituto Agronômico, 2007. 317 p.

SIMIONI, F. J.; HOEFLICH, V. A. Cadeia produtiva de energia de biomassa na região do planalto sul de santa catarina: Uma abordagem prospectiva. **Revista Árvore**, v. 34, p. 1091–1099, 2010.

SOARES FILHO, B. *et al.* Cracking Brazil's forest code, **Science**, v. 344, n. 6182, p. 363-364, 2014.

SOTTERO, A. N. **Colonização radicular e promoção de crescimento vegetal por rizobactérias.** Campinas, 2003, 62 f. Dissertação- Mestre em Agricultura Tropical e Subtropical - Área de Concentração em Gestão de Recursos Agroambientais, Instituto Agronômico.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2008. 704 p.

SPOLAOR, L. T. *et al.* Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônômico de milho pipoca. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p.33-40, 2016.

STCP ENGENHARIA DE PROJETOS LTDA. Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. **Estudo de viabilidade de plantio florestal com espécies nativas comerciais no estado de São Paulo**. Curitiba: Sma Unidade de Coordenação do Projeto de Recuperação de Matas Ciliares – UCPRMC, 2011. 294 p.

STEENBOCK, W. **Domesticação de bracatingais: perspectivas de inclusão social e conservação ambiental**. Florianópolis, 2009. 281 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutor em Ciências, Área de Concentração em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina.

STEENBOCK, W. *et al.* Occurrence of bracatinga (*Mimosa Scabrella* Benth.) in bracatinga traditional management system (bracatingais) and secondary forests in Santa Catarina state Plateau. **Revista Árvore**, v. 35, p. 845–857, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal** 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 916 p.

TEIXEIRA, M. F. **Isolamento, caracterização e seleção de bactérias associadas a *Acacia mangium* com potencial para produção de crescimento em mudas de *Eucalyptus urograndis***. Piracicaba, 2021, 80 f. Dissertação – Mestre em Ciências, Universidade de São Paulo.

THE LEGUME PHYLOGENY WORKING GROUP (LPWG). A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. **Taxon**, v. 66 n. 1, p. 44–77, 2017.

VARGAS, F. S. *et al.* Efeitos da mudança de recipiente em viveiro na qualidade de mudas de *Cassia leptophylla* Vogel, *Eugenia involucrata* DC. e de *Cedrella fissilis* Vell. **Revista Acadêmica: Ciência Agrária e Ambiental**, v. 9, n. 2, p. 169-177, 2011.

VARGAS, G. R. **Crescimento, nodulação e nutrição de duas leguminosas arbóreas da mata atlântica, sob influência de calagem e gessagem**. Curitiba, 2013. 47 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestre em Ciência do Solo, Universidade Federal do Paraná.

VARGAS, M. A. T. *et al.* Fixação biológica de nitrogênio em solos de cerrados. Brasília: **Embrapa-CPAC/SPI**, 1994. 74 p.

VIRTUOSO, M. A. *et al.* Móbilis e papel: análise temporal da silvicultura no município de Curitiba - SC. In: INPE Santos, 2017. **Anais... XVIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento**

Remoto -SBSR - 2017, v.1, p. 3910-3917.

WADT, P. G. S. **Práticas de conservação do solo e recuperação de áreas degradadas**. 90. ed. Rio Branco: Embrapa Acre, 2003. 32 p.

WHIPPS, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.

WIBBELT, C. K. **Eficiência na FBN de isolados de rizóbios de solos da região de Curitiba em feijoeiro**. Curitiba, 2019. 36 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina.