

**ISOLAMENTO E INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM MUDAS DE
*EUCALYPTUS UROPHYLLA***

**ISOLATION AND INOCULATION OF RHIZOBACTERIA IN EUCALYPTUS
UROPHYLLA**

Vinícius Alves Rodrigues¹
Rayka Kristian Alves Santos²
Anne Juciely Veira Barbosa³
Danilo Brito Novais⁴
Joilson Silva Ferreira⁵

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi isolar, caracterizar e avaliar o efeito de bactérias promotoras do crescimento vegetal em eucalipto no campus da UESB, Vitória da Conquista-BA. A inoculação e aplicação dessas bactérias isoladas de plantas nativas e adaptadas pode ser a alternativa para obter resultados de produção para outras culturas. As bactérias utilizadas no experimento UESBJMRE e UESBJNRE foram isoladas e caracterizadas do eucalipto, e foram utilizadas como inoculante junto com os demais isolados J11 e N15 (isoladas de plantas de milho), ZAE94, JMBR366 e LGAM82 para avaliar o crescimento inicial das plantas. Os parâmetros avaliados foram altura, diâmetro, número de folhas, índices SPAD, robustez, massa seca de parte aérea e brotação. A inoculação com bactérias foi estatisticamente significativa, contribuindo para o crescimento da planta. As rizobactérias UESBJNRE, UESBJMRE e ZAE94 destacaram-se quanto a promoção do crescimento das plantas.

138

Palavras-chave: Eucalipto. Promoção de crescimento. Isolados bacterianos.

ABSTRACT

The objective of this work was to isolate, characterize and evaluate the effect of plant growth promoting bacteria in eucalyptus on the UESB campus, Vitória da Conquista-BA. Inoculation and application of these bacteria isolated from native and adapted plants may be the alternative to obtain production results for other crops. The bacteria used in the UESBJMRE and UESBJNRE experiments were isolated and characterized from eucalyptus, and were used

¹ Mestrando em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Caixa Postal 95, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil, CEP 45031-900;

² Doutoranda em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, (raykakristian@yahoo.com.br)

³ Engenheira Agrônoma, Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG;

⁴ Doutorando em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.

⁵ Docente do Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, Laboratório de Biotecnologia Florestal, UESB

as an inoculant along with the other isolates J11 and N15 (isolated from maize plants), ZAE94, JMBR366 and LGAM82 to evaluate the initial growth of the plants. The parameters evaluated were: height, diameter, number of leaves, SPAD indices, robustness, shoot dry matter and budding. The inoculation with bacteria was statistically significant, contributing to plant growth. The rhizobacteria UESBJNRE, UESBJMRE and ZAE94 stood out in terms of promoting plant growth.

Keywords: Eucalyptus. Growth promotion. Bacterial isolates.

INTRODUÇÃO

Atualmente o crescimento do setor florestal tem sido expressivo no Brasil, refletindo a proporção de áreas ocupadas com florestas plantadas em 10 milhões de hectares no ano de 2017 (IBGE, 2017), e destes, 75,3% são plantados com espécies do gênero *Eucalyptus*, considerado o gênero mais plantado do mundo (IBGE, 2017).

Todo esse crescimento expressivo e a multiplicidade de usos (NOGUEIRA FILHO et al., 2017) se dá por as espécies do gênero *Eucalyptus* serem caracterizadas pela alta produtividade e adaptabilidade às diversas condições de clima e região (GARAY et al, 2004), e a melhoria do material genético que proporciona um aumento na produção (NOGUEIRA FILHO et al., 2017).

Com a expansão das áreas de reflorestamento e sua exploração, houve aumento dos sintomas de deficiência de macro e micronutrientes (RODRIGUES et al., 2010) pois a maioria dessas florestas são plantadas em solos de baixa fertilidade, o que limita a oferta de nutrientes (LEITE et al., 2011; BARROS; NOVAIS, 1996).

A falta do nitrogênio paralisa gradativamente o crescimento da planta (MARSCHNER, 2012), e o principal efeito negativo da indisponibilidade do N é a diminuição na taxa da fotossíntese (HAY; PORTER, 2006), e conseqüentemente, redução das concentrações de clorofila e enzima rubisco nas folhas (BUNGARD et al., 1997).

Como uma fonte alternativa usual de suprimento do N, os fertilizantes minerais têm provocado aumento crescente nos custos de produção (NOVAIS; MELLO, 2007), pois, quando adubado com fertilizante nitrogenado sintético as plantas conseguem utilizar apenas 50% do que foi aplicado, e a outra metade é perdida via desnitrificação e lixiviação (DOBBELAERE et al., 2002). Nesse contexto surgiu o processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) como uma opção viável por suprir a necessidade nutricional exigida, reduzir o custo de produção e o impacto ambiental provocado pelos fertilizantes artificiais, além de

atuar na produção de reguladores vegetais, solubilizadores de fosfato, ação contra patógenos, reduzir o custo de produção e o impacto ambiental provocado pelos fertilizantes artificiais (MATOSO et al, 2016).

Os microrganismos aplicados na FBN são conhecidos como bactérias diazotróficas, essas estabelecem relações simbióticas e, ou, associativas com diferentes culturas, o que as caracterizam como promotoras de crescimento de plantas, por exemplo, através da biossíntese e fornecimentos de hormônios vegetais como auxinas, giberelinas, citocininas e poliaminas (CARVALHO JÚNIOR et al., 2009).

Estudos sobre a interação de bactérias benéficas em eucalipto é escasso, e por este motivo trabalhos que busquem estudar essa associação e a resposta destes microrganismos no crescimento vegetal é muito importante para esta cultura.

Desta forma, visando avaliar o comportamento do *Eucalyptus urophylla* em função da indução ao crescimento sob a influência das rizobactérias, o objetivo deste trabalho foi isolar, caracterizar e avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento inicial de mudas de eucalipto.

140

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no período de agosto de 2016 a julho de 2017, no Laboratório de Microbiologia do Solo e em área experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, *campus* de Vitória da Conquista. O clima na região é tropical de altitude (Cbw), segundo a classificação de Köppen, as médias de temperatura máxima e mínima são, respectivamente, 25,3 e 16,1°C.

Isolamento e Caracterização em laboratório

Inicialmente em laboratório, foi realizado o isolamento das bactérias das mudas de *Eucalyptus urophylla* clone AEC 144, com idade de 100 dias. As mudas de eucalipto foram desinfestadas superficialmente em água corrente e, em seguida, com água destilada, para eliminação dos resíduos do solo. As plantas foram separadas em raiz e parte aérea. As amostras foram fragmentadas pesando-se 10g. Em seguida, foram trituradas em liquidificador com 90 mL de solução salina, a fim de obter uma solução na concentração 10^{-1} .

Posteriormente, realizaram-se diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-8} , transferindo-se 1 mL da suspensão de cada diluição para tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina, e para cada diluição, alíquotas de 0,1mL foram inoculadas em triplicata, em frascos de vidros de penicilina contendo 5 mL dos meios semissólidos livres de N, JNFb para *Herbaspirillum seropedicae*, NFb para *Azospirillum spp.* JMV para *Burkholderia*, LGI para *A. amazonense*.

Os frascos foram incubados a 30°C por cinco dias, e depois realizada a contagem da população de bactérias diazotróficas pela técnica do Número Mais Provável (NMP), por meio da tabela de McCrady.

Os meios que formaram películas características foram repicados e quando purificado, os isolados foram estocados em meio de cultura batata, adicionando ao meio de cultura óleo mineral estéril, para posterior caracterização morfológica (Tabela 1).

A caracterização morfológica foi realizada após a purificação dos isolados. As colônias foram avaliadas após 7 dias de crescimento em meios sólidos específicos, e a distinção das colônias foi realizada a olho nu e com auxílio de uma lupa. Foram observadas características como tamanho, forma, borda, superfície, elevação, transparência e cromogênese (DÖBEREINER et al., 1995).

141

Experimento em casa de vegetação

O experimento em casa de vegetação foi localizado no campo agropecuário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), *campus* de Vitória da Conquista, foi montado no dia 01 de maio de 2017, e teve a duração de 30 dias.

As mudas de *Eucallyptus urophylla* utilizadas no experimento se originaram do clone AEC 144, com 100 dias de idade, que foram previamente padronizadas antes do plantio apresentando dimensões médias de 25cm de altura, 3 mm de diâmetro do coleto e 3 pares de folhas.

As mudas foram transplantadas em vasos preenchidos com solo representativo do campo agropecuário da UESB, o qual foi previamente adubado, conforme análise química (Tabela 1), a fim de atender às demandas nutricionais tradicionalmente estabelecidas para a cultura do eucalipto (RIBEIRO et al., 1999).

Tabela 1 - Características químicas do solo utilizado como substrato para o transplântio das mudas em vasos.

pH (H ₂ O)	P (Mehlich) mg/dm ³	Cmol _c /dm ³ de solo								%	
		K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺	SB	t	T	V	m
5,6	3	0,22	2,5	0,7	0,1	1,9	3,4	3,5	5,4	63	3

As estirpes bacterianas utilizadas no experimento foram a J11 e N15 isoladas de milho na UESB e a UESBJMRE e UESBJNRE de eucalipto, ambas na UESB. As bactérias ZAE94 (BR 11417) de *H. seropedicae*, JMBR366 e LGAM82 são provenientes do laboratório de gramíneas da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica – RJ.

O inoculante foi preparado em meio de cultura Dygs líquido para crescimento das estirpes. Cinco dias após o plantio houve a inoculação com 3mL de inoculante líquido no colo de cada planta.

Foi utilizado junto com as estirpes bacterianas, um controle sem inoculação.

142

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado (DIC), com 8 tratamentos e 4 repetições, totalizando 32 parcelas.

Ao fim do experimento as avaliações realizadas foram:

- Altura, com auxílio de régua graduada;
- Diâmetro, com uso de paquímetro digital;
- Índice SPAD, utilizando-se clorofilômetro marca Minolta, modelo SPAD/502, em quatro folhas completamente expandidas e fisiologicamente maduras, para cada planta, considerou-se o índice SPAD como resultante da média aritmética dessas quatro folhas;
- Robustez, índice de altura dividido por diâmetro das plantas;
- Massa seca de parte aérea, para esta avaliação, a parte aérea, foi acondicionada em embalagens de papel, submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 65 °C, durante 72 horas, em seguida, foram verificados os pesos da massa seca utilizando-se de balança de precisão 0,001 mg;
- Número de folhas, realizado pela contagem do número total de folhas de cada planta;
- Brotações, contagem do número total de brotações de cada planta.

Os resultados obtidos das avaliações foram submetidos às análises de homogeneidade (Teste de Bartlett) e normalidade (Teste de Lilliefors) das variâncias, conforme recomendação

de Banzatto e Kronka (2006). Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo Teste Scott Knott a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização realizada identificou para as bactérias isoladas de raiz de eucalipto UESBJNRE e UESBJMRE, um crescimento de colônias em placa de $7,66 \times 10^8$ e 5×10^8 u.f.c, respectivamente. Após a caracterização morfológica, caracterizou-se os isolados como análogos a bactérias dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia*, respectivamente.

Tabela 2 - Caracterização morfológica das rizobactérias

Características	UESBJMRE	UESBJNRE
Tamanho da colônia	Grande	Pequeno
Forma	Circular	Circular
Cor da colônia e centro	Laranja	Translúcido com centro azul escuro
Elevação	Plana	Plana
Borda	Inteira	Inteira
Superfície	Lisa	Lisa
Detalhe óptico	Brilhante	Transparente
Configuração	Granular	Granular
Odor	Presente	Ausente

143

A tabela de resumo da análise de variância apresenta diferença significativa para o uso dos isolados bacterianos e o controle sem inoculação para todas as características avaliadas (TABELA 3).

Tabela 3 - Resumo da análise de variância e coeficientes de variação (CV), em relação à altura (ALT), diâmetro (DIAM), índice Spad (SPAD), número de folhas (NF), número de brotações (BROT), índice de robustez (ROBT), massa seca de parte aérea (MPA), em plantas de *Eucalyptus urophylla* clone AEC144 inoculados com rizobactérias.

FV	GL	Quadrados Médios						
		ALT	DIAM	SPAD	NF	BROT	ROBT	MPA
Tratamentos	7	42,7857*	0,308*	10,5835*	45,3392*	5,4241*	2,3352*	3,9537*
Resíduo	24	1,5	0,0548	4,0347	3,1041	1,5312	0,3175	0,7489
CV (%)	2	3,49	5,47	4,03	13,49	25,22	6,84	8,69

* Significativo ($p \leq 0,05$) pela análise de variância.

A altura das plantas de eucalipto foi influenciada pela inoculação com os isolados LGAM82, JMBR366, N15, e o isolado nativo UESBJMRE, sendo que o isolado nativo (39,00 cm) apresentou um incremento de 31,09% superior ao controle (29,75cm) (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores médios de altura (ALT), diâmetro (DIAM), índice spad (SPAD), robustez (ROBT), massa seca de parte aérea (MPA), número de folhas (NF) e brotação (BROT) de plantas de eucalipto inoculadas com rizobactérias.

TRAT	ALT	DIA	SPAD	ROBT	MPA	NF	BROT
ZAE94	31,75C	4,32A	50,75A	7,34B	10,76A	17,25A	6,25A
LGAM82	37,00A	4,52A	52,32A	8,18B	10,52A	13,25C	5,00A
N15	37,75A	4,15B	48,67B	9,08A	10,10A	11,25C	5,50A
J11	35,50B	4,62A	49,47B	7,63B	10,77A	11,00C	4,25B
JMBR366	37,25A	4,45A	50,70A	8,42B	9,42A	8,25D	3,75B
UESBJNRE	33,00C	4,27A	47,77B	7,74B	10,51A	17,75A	5,25A
UESBJMRE	39,00A	4,08B	48,07B	9,58A	9,77A	15,00B	6,25A
CONTROLE	29,75D	3,77C	51,32A	7,88B	7,80B	10,75C	3,00B

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste estatístico Scott Knott a 5% de probabilidade. /

*Resultado médio de 4 repetições.

144

Bactérias que promovem o crescimento vegetal atuam com a produção de hormônios como auxinas e giberelinas, o que possivelmente aconteceu neste resultado, visto que as auxinas excretadas pelas bactérias têm ação de alongamento do tecido promovendo assim o crescimento em altura.

Corroborando com os resultados obtidos, Puente et al. (2010), obtiveram 86% de incremento de parte aérea com a inoculação de *Azospirillum brasilense* em *E. globulus*, e Angulo et al., (2014) em *E. nitens* o incremento foi de 25 a 50% em parte aérea com o uso de isolados de rizosfera.

Verificou-se os maiores diâmetros com a inoculação das estirpes ZAE94, UESBJNRE, J11, LGAM82 e JMBR366. Os incrementos variaram de 13,26% à 22,54% em relação ao tratamento sem inoculação (3,77 cm) (Tabela 4). O aumento do diâmetro após inoculação de rizobactérias também foi observado em mudas de *Swartzia argentea* e *S. laevi-carpa* (SOUZA et al., 2011) espécies de leguminosas arbóreas, respaldando os resultados encontrados para eucalipto neste trabalho.

Os valores obtidos em diâmetro podem ser influência da ação das giberelinas produzidas pelas rizobactérias, visto que estas promovem o crescimento, multiplicação e alongamento das células o que resulta em resposta em diâmetro.

A massa seca de parte aérea, não diferiu os isolados bacterianos, entretanto todos foram superiores ao controle sem inoculação, e o isolado J11 promoveu um incremento de 38,04% e o ZAE94 um valor de 37,94%, superiores ao controle (Tabela 4). Valores de massa seca estão associados a expansão de tecido, podendo inferir sua relação com a aquisição de nutrientes pelas rizobacterias principalmente a aquisição do nitrogênio.

Brunetta et al., (2010) também constataram o aumento de massa seca com uso de rizobacterias em *Pinus taeda*.

Para avaliação do crescimento pós-plantio em campo, a robustez é um parâmetro morfológico empregado, e consiste no valor obtido pela relação entre a altura da parte aérea e o diâmetro do coleto (CARNEIRO, 1995). Para este parâmetro os isolados N15 e UESBJMRE foram significativos e apresentaram incrementos de 15,22% e 21,57% em relação ao controle, respectivamente (Tabela 4).

O índice de robustez indica a capacidade das plantas tolerarem o estresse do campo, principalmente devido sua estabilidade no crescimento tendo assim um parâmetro entre altura e diâmetro que não deve ser muito desproporcional, pois a medida que a planta cresce em altura ela deve ter um tronco capaz de dar sustentação a este crescimento, desta forma a produção de hormônios pelas rizobactérias pode estruturar de melhor forma esta planta, com o equilíbrio de auxina e giberelina produzido.

Para Argenta et al. (2001), o índice SPAD permite obter-se medidas dos teores de clorofila na folha, e valores baixos ou inexistentes aponta a sua diminuição devido ao efeito de diluição do N na planta que indica o crescimento da muda, mas sem acúmulo do nutriente (MAIA et al., 2008). Os isolados ZAE94, LGAM82, JMBR366 e o controle sem inoculação apresentaram os maiores resultados para esta característica.

A taxa das brotações na fase inicial é considerada para comparação e análise do crescimento de mudas (REIS; REIS, 1997). O incremento de 108,33% em brotações foi fornecido pela ação das bactérias ZAE94 e UESBJMRE (6,25), em relação ao controle (3) (Tabela 4).

A avaliação de brotações laterais no tronco mensura a capacidade de produção e multiplicação de novos tecidos, resposta excelente obtida pelos isolados citados, e no caso do isolado nativo UESBJMRE demonstra sua superioridade em colonizar mais efetivamente o

solo, visto que está mais adaptado a espécie e região local, podendo assim proporcionar os benefícios do crescimento vegetal com sua associação.

A avaliação do número de folhas proporcional valores superiores de 65,11% (17,75) e 60,46% (17,25) para os isolados UESBJNRE e ZAE94, respectivamente (Tabela 4). Este caractere está relacionado com o suprimento de N (Gondim et al., 2010), visto que a aquisição do nitrogênio proporciona a produção de RNA e DNA, que por consequência promovem a produção de novos tecidos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A tabela 5, apresenta os coeficientes de correlação das características, observamos uma correlação positiva entre as variáveis de número de folhas com brotações e massa seca de parte aérea, e a variável altura se correlaciona positivamente com o índice de robustez, estas correlações mostram a importância da inoculação com as rizobactérias, já que todas estas características estão relacionadas positivamente também com a aplicação de nitrogênio, neste caso a ação destas bactérias e a aquisição de nutrientes e hormônios promovem um melhor desenvolvimento da planta e crescimento inicial, visto que uma característica impulsiona a outra.

Correlação negativa foi apresentada pelo diâmetro e o índice de robustez (Tabela 5), facilmente explicado já que o índice é a razão entre altura/diâmetro, neste caso a altura irá influenciar mais positivamente nesta variável, visto que se a planta apresentar um grande diâmetro e menor altura ela tende ao tombamento em campo.

146

Tabela 5 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os caracteres de altura (ALT), diâmetro (DIA), índice spad (SPAD), número de folhas (NUMF), brotações (BROT), massa seca de parte aérea (MASSAPA) e robustez (ROBT) de plantas de eucalipto submetidas a inoculação com rizobactérias.

	ALT	DIA	SPAD	NUMF	BROT	MASSAPA	ROBT
ALT	1	0,2584 ^{ns}	-0,038 ^{ns}	-0,2433 ^{ns}	0,2044 ^{ns}	0,3515 ^{ns}	0,71534*
DIA		1	0,0474 ^{ns}	-0,0608 ^{ns}	-0,0028 ^{ns}	0,489675*	-0,487437*
SPAD			1	-0,2393 ^{ns}	-0,1856 ^{ns}	-0,0659 ^{ns}	-0,08137 ^{ns}
NUMF				1	0,6147*	0,36729*	-0,1635 ^{ns}
BROT					1	0,2725 ^{ns}	0,20007 ^{ns}
MASSAPA						1	-0,03919 ^{ns}
ROBT							1

* $p \leq 0,05$

^{ns} não significativo

O principal benefício da interação planta-organismo é o melhor estabelecimento inicial e crescimento das plantas no viveiro e conseqüentemente no campo, possibilita que as plantas

continuem a se desenvolver de forma satisfatória quando transplantadas para locais ou regiões desfavoráveis (Souza et al., 2017), essa associação poderá induzir ao desenvolvimento de estruturas eficientes que garanta sua sobrevivência e crescimento (Ferreira, 2007), e aumento da taxa de sobrevivência das plantas, bem como a redução de doenças nos primeiros anos, por meio da melhoria da qualidade do sistema radicular (Mafia et al., 2005).

Podemos observar com os resultados deste trabalho que o uso de rizobactérias na cultura do eucalipto é bastante promissor, por ser uma cultura de desenvolvimento inicial acelerado estas bactérias favorecem o crescimento devido suas inúmeras ações ligadas diretas ou indiretamente à promoção de crescimento vegetal, desta forma a utilização destas bactérias deve ser cada vez mais difundida a fim de gerar tecnologia econômica e sustentável ao ambiente.

CONCLUSÕES

Conclui-se com este trabalho que os isolados UESBJMRE, UESBJNRE (isolados e caracterizados de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC144), e o isolado ZAE94 proporcionam com sua inoculação os melhores resultados para o crescimento inicial de plantas de eucalipto em casa de vegetação.

AGRADECIMENTOS: À UESB pelo apoio concedido.

REFERÊNCIAS

- ÂNGULO, V. C. E. A.; SANFUENTES, F. RODRÍGUEZ, y K.E. Sossa.. Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. **Revista Argentina de Microbiología**, [s.l.], v. 46, p. 338-347, 2014.
- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BARTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.
- BARROS, N. F., NOVAIS, R. F. *Eucalyptus nutrition and fertilizer regimes in Brazil*. In: Attiwill PM, Adams MA, editors. Nutrition of Eucalyptus. Austrália: CSIRO; 1996. p.335-55.

BRUNETTA, J. M. F. C.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; GOMES, J. M.; BINOTI, D. B.; FONSECA, N. A. N. Isolamento de rizobactérias promotoras do crescimento de *Pinus taeda*. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.34, n.3, p.399-406, 2010.

BUNGARD, R. A., MCNEIL, D., MORTON, J. D. Effects of nitrogen on the photosynthetic apparatus of *Clematis vitalba* growth at several irradiances. **Functional plant biology**, [s.l.], v. 24, n. 2, p. 205-14, 1997.

CARNEIRO, J. G. A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995.

CARVALHO JÚNIOR, W. G. O. C.; MELO, M. T. P.; MARTINS, E. R. Comprimento da estaca no desenvolvimento de mudas de alecrim-pimenta. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2009.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: Embrapa, 1995.

DOBBELAERE, S., CROONENBORGH, A., THYS, A., PTACEK, D., OKON, Y., VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, [s.l.], v. 36, p. 284–297, 2002.

FERREIRA, R. S. **Tolerância de espécies florestais arbóreas e fungos ectomicorrízicos ao cobre**. 2007. 135 f. Tese (Doutorado em Ciência do solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

148

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l.], v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GARAY, I.; PELLENS, R.; KINDEL, A.; BARROS, E.; FRANCO, A. Evaluation of soil conditions in fast-growing plantations of *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium* in Brazil: a contribution to the study of sustainable land use. **Applied Soil Economy**, Amsterdam, v. 27, n. 2, p. 177-187, 2004.

HAY, R. K. M., PORTER, J. R. **The physiology of crop yield**. 2nd.ed. Oxford: Blackwell, 2006.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística, 2016. **Pevs**: produção da silvicultura e da extração vegetal alcança R\$ 18,5 bilhões [online]. Rio de Janeiro, 2017.

LEITE, F. P., SILVA, I. R., NOVAIS, R. F., BARROS, N. F., NEVES, J. C. L., VILLANI, E. M. A. Nutrient relations during an *Eucalyptus* cycle at different population densities. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], 35, 949-59, 2011.

MAIA, S. M. F.; XAVIER, F. A. S.; OLIVEIRA, T. S.; MENDONÇA, E. S.; ARAÚJO FILHO, J. A. Frações de nitrogênio em luvisolo sob sistemas agroflorestais e convencional no semi-árido cearense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v. 32, p. 381-392, 2008.

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

MARSCHNER, P. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 2012.

MATOSO, E. S.; MARCO, E.; BELLÉ, C.; RODRIGUES, T. A.; ANJOS e SILVA, S. D. Desenvolvimento inicial de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas. **Revista Jornal Pós-Graduação e Pesquisa**. Congrega, URCAMP, 2016.

NOGUEIRA FILHO, F. P.; BAJAY, M. M.; SOUSA, J. A.; ARAÚJO, J. D. M.; CORREIA, D. Viabilidade econômica da produção de eucalipto no polo moveleiro de Marco-Ceará. **Revista iPecege**, [s.l.], v. 3, n. 4, p. 22-34, 2017.

PUENTE M. L.; GARCÍA J. E.; PATHAUER, P.; PERTICARI, A. Inoculation with *Azospirillum brasilense* is a useful tool in *Eucalyptus globulus* management. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, [s.l.], v. 8, p. 124-30, 2010.

REIS, G. G. ; REIS, M. G. F. Fisiologia da brotação de eucalipto com ênfase nas suas relações hídricas. **Série Técnica IPEF**, [s.l.], v. 11, n. 30, p. 9-22, 1997.

RODRIGUES, F. A. V. et al., Disponibilidade de cobre para mudas de eucalipto em solos de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v. 34, p. 1923-1932, 2010.

149

SOUZA L. A. G. et al., Inoculação com rizóbios em mudas de acapu do igapó e saboarana. **Revista de Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 54, n. 1, p. 52-60, 2011.

SOUZA, E. L. et al. Fungos ectomicorrízicos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden em neossolos quartzênico. **Ciência Florestal**, [s.l.], v. 27, n. 2, p. 471-484, 2017

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. São Paulo, Artmed, 2013. 954 p.