

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS - CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS NATURAIS E SOCIAIS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

Yanka Rocha Kondo

EFEITOS DA INOCULAÇÃO COM *Bacillus subtilis* E *Bacillus amyloliquefaciens* E DIFERENTES GERAÇÕES DE SEMENTES NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Pinus taeda* L.

Curitibanos
2019

Yanka Rocha Kondo

EFEITOS DA INOCULAÇÃO COM *Bacillus subtilis* E *Bacillus amyloliquefaciens* E DIFERENTES GERAÇÕES DE SEMENTES NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Pinus taeda* L.

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sonia Purin da Cruz

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Carolina da Costa Lara Fioreze

Curitibanos

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Kondo, Yanka Rocha

EFEITOS DA INOCULAÇÃO COM *Bacillus subtilis* E *Bacillus amyloliquefaciens* E DIFERENTES GERAÇÕES DE SEMENTES NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Pinus taeda* L. / Yanka Rocha Kondo ; orientadora, Sonia Purin da Cruz, coorientadora, Ana Carolina da Costa Lara Fioreze, 2019.

51 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Engenharia Florestal,
Curitibanos, 2019.

Inclui referências.

1. Engenharia Florestal. 2. Rizobactérias Promotoras de Crescimento em Plantas. 3. Silvicultura. 4. Melhoramento florestal. I. Cruz, Sonia Purin da. II. Fioreze, Ana Carolina da Costa Lara. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia Florestal. IV. Título.

Yanka Rocha Kondo

EFETOS DA INOCULAÇÃO COM *Bacillus subtilis* E *Bacillus amyloliquefaciens* E DIFERENTES GERAÇÕES DE SEMENTES NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Pinus taeda* L.

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para a obtenção do Título de "Bacharel em Engenharia Florestal" e aprovado em sua forma final pela Banca Examinadora

Curitiba, 21 de outubro de 2019.



Prof. Marcelo Callegari Scipioni, Dr.

Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Prof.ª Sonia Purin Da Cruz, Dra.

Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.ª Ana Carolina Costa Lara Fiozeze, Dra.

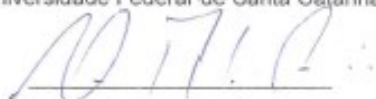
Coorientadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.ª Adriana Terumi Itako, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina



Sr. Alair Paulo Primon, Gestor Ambiental

Viveiro Primon Mudanças Florestais

Dedico este trabalho à minha avó, Atanazia Sampaio (*in memoriam*).

Sei que aí de cima você deve estar muito feliz.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, Milton e Adelita, por todo o apoio para que eu conseguisse chegar até aqui. Sem vocês nada seria possível.

À minha irmã, Éryka, que, apesar de estar longe fisicamente, sempre permaneceu no meu coração.

Ao meu avô, Alcides, por sempre acreditar que através dos estudos conseguimos ganhar o mundo ser o meu maior incentivador. O senhor é o meu maior exemplo de vida.

Aos meus amigos de coração e alma, Amanda, Gustavo e Andriele. Obrigada por todo o apoio e palavras amigas em todos os momentos. A vida é mais colorida, divertida e fácil de ser vivida com vocês.

Aos meus companheiros de pesquisa, Rafael e Natalia, que me auxiliaram na execução desse trabalho. Obrigada pelos momentos engraçados juntos.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Sonia Purin da Cruz, por todos os ensinamentos adquiridos. Além de excelente profissional, é uma pessoa incrível com uma energia única. Tenho muito orgulho de poder ter sido sua aluna e orientada.

À minha coorientadora, Prof.^a Dr.^a Ana Carolina da Costa Lara Fioreze, que me inspirou e inspira com a área de melhoramento genético. Obrigada pela paciência e auxílio para o desenvolvimento deste trabalho. Pessoa de grande coração que nasceu para lecionar.

À Prof.^a Dr.^a Adriana Terumi Itako, que, além de minha eterna tutora do Programa de Educação Tutorial – PET Ciências Rurais, é uma amiga que eu espero ter para o resto da vida e minha mãe de coração.

À empresa Total Biotecnologia que forneceu os inoculantes para a realização do trabalho.

À toda equipe do viveiro Primon Mudas Florestais e ao Alair, por toda a paciência ao longo desse percurso.

À Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos e todos que, de alguma forma, me auxiliaram nessa jornada.

Obrigada!

“Nunca se esqueça de quem você é, porque é certo que o mundo não se esquecerá. Faça disso a sua força, assim, não poderá ser nunca a sua fraqueza. Arme-se com esta lembrança e ela nunca poderá ser usada para lhe magoar.”

Tyrion Lannister

RESUMO

As indústrias florestais brasileiras geram um produto interno bruto de R\$ 69 bilhões, equivalente a 6,2% do total do país. Dentro do setor florestal, as espécies de *Pinus* são as mais destinadas a reflorestamentos e, no Sul do Brasil, a espécie mais plantada é o *Pinus taeda*. Para garantir o sucesso no plantio, a qualidade das mudas é extremamente relevante. Dessa maneira, este trabalho objetivou avaliar a interação de rizobactérias do gênero *Bacillus* e sementes melhoradas geneticamente oriundas de pomares de 1,5 e 2ª gerações de *P. taeda*. A inoculação foi avaliada em dois experimentos distintos, compreendendo aplicação em substrato e pós emergência. Foram mensurados altura e diâmetro de coleto das mudas ao longo do período de crescimento em viveiro. Ao final do experimento, foram avaliadas a massa de raízes e parte aérea e volume radicular. Calculou-se também o Índice de Qualidade de Dickson. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram separadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Para a inoculação no substrato, as sementes de 2ª geração quando inoculadas com *B. amyloliquefaciens* apresentaram melhores resultados para altura e massa de parte aérea seca. Já para a inoculação pós emergência, os resultados mais relevantes foram obtidos sobre altura, massa de raízes secas e índice de qualidade. O uso de *B. amyloliquefaciens* promoveu ganhos de até 10,8% em altura e 60% de massa de raízes secas em plantas oriundas das sementes de 1,5 geração. O diâmetro foi incrementado em 0,47 mm por sementes de 1,5 geração. Efeitos positivos de *B. amyloliquefaciens* foram encontrados sobre o índice de qualidade de Dickson, sendo que mudas inoculadas apresentaram valores 30% maiores em relação à testemunha. A utilização de *B. amyloliquefaciens* em conjunto ao genótipo superior de sementes de *P. taeda* influencia positivamente no crescimento das mudas em diferentes parâmetros analisados para a inoculação no substrato e pós emergência. Portanto, consiste em uma prática silvicultural que deve ser considerada para a produção de mudas de alta qualidade.

Palavras-chave: Rizobactérias Promotoras de Crescimento em Plantas. Silvicultura. Melhoria florestal.

ABSTRACT

Forestry industries in Brazil generate an average gross domestic product of U\$ 18 billion (6.2% from country overall). In forest sector, *Pinus* species are the most used in reforestation practices. In the South region of Brazil, *Pinus taeda* is the most cultivated species. In order to ensure planting success, quality of seedlings is extremely relevant. Hence the goal of this study was to evaluate interactions among rhizobacteria from the genus *Bacillus* and genetically improved seed from 1.5 and 2nd generation orchards of *P. taeda*. Inoculation was performed in two distinct experiments, at sowing and after emergence. Plant height and diameter were measured throughout the nursery cycle. At the end, both root and shoot fresh and dry mass were measured, as well as root volume. Dickson Quality Index was also calculated. Data were submitted to analysis of variance and means were separated by Tukey's test ($p < 0.05$). Regarding inoculation at sowing, plants from 2nd generation seeds associated to *B. amyloliquefaciens* presented the best results of height and shoot dry mass. With inoculation after emergency, the best results were reported plant height, root dry mass, diameter and quality index. Use of *B. amyloliquefaciens* improved height by 10.8% and root dry mass by 60% in plants from 1.5 generation seeds. Diameter was increased in 0.47 mm by 1.5 generation seeds. Positive effects of *B. amyloliquefaciens* were also found on Dickson quality index, once inoculated plants presented 30% higher means compared to non-inoculated plants. Utilization of *B. amyloliquefaciens* associated to superior genotypes of *P. taeda* seedlings positively affects distinct parameters of plant growth at both sowing and after emergence. Therefore, it consists a silviculture practice that should be taken into account to produce high-quality seedlings.

Keywords: Plant growth-promoting rhizobacteria. Silviculture. Forest tree improvement.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Substrato alocado na bandeja de plástico (2500 mL) para posterior inoculação.	27
Figura 2 – Inoculante de <i>Bacillus subtilis</i> diluído em água não autoclavada (150 mL), pronto para ser utilizado.	27
Figura 3 – Adição do inoculante <i>Bacillus subtilis</i> (150 mL) diluído ao substrato de semeadura por pipetagem.	28
Figura 4 – Aferição da altura de mudas de <i>Pinus taeda</i> , compreendendo a distância entre a borda do tubete e a última acícula expandida.	28
Figura 5 – Aferição do diâmetro de coleto de mudas de <i>Pinus taeda</i> , tomando-se como referência a borda do tubete.	29
Figura 6 – Corte realizado na muda para separar a parte aérea das raízes.	30
Figura 7 – Proveta com água, utilizada para estimar o volume radicular pelo método de deslocamento de volumes (A); e proveta contendo água e raízes. O volume de água deslocado pelas raízes corresponde ao volume radicular (B).	30
Figura 8 – Aspecto da muda após sete dias em estufa para determinação da massa de parte aérea e raízes secas.	31
Figura 9 – Mudas de <i>Pinus taeda</i> com três meses, no momento da implantação do experimento.	32
Figura 10 – Inoculação diretamente no tubete, realizada aos 120 dias após a emergência.	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeito do fator geração de sementes no diâmetro de mudas de <i>Pinus taeda</i> aos 120 dias após a semeadura.	34
Tabela 2 – Efeito da interação entre as diferentes gerações de sementes e a inoculação na altura de mudas de <i>Pinus taeda</i> aos 150 dias após a semeadura.	34
Tabela 3 – Efeito do fator inoculação no diâmetro de mudas de <i>Pinus taeda</i> aos 150 dias após a semeadura.	35
Tabela 4 – Efeito da interação entre as diferentes gerações de sementes e a inoculação sobre a massa de parte aérea fresca (g) de mudas de <i>Pinus taeda</i> aos 150 dias após a semeadura.	35
Tabela 5 – Efeito da interação entre os fatores inoculação e geração de sementes sobre a massa de parte aérea seca (g) de mudas de <i>Pinus taeda</i> aos 150 dias após a semeadura.	36
Tabela 6 – Efeito da interação entre as diferentes gerações de sementes e a inoculação na altura mudas de <i>Pinus taeda</i> ao longo de todo o experimento.	37
Tabela 7 – Efeito do fator geração de sementes no diâmetro das mudas de <i>Pinus taeda</i> ao longo de todo o experimento.	37
Tabela 8 – Efeito da interação entre os fatores inoculação e geração de sementes sobre a massa de raízes secas (g) de mudas de <i>Pinus taeda</i> aos 180 dias após a emergência.	38
Tabela 9 – Efeito do fator inoculação sobre o Índice de Qualidade de Dickson de mudas de <i>Pinus taeda</i> aos 180 dias após a emergência.	38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS	13
1.1.1	Objetivo Geral	14
1.1.2	Objetivos Específicos	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	<i>Pinus taeda</i> L.....	15
2.2	INÍCIO DO MELHORAMENTO GENÉTICO DE <i>P. taeda</i> L.....	16
2.3	ESTRATÉGIAS DE MELHORAMENTO FLORESTAL DE <i>P. taeda</i>	16
2.4	SEMENTES DE 1,5 E 2ª GERAÇÕES	18
2.5	RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS	19
2.6	RPCPs do GÊNERO <i>Bacillus</i>	21
2.7	<i>Bacillus subtilis</i>	22
2.8	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	23
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1	EXPERIMENTO 1: INOCULAÇÃO NO SUBSTRATO	26
3.2	EXPERIMENTO 2: INOCULAÇÃO PÓS EMERGÊNCIA	31
4	RESULTADOS	34
4.1	EXPERIMENTO 1: INOCULAÇÃO NO SUBSTRATO	34
4.2	EXPERIMENTO 2: INOCULAÇÃO PÓS EMERGÊNCIA	36
5	DISCUSSÃO	39
6	CONCLUSÕES	44
	REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

A silvicultura brasileira tem como base o cultivo de espécies do gênero *Pinus*, que desde a década de 60 tornou-se crescente em importância econômica para o desenvolvimento do país (VASQUES *et al.*, 2007). Assim, a demanda por mudas de qualidade é essencial, visto que normalmente as áreas destinadas a cultivo de *Pinus* são degradadas em termos físicos, químicos e microbiológicos (THOMAS, 2007). Nesse sentido, programas de melhoramento genético de *Pinus* foram estabelecidos visando melhor desenvolvimento em altura, diâmetro e resistência, principalmente.

Nos programas de melhoramento genético florestal são utilizados métodos como a formação de Pomares de Sementes por Mudanças ou Pomares de Sementes Clonal, que são estratégias utilizadas para a obtenção de sementes melhoradas. Elas possibilitam qualidade de muda inicial e plantios com as melhores características desejadas, como crescimento, forma, qualidade da madeira, resistência a doenças, geada e déficit hídrico (SILVA *et al.*, 2012).

Além da utilização de material genético superior, a inoculação de *Pinus* com Rizobactérias Promotoras de Crescimento das Plantas (RPCP) apresenta-se como uma ferramenta promissora. Nesse grupo de bactérias destacam-se gêneros como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium*, que proporcionam efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento das plantas (ARAÚJO, 2008). A inoculação de *Pinus* com bactérias do gênero *Bacillus* vem sendo estudado em alguns países da Europa e, recentemente, no Brasil (SHISHIDO *et al.*, 1995; VONDERWELL; ENEBAK 2000; PROBANZA *et al.*, 2002; SANTOS *et al.*, 2018), e resultados preliminares desses trabalhos revelam o potencial da inoculação para aumentar o desenvolvimento das mudas.

Em conjunto ao material genético superior, a utilização de rizobactérias promotoras de crescimento poderia diminuir o uso de recursos e tempo enquanto mudas em fase de viveiro. Esse aspecto é importante já que a obtenção de uma planta adulta vigorosa depende da qualidade que esta apresenta na fase inicial de crescimento.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e diferentes gerações de sementes sobre o desenvolvimento inicial de mudas de *Pinus taeda* L.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar os efeitos da inoculação no substrato e sementes de 1,5 e 2ª gerações sobre o crescimento de mudas de *P. taeda* em viveiro;
- Avaliar os efeitos da inoculação pós emergência em mudas de 1,5 e 2ª gerações de *P. taeda* sobre o crescimento destas em viveiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Pinus taeda* L

O gênero *Pinus* pertence à família Pinaceae, da ordem Coniferales e classe Gymnospermae (GILMAN; WATSON, 1994). Morfofisiologicamente, a espécie *P. taeda* caracteriza-se por ser uma arbórea que pode atingir mais de 20 m de altura, com casca gretada, ramos acinzentados e acículas reunidas em grupos de três, com 15 a 20 cm de comprimento e de cor verde escura (ELESBÃO, 2011). Os cones masculinos são cilíndricos amarelados, já os femininos, ovados oblongos, sésseis ou subsésseis, muito persistentes e possuem escamas espinhosas. As sementes são pequenas, com cerca de 5 mm de comprimento e com alas de até 25 mm. É uma espécie monóica, apresentando flores unissexuais, mas distribuídas no mesmo indivíduo, com sistema reprodutivo alógamo, sem a presença de autofecundação (SHIMIZU, 2008). Como a espécie possui sementes dormentes, a superação da mesma é realizada com imersão em água por 24 horas e 50 dias de frio a temperaturas de 0 a 5°C (FOWLER; BIANCHETTI, 2000).

O gênero foi introduzido no Brasil em 1936, pelo Serviço Florestal do Estado de São Paulo e é utilizado nos programas de reflorestamento do país. No sul do país, as espécies *P. taeda* e *Pinus elliottii* são as que mais apresentam potencial e são utilizadas com mais frequência quando comparadas as outras espécies do gênero. A necessidade de produção de madeira para fornecer à indústria para o processamento mecânico, produção de madeira serrada, laminada e painéis, além da produção de celulose e papel, foram uma das principais razões para a introdução do *Pinus* no país (KRONKA *et al.*, 2005).

Os povoamentos com *Pinus* caracterizam atualmente cerca de 1,6 milhão de hectares, concentrados principalmente no Paraná (42%) e em Santa Catarina (34%). Entre os anos de 2010 a 2016, em Santa Catarina, as áreas plantadas com o gênero não sofreram alterações significativas, mantendo-se estáveis ao longo dos seis anos, possuindo 545.835 hectares plantados no ano de 2016 (IBÁ, 2017). O estado possui o total de 660,7 mil hectares de reflorestamento, sendo o sexto a nível nacional com maior área plantada. Destes, 82% é com *Pinus*, 17% sendo *Eucalyptus* e apenas 1%

com outras espécies (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE BASE FLORESTAL PARA O ESTADO DE SANTA CATARINA, 2016).

2.2 INÍCIO DO MELHORAMENTO GENÉTICO DE *P. taeda* L

Na década de 50 foi iniciado o melhoramento genético de *P. taeda*, na região sudeste dos Estados Unidos. No começo, os programas de melhoramento genético visavam a seleção de fontes de sementes que reproduzissem genótipos com melhor crescimento e resistência a doenças como a ferrugem, ocasionada por *Cronartium quercuum* (MCKEAND *et al.*, 2003; MCKEAND *et al.*, 2006).

Também no Brasil, o melhoramento genético de *Pinus* é conduzido desde a década de 50 (PALUDZYSZYN *et al.*, 2002). Como um dos resultados principais, o bom incremento volumétrico da espécie destaca-se (superior a 40 m³ ha⁻¹) (BOGNOLA *et al.*, 2008). Assim, o material genético superior tem influência direta com o crescente aumento da produtividade observado em plantios de *P. taeda* (MCKEAND *et al.*, 2006; MARTINEZ *et al.*, 2012).

Entretanto, devido à dificuldade do melhoramento via sementes, são testados, de modo geral, pequena quantidade de progênies por geração, resultando em ganhos genéticos reduzidos. A avaliação e seleção precoce, bem como estratégias de melhoramento, possibilitam reduzir custos, sendo utilizadas nos programas de melhoramento florestal (PALUDZYSZYN FILHO *et al.*, 2003).

2.3 ESTRATÉGIAS DE MELHORAMENTO FLORESTAL DE *P. taeda*

Para iniciar o programa de melhoramento florestal, deve-se, primeiro, ter em mente qual finalidade e uso a madeira terá, assim, as árvores matrizes serão classificadas com diferentes parâmetros. Quando objetiva-se a produção de madeira, a avaliação das características do fuste é de suma importância. Se o uso for para a formação de florestas de proteção, prioritariamente a capacidade de proteção da copa deve ser analisada; caso a extração de resina seja a característica de interesse, a árvore tem que apresentar elevado teor desse extrativo; se o crescimento for a variável

desejada, a árvore deve possuir crescimento uniforme e rápido, apresentando também, boa produtividade (REIS, 2004).

O mesmo autor ainda ressalta que a árvore matriz nunca deve ser uma única árvore isolada, pois desencadeará em problemas de autofecundação, ou seja, diminuirá a variabilidade genética das sementes. Portanto, a seleção das matrizes deve ser realizada em povoamentos implantados ou naturais, aumentando a taxa de cruzamento, para permitirem adequada avaliação das características a serem analisadas.

A seleção dos genótipos superiores em *P. taeda* é realizada por meio da predição de dados genéticos fundamentados em características fenotípicas (ISIK *et al.*, 2005; MCKEAND *et al.*, 2006; MARTINEZ *et al.*, 2012). Porém, a eficiência da seleção fenotípica irá depender do nível de controle genético da característica e da intensidade dos efeitos ambientais (FONSECA *et al.*, 2010; PIRES *et al.*, 2011). Em relação aos fenótipos, devem ser aplicadas estratégias de seleção que os transformem em dados genéticos e, conseqüentemente, concedam maior precisão de seleção (RESENDE, 2002).

Após a avaliação experimental, a seleção fenotípica deve se basear tanto em componentes de variância, quanto componentes de médias. Desse modo, as técnicas de avaliação genética circundam simultaneamente a estimação de componentes de variância e a predição de valores genéticos, utilizando modelos estatísticos em nível de indivíduos (RESENDE, 2002).

Segundo Paludzyszyn Filho ([S.d.]), para começar o programa de melhoramento florestal, a produção de sementes é dividida em uma sequência, que tem início pela Área de Coleta de Sementes (ACS), onde apenas o fenótipo será o critério utilizado para a colheita de sementes ou propágulos vegetativos. Já a Área de Produção de Sementes (APS) é uma população que foi selecionada, previamente isolada contra pólen indesejado, onde posteriormente serão selecionadas as matrizes e será realizado o desbaste seletivo das árvores indesejáveis e o manejo adequado ocorrerá para a produção de sementes.

De acordo com Reis (2004), selecionar um definido número de árvores no estrato dominante, que estão conectadas as árvores superiores, em um espaço de até 10 m, não prejudica as árvores dominantes e ainda forma um núcleo produtor de

sementes. A Área de Produção de Sementes Espacial (APSE) é formada a partir do conjunto de núcleos produtores de sementes. Nesse sistema, os dois sexos têm diferenças quanto à intensidade de seleção, sendo o lado feminino 1:1000, já o lado masculino o valor é parecido ao de uma APS (até 10%).

Nesse contexto, o Pomar de Sementes por Mudanças (PSM) é um plantio originado de mudas advindas de sementes (MORI, 1998), e é formado após o teste de progênies com o desbaste dos indivíduos inferiores (PALUDZYSZYN FILHO, [S.d.]). Este pomar é válido se: há a possibilidade de maior número inicial de pais, originando uma base genética mais ampla; a implantação é fácil, principalmente quando as progênies são alógamas; a clonagem da espécie é difícil; dois ciclos de seleção são completados em uma execução; a espécie tem florescimento precoce e os caracteres desejáveis se manifestam na idade jovem (REIS, 2004).

É utilizado para a obtenção de material genético superior, de forma ampla, o Pomar de Sementes Clonal (PSC), onde este consiste em coletas de propágulos das árvores superiores. Da mesma maneira que a APS, não deve ter contato com pólen externo. A principal vantagem dos pomares clonais é a precoce produção de sementes, principalmente quando a enxertia é o método de propagação (REIS, 2004).

Os benefícios da implementação do pomar de sementes clonal são: os genótipos superiores podem ser repetidos inúmeras vezes para a obtenção de grande quantidade de sementes; a chance de cruzamentos entre aparentados é quase nula; e o pomar pode ser plantado no local mais acessível, econômico e produtivo. Além do mais, o amadurecimento dos órgãos reprodutivos e, conseqüentemente, a produção de sementes inicia-se mais rápido que no pomar de sementes por mudas e após o teste de progênies, somente as árvores superiores são utilizadas, pois os genótipos das árvores que produzem sementes de melhor qualidade são conhecidos (REIS, 2004).

2.4 SEMENTES DE 1,5 E 2ª GERAÇÕES

Segundo Foelkel (2011), pomares de sementes de 1,5 geração são formados a partir de um desbaste seletivo dos pomares de 1ª geração, após obtidos os resultados dos testes de progênies, fazendo a remoção dos piores indivíduos e piores

famílias. Nesse sentido, para formar os pomares de 2ª geração, também são realizados testes de progênies e, a partir dos resultados, os piores indivíduos do pomar de 1,5 geração são desbastados e, a partir dos melhores, é formado o pomar de 2ª geração. Portanto, é avançada sempre meia geração.

Para a obtenção de sementes de diferentes gerações no pomar de sementes por mudas, é realizado o plantio das melhores sementes para compor os pomares. Já para o pomar de sementes clonal, é realizado a clonagem dos melhores indivíduos e, assim, os pomares de diferentes gerações são formados (IPEF, 2005). Para o *P. taeda*, a clonagem é realizada por micropropagação através da embriogênese somática (DIAS, 2013).

Em entrevista, Primon (2018)¹ proprietário do Viveiro Comercial Primon, relatou que o tempo de crescimento médio das mudas de *P. taeda* é variável no município de Curitibanos, Santa Catarina, dependendo da semeadura. Entretanto, considera-se entre cinco a oito meses até venda comercial, na qual estas são distribuídas no mercado com dezessete centímetros de altura. Ainda informou que para aumentar a produção, três meses seriam ideais para aproximar o custo benefício.

2.5 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

A maior diversidade de bactérias é encontrada na rizosfera, por conta da grande gama de compostos orgânicos disponibilizados pelas raízes das plantas (GLICK, 1995).

As espécies de bactérias que são capazes de colonizar as raízes são chamadas de rizobactérias. Aquelas que são benéficas para as plantas e de vida livre no solo recebem o nome de Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas - RPCP (do inglês PGPR – *plant growth-promoting rhizobacteria*) (KOKALIS-BURELLE *et al.*, 2006) e também existem as que incrementam a produção vegetal (YIB – *yield-increasing bacteria*) (PIAO *et al.*, 1992).

Segundo Gray e Smith (2005) existem dois conceitos para a classificação ou divisão das RPCPs:

¹ PRIMON, A. P. Entrevista concedida à Yanka Rocha Kondo. Curitibanos, 22 de fev. 2018.

1. iRPCPs – bactérias que são encontradas no interior das células dos vegetais e que produzem nódulos, possibilitando a fixação de nitrogênio em cultivares que fazem parte da família das fabáceas. As bactérias do gênero *Rhizobium* são as mais utilizadas para estudo neste grupo, mas outros gêneros também pertencem a essa categoria, sendo estes: *Allorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* e *Bradyrhizobium*.
2. eRPCPs – são as bactérias encontradas fora dos tecidos das raízes das plantas (e que só se desenvolvem fora das células), sem a produção de nódulos, porém podem auxiliar o crescimento das plantas utilizando substâncias exclusivas ou pela produção de sinais. São incluídos neste grupo bactérias dos gêneros *Serratia*, *Pseudomonas* e *Bacillus*.

Devido ao seu potencial benéfico para várias espécies vegetais, as RPCPs são estudadas com frequência principalmente para as espécies anuais e de menor porte, como o trigo, feijão, alface e abóbora, porém existem efeitos benéficos já comprovados em plantas perenes, como abeto e café (FREITAS; VILDOSO, 2004). Além de promover o crescimento das plantas, o controle biológico de fitopatógenos também é uma característica das RPCPs, apresentando diferentes atuações nessas condições de estresse do vegetal (FREITAS; PIZZINATTO, 1991).

Para cultivares anuais, a utilização das RPCPs é considerada vantajosa quando há acréscimo da matéria seca, pois ocasiona a diminuição do ciclo ou aumento da produção, variando conforme a planta (FREITAS *et al.*, 2003). Para plantas perenes, o benefício proporcionado seria a diminuição do tempo em viveiro, através da manipulação do substrato, fazendo a desinfecção do mesmo e inoculando as RPCP de interesse, para diminuir a competição entre as bactérias (BORGES *et al.*, 2000). Além do mais, esse processo acarretaria na colonização da rizosfera e faria com que a simbiose acontecesse o mais rápido possível (CHANWAY *et al.*, 2000; STURZ; NOWAK, 2000). Nesse sentido, para Lemos (2009), os microrganismos possuem importância relevante em mudas de viveiro, pois diminuem o tempo de produção e aumentam a capacidade de sobrevivência a campo.

Para o setor florestal, que possui o tempo de rotação longo quando comparado ao agrícola, a inoculação com rizobactérias normalmente não tem como objetivo aumento diretamente na produção de madeira. Porém, as mudas oriundas da

inoculação com esses microrganismos podem apresentar redução de doenças nos primeiros anos e maior taxa de sobrevivência (MAFIA *et al.*, 2007).

Estudos que avaliaram o aumento do crescimento em espécies arbóreas, quando inoculadas com RPCPs, descrevem incremento de biomassa das mudas (CHANWAY, 1997).

2.6 RPCPs do GÊNERO *Bacillus*

As bactérias do gênero *Bacillus* possuem características de interesse para a produção de inoculantes comerciais, pois produzem endósporos, o que facilita o manuseio e aplicação. Os endósporos podem também ser utilizados em mistura com defensivos, o que é favorável para o manejo ecológico de doenças e pragas, produção integrada e o sistema “approach”. Além disso, destaca-se a importância desse gênero na produção de antibióticos (FREITAS; PIZZINATTO, 1991). As bactérias pertencentes a esse gênero também podem produzir níveis de giberelinas altíssimos, sendo este um fitohormônio que induz efeitos benéficos no crescimento de galhos e caules de diversas culturas (GRAY; SMITH, 2005).

As espécies de *Bacillus* produzem biofilmes que são benéficos para as plantas das quais a mesma estabelece simbiose (ALTAF *et al.*, 2017). Essa relação harmônica ocorre devido ao glicocálice, que apresenta como uma de suas funções o reconhecimento entre as células e adesão das mesmas, formando um emaranhado de células unidas entre si, ou seja, uma camada de bactérias ligadas umas às outras. Isso também é possível devido à grande quantidade de carboidratos presentes nessa região, protegendo as células contra a desidratação, impedindo também que os nutrientes saiam da planta (TORTORA *et al.*, 2012).

Inoculantes de *Bacillus* podem ser utilizados de forma individual ou como co-inoculantes, a exemplo quando inoculado com bactérias gram-negativas, como *Bradyrhizobium japonicum*.

A inoculação com *Bacillus* sp. aumenta o crescimento de espécies como tomate, amendoim e plantas perenes, como o *Pinus* sp. (SILVEIRA; FREITAS, 2007; MAFIA *et al.*, 2009). Zeriuouth *et al.* (2014) descobriram que *B. subtilis* forma biofilmes na rizosfera do melão, o que suprime de forma eficiente os fitopatógenos. Xu *et al.*

(2014) observaram que biofilmes de *Bacillus cereus* nas raízes de trigo também participam da atividade de biocontrole da planta. Porém, os benefícios destas espécies para o desenvolvimento de culturas florestais ainda permanece pobremente estudado.

2.7 *Bacillus subtilis*

A espécie *B. subtilis* atua de forma benéfica para as plantas, pois além de tornar disponíveis os nutrientes para as mesmas, atua na liberação de fitohormônios que auxiliam o crescimento, promovendo ainda o controle de nematóides e doenças em plantas (GRAÇAS *et al.*, 2015).

Como exemplo do seu poder antagonista, Mazzuchelli e Araújo (2012), utilizaram duas variedades de cana-de-açúcar, comprovando que a utilização de *B. subtilis* foi superior à testemunha, atuando como controlador biológico dos nematóides *Meloidogyne* sp. e *Pratylenchus* sp. no solo. A eficácia dessa bactéria foi semelhante ao controle químico com produto Carbofuran. Araújo e Cardozo (2011) também estudaram a eficiência de *B. subtilis* como antagonista em solos infectados por nematóides no cultivo da cana-de-açúcar e vinhaça. Os autores confirmaram que o tratamento com inoculação em suspensão aquosa proporcionou redução relevante na quantidade de ovos e nematóides juvenis nas raízes da cana-de-açúcar e também promoveu maior crescimento da planta.

Soria *et al.* (2012) isolaram quatro linhagens de *B. subtilis* e uma de *Burkholderia* sp. de *P. taeda* para serem avaliados como agentes de controle biológico de *Fusarium circinatum*, causador da doença cancro dos pinheiros. Como resultados, todas as bactérias mostraram efeito antagonista no crescimento do patógeno, pois os metabólitos das bactérias reduziram em mais de 50% o crescimento do fungo.

Os referidos trabalhos, entretanto, não abordam o efeito da inoculação sobre variáveis de crescimento em viveiro ou em função de diferentes características de melhoramento genético da planta, um aspecto importante dentro da silvicultura em nível nacional e mundial.

2.8 *Bacillus amyloliquefaciens*

Assim como o *B. subtilis*, o *B. amyloliquefaciens* também faz parte das RPCPs do gênero *Bacillus*, onde ambas as espécies possuem benefícios simbióticos semelhantes. Entretanto, comparada a *B. subtilis*, esta espécie é pouco estudada tanto no setor agrícola como florestal, obtendo apenas alguns trabalhos publicados para as plantas anuais, principalmente como antagonista de fitopatógenos.

Em alguns estudos relatados como controle biológico, Máscia (2017) utilizou inoculantes de *B. amyloliquefaciens* e *Trichoderma harzianum* no manejo dos nematóides *Pratylenchus brachyurus* e *Helicotylenchus* sp. em plantios de soja. Ocorreu a redução do número de nematóides quando aumentadas as doses de *B. amyloliquefaciens* nas raízes da planta. A inoculação com *B. amyloliquefaciens* neste estudo apresentou-se como um método eficiente de controle biológico visando a diminuição das lesões radiculares.

Outro exemplo de controle biológico foi demonstrado por Yuan *et al.* (2014). Os autores comprovaram que *B. amyloliquefaciens* atua no controle biológico de *Fusarium*, causador da murcha da bananeira. Yuan *et al.* (2013) também demonstraram o efeito antagonista de *B. amyloliquefaciens* através da produção de metabólitos que diminuíram a incidência da murcha de *Fusarium* existente na bananeira. Raval e Desai (2015) isolaram 27 bactérias pertencentes ao gênero *Bacillus* sp. da rizosfera de plantas de girassol. Dentre os resultados constatados pelas RPCP, a atividade antagônica destas se sobressaiu em relação a *Fusarium*, *Aspergillus*, *Curvularia* e *Helminthosporium*.

A quantidade limitada de trabalhos com *B. amyloliquefaciens*, principalmente no setor florestal, dificulta a comparação de resultados em trabalhos e a eficácia da utilização de inoculantes da espécie, pois os dados existentes até o momento ainda são poucos quando comparados a outros trabalhos com o uso de RPCPs. Da mesma maneira que o observado para *B. subtilis*, ainda existe uma lacuna de estudos que demonstre o efeito destes microrganismos no crescimento de mudas submetidas a diferentes graus de melhoramento genético.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido em condições de viveiro na empresa Primon, localizada no município de Curitibanos, Santa Catarina (Latitude: 27° 16' 60" Sul, Longitude: 50° 35' 7" Oeste), Brasil, entre os meses de fevereiro de 2018 a março de 2019. O clima do município é classificado como Cfb Subtropical úmido, de acordo com Köppen e Geiger, com verões amenos (KÖPPEN, 1931).

A inoculação ocorreu em duas ocasiões: na semeadura e pós emergência, constituindo dois experimentos distintos.

Foram empregadas duas gerações de sementes de *P. taeda*: 1,5 e 2^a, as quais foram doadas pelo Viveiro Primon Mudas Florestais. As sementes eram oriundas do Viveiro Comercial Rigesa – WestRock.

Além das sementes melhoradas geneticamente, foram utilizadas duas espécies de Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas: *Bacillus subtilis* e *Bacillus amyloliquefaciens*. As bactérias foram fornecidas na forma de inoculantes líquidos pela empresa Total Biotecnologia, localizada no município de Curitiba, Paraná.

Os inoculantes *B. amyloliquefaciens* e *B. subtilis* originalmente possuíam a concentração de $1,87 \times 10^8$ e $6,6 \times 10^8$ UFC/mL, respectivamente. Para que ambos fornecessem a mesma concentração de 135.000.000 UFC/g substrato após a inoculação, cada inoculante foi misturado com água. Foi aplicada a quantidade de 1,5 mL por tubete para ambos experimentos e esta dose resultou na concentração de 135.000.00 UFC/g substrato.

O substrato utilizado foi o Carolina Soil®, onde este continha na sua composição de fábrica casca de arroz torrefada, Vermiculita expandida, Perlita expandida e Turfa de Sphagnum, sendo o mesmo classificado como de baixa densidade e com grande rendimento, facilitando o manejo e saque das mudas em diferentes espaços e recipientes de plantio. A superação da dormência das sementes foi realizada através de imersão em água por 24 horas e exposição a 5 °C durante 50 dias, conforme estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2009).

A semeadura foi realizada de forma a alocar 3 sementes por tubete a 3 cm de profundidade. As mudas foram cultivadas em tubetes cônicos de plástico, previamente desinfetados, com capacidade de 50 cm³.

O raleio foi realizado após as mudas terem atingido 5 cm de altura. Em cada tubete apenas uma muda permaneceu, sendo esta a mais vigorosa e central.

Os experimentos foram conduzidos em fatorial 2x3 inteiramente casualizado. O fator 1 consistiu na geração de sementes e o fator 2 nos tratamentos de inoculação. O fator 1 continha dois níveis: sementes de 1,5 e 2^a geração. Para o fator 2, três tratamentos de inoculação foram testados: testemunha (sem inoculação), inoculação com *B. amyloliquefaciens* e inoculação com *B. subtilis*.

3.1 EXPERIMENTO 1: INOCULAÇÃO NO SUBSTRATO

Para compor o experimento 1, foram avaliadas cinquenta repetições (para compor um número de repetições suficiente para a estatística e garantir que, mesmo após a possível mortalidade de algumas mudas, haveriam amostras suficientes para as avaliações), de acordo com o delineamento experimental anteriormente detalhado.

Primeiramente, o substrato foi colocado na bandeja para posterior inoculação (Figura 1). Posteriormente, com o auxílio de uma pipeta, o volume do inoculante que estava diluído em água foi aferido (Figura 2) e adicionado ao substrato (Figura 3). Concomitantemente a adição, o substrato foi extensivamente homogeneizado.

As mudas permaneceram no viveiro por 150 dias recebendo irrigação e demais tratos culturais oriundos dos cuidados dos funcionários da empresa.

Figura 1 – Substrato alocado na bandeja de plástico (2500 mL) para posterior inoculação.



Fonte: O Autor (2018).

Figura 2 – Inoculante de *Bacillus subtilis* diluído em água não autoclavada (150 mL), pronto para ser utilizado.



Fonte: O Autor (2018).

Figura 3 – Adição do inoculante *Bacillus subtilis* (150 mL) diluído ao substrato de semeadura por pipetagem.



Fonte: O Autor (2018).

A coleta de dados ocorreu aos 120 e 150 dias após a semeadura, totalizando duas coletas de dados. Para a avaliação da altura da parte aérea foi utilizada uma régua alinhada no nível do tubete, sendo a muda medida até a última acícula (Figura 4). Já para a avaliação do diâmetro, este dado foi coletado com o auxílio de um paquímetro digital, sendo o mesmo alocado ao nível do tubete (Figura 5).

Figura 4 – Aferição da altura de mudas de *Pinus taeda*, compreendendo a distância entre a borda do tubete e a última acícula expandida.



Fonte: O autor (2019).

Figura 5 – Aferição do diâmetro de coleto de mudas de *Pinus taeda*, tomando-se como referência a borda do tubete.



Fonte: O autor (2019).

Aos 150 dias após a semeadura, as mudas foram também avaliadas quanto ao volume radicular e massas de parte aérea e de raiz (tanto frescas e secas).

Inicialmente, separou-se a parte aérea das raízes (Figura 6) com auxílio de uma tesoura. Para a mensuração do volume radicular, as raízes foram cuidadosamente separadas do substrato aderido e colocadas em uma proveta contendo volume de água conhecido. A quantidade de água deslocada pelas raízes correspondeu ao volume radicular (Figura 7).

Em seguida, a pesagem de ambas partes frescas (aérea e radicular) foi realizada. Posteriormente, as partes foram alocadas para secar em uma estufa de circulação forçada de ar a 65°C por sete dias. Após a secagem (Figura 8), as partes aéreas e radiculares das mudas foram novamente submetidas à pesagem, resultando em valores de massa das partes secas.

Após a obtenção dos valores de massa de raízes secas (MRS) e de parte aérea seca (MPAS), o valor de massa total da planta seca (MTS) foi calculado pelo somatório das massas citadas. Em seguida, foi realizado o cálculo de índice de Qualidade de Dickson (IQD). Para a determinação do mesmo, foram utilizados os dados de altura, diâmetro do caule, massa da parte aérea seca e massa radicular seca, segundo Dickson *et al.* (1960).

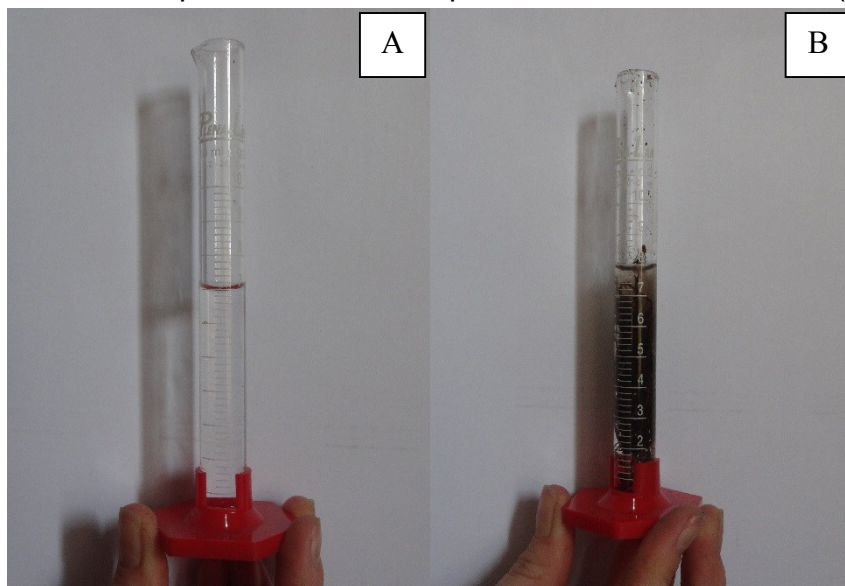
Para a realização das análises estatísticas, o software R foi utilizado, aplicando-se análise de variância simples (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 6 – Corte realizado na muda para separar a parte aérea das raízes.



Fonte: O autor (2019).

Figura 7 – Proveta com água, utilizada para estimar o volume radicular pelo método de deslocamento de volumes (A); e proveta contendo água e raízes. O volume de água deslocado pelas raízes corresponde ao volume radicular (B).



Fonte: O autor (2019).

Figura 8 – Aspecto da muda após sete dias em estufa para determinação da massa de parte aérea e raízes secas.



Fonte: O autor (2019).

3.2 EXPERIMENTO 2: INOCULAÇÃO PÓS EMERGÊNCIA

Para o experimento 2, o mesmo delineamento experimental descrito no item 3.1. foi adotado, porém foram avaliadas vinte e cinco repetições. Para esse experimento o número de repetições foi menor devido ao fato das mudas já estarem vigorosas, o que diminui a taxa de mortalidade destas, não sendo necessário elevado número de repetições.

A inoculação ocorreu após 120 dias de emergência das mudas. Nesta etapa, cada tubete continha apenas uma muda. A altura de todas as plantas foi padrozinada para 13,0 cm (Figura 9).

Os inoculantes foram pipetados dentro do substrato, na região próxima ao colo da muda (Figura 10). A aplicação destes ocorreu utilizando-se pipetas previamente esterilizadas, a uma profundidade de aproximadamente 3 cm no interior do tubete. As mudas do tratamento testemunha não foram inoculadas.

As mudas inoculadas pós emergência permaneceram 180 dias no viveiro.

Figura 9 – Mudanças de *Pinus taeda* com três meses, no momento da implantação do experimento.



Fonte: O Autor (2018).

Figura 10 – Inoculação diretamente no tubete, realizada aos 120 dias após a emergência.



Fonte: O Autor (2018).

Aos 120, 150 e 180 dias após a emergência foram mensuradas a altura das plântulas e o diâmetro de coleto, totalizando três coletas de dados.

As mesmas avaliações supracitadas no experimento 1 foram realizadas para o experimento 2.

4 RESULTADOS

4.1 EXPERIMENTO 1: INOCULAÇÃO NO SUBSTRATO

Aos 120 dias após a semeadura não houve interação entre gerações de sementes e espécies de *Bacillus* para a altura das plantas. Porém, houve efeito das gerações de sementes no diâmetro. Nesta variável, as sementes de 1,5 geração apresentaram maiores médias (0,11 mm) comparadas com as de 2,0 geração (0,08 mm) (Tabela 1).

Tabela 1 – Efeito do fator geração de sementes no diâmetro de mudas de *Pinus taeda* aos 120 dias após a semeadura.

Gerações	Diâmetro (mm)
1,5	0,11 A ⁽¹⁾
2,0	0,08 B

⁽¹⁾: Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, dentro da mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor (2019).

Aos 150 dias após a semeadura, houve efeito de interação sobre a altura das mudas. A geração 1,5 promoveu maior valor de altura sem inoculação (Tabela 2). Já em relação a inoculação, o *B. amyloliquefaciens* nas sementes de 2^a geração foi a prática mais favorável para esse parâmetro.

Tabela 2 – Efeito da interação entre as diferentes gerações de sementes e a inoculação na altura de mudas de *Pinus taeda* aos 150 dias após a semeadura.

Gerações	Testemunha	<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>B. subtilis</i>
1,5	15,78 A ^{†(1)}	14,76 * [†]	14,58 * [†]
2,0	12,97 Bb ⁽²⁾	15,60 *a	13,41 *b

[†]: Médias não significativas na linha, a ANOVA a 5% de probabilidade de erro.

*: Médias não significativas na coluna, a ANOVA a 5% de probabilidade de erro.

⁽¹⁾: Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, dentro da mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

⁽²⁾: Médias seguidas de letras minúsculas distintas, dentro da mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor (2019).

O fator inoculação teve efeito significativo para o diâmetro. A inoculação com *B. amyloliquefaciens* promoveu um acréscimo de 0,09 cm em relação à testemunha (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito do fator inoculação no diâmetro de mudas de *Pinus taeda* aos 150 dias após a semeadura.

Inoculação	Diâmetro (mm)
Testemunha	1,82 AB ⁽¹⁾
<i>B. amyloliquefaciens</i>	1,91 A
<i>B. subtilis</i>	1,73 B

⁽¹⁾: Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, dentro da mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor (2019).

Ainda aos 150 dias após a semeadura, para a análise das massas, constatou-se efeito de interação entre os dois fatores para a massa de parte aérea fresca e seca. Para a massa de parte aérea fresca, as plantas oriundas de sementes de 1,5 geração quando não inoculadas apresentaram 1,16 g de massa em comparação plantas geradas a partir de sementes de 2^a geração, com 0,96 g (Tabela 4).

Tabela 4 – Efeito da interação entre as diferentes gerações de sementes e a inoculação sobre a massa de parte aérea fresca (g) de mudas de *Pinus taeda* aos 150 dias após a semeadura.

Gerações	Testemunha	<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>B. subtilis</i>
1,5	1,16 Aa ⁽¹⁾	1,10 *ab ⁽²⁾	0,92 *b
2,0	0,96 B [†]	1,12 * [†]	1,06 * [†]

[†]: Médias não significativas na linha, a ANOVA a 5% de probabilidade de erro.

*: Médias não significativas na coluna, a ANOVA a 5% de probabilidade de erro.

⁽¹⁾: Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, dentro da mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

⁽²⁾: Médias seguidas de letras minúsculas distintas, dentro da mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor (2019).

Para a massa de parte aérea seca, as sementes de 1,5 geração apresentaram melhores resultados quando não inoculadas. Já as sementes de 2^a geração obtiveram a massa da parte aérea seca aumentada em 28% quando inoculadas com *B. amyloliquefaciens* (Tabela 5).

Tabela 5 – Efeito da interação entre os fatores inoculação e geração de sementes sobre a massa de parte aérea seca (g) de mudas de *Pinus taeda* aos 150 dias após a semeadura.

Gerações	Testemunha	<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>B. subtilis</i>
1,5	0,38 Aa ⁽¹⁾	0,37 *ab ⁽²⁾	0,29 *b
2,0	0,29 Bb	0,37 *a	0,33 *ab

*: Médias não significativas na coluna, a ANOVA a 5% de probabilidade de erro.

(1): Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, dentro da mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(2): Médias seguidas de letras minúsculas distintas, dentro da mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor (2019).

Tratando-se do índice de qualidade de Dickson (IQD) e volume radicular, não houve interação entre os fatores analisados e nem efeito isolado. A média geral do experimento foi de 0,056 e 96,1 mL, respectivamente.

4.2 EXPERIMENTO 2: INOCULAÇÃO PÓS EMERGÊNCIA

Em relação a altura, constatou-se efeito de interação em todas as coletas de dados realizadas (Tabela 6). Aos 120 e 150 dias após a emergência das mudas, a altura de plantas oriundas das sementes de 1,5 geração foi maior com a inoculação de *B. amyloliquefaciens* comparada à testemunha, apresentando ganhos de 8,44% e 10,8%, respectivamente. Ao considerar-se as sementes de 2ª geração, a inoculação não promoveu benefícios nessa variável ao longo das três coletas.

Tabela 6 – Efeito da interação entre as diferentes gerações de sementes e a inoculação na altura mudas de *Pinus taeda* ao longo de todo o experimento.

120 dias após a emergência			
Gerações	Testemunha	<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>B. subtilis</i>
1,5	13,05 Bb ⁽¹⁾	14,19 *a ⁽²⁾	13,61 Bab
2,0	15,39 Aa	14,47 *b	15,58 Aa
150 dias após a emergência			
1,5	13,18 Bb	14,60 *a	13,89 Bab
2,0	15,70 Aa	14,62 *b	15,72 Aa
180 dias após a emergência			
1,5	13,67 Bb	15,01 *b	14,50 Bab
2,0	16,77 Aa	15,18 *a	16,02 Aab

*: Médias não significativas na coluna, a ANOVA a 5% de probabilidade de erro.

(1): Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, dentro da mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(2): Médias seguidas de letras minúsculas distintas, dentro da mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor (2019).

Em relação ao diâmetro, aos 120, 150 e 180 dias após a emergência das mudas, houve efeito significativo apenas das diferentes gerações de sementes. Mudas das sementes de 1,5 geração apresentaram as maiores médias em todas as avaliações, com um ganho de até 0,47 mm em relação às sementes de 2ª geração (Tabela 7).

Tabela 7 – Efeito do fator geração de sementes no diâmetro das mudas de *Pinus taeda* ao longo de todo o experimento.

Gerações	Diâmetro (mm)		
	120 dias após a emergência	150 dias após a emergência	180 dias após a emergência
1,5	2,66 A ⁽¹⁾	2,75 A	2,98 A
2,0	2,19 B	2,46 B	2,83 B

(1): Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, dentro da mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor (2019).

Nos resultados encontrados para a análise de massas aos 180 dias após emergência, houve efeito apenas sobre a massa de raízes secas. As sementes de 1,5 geração apresentaram ganhos de 0,13 gramas (ou seja, 60%) quando inoculadas com *B. amyloliquefaciens* em comparação à testemunha (Tabela 8).

Tabela 8 – Efeito da interação entre os fatores inoculação e geração de sementes sobre a massa de raízes secas (g) de mudas de *Pinus taeda* aos 180 dias após a emergência.

Gerações	Testemunha	<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>B. subtilis</i>
1,5	0,22 *b ⁽²⁾	0,35 *a	0,28 *ab
2,0	0,29 *†	0,29 *†	0,27 *†

†: Médias não significativas na linha, a ANOVA a 5% de probabilidade de erro.

*: Médias não significativas na coluna, a ANOVA a 5% de probabilidade de erro.

⁽²⁾: Médias seguidas de letras minúsculas distintas, dentro da mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor (2019).

Finalmente, para o índice de qualidade de Dickson (IQD), o fator inoculação foi significativo, onde a inoculação com *B. amyloliquefaciens* proporcionou a maior média (0,13) comparada à testemunha (Tabela 9). Essa diferença corresponde a um IQD 30% maior que foi obtido com a inoculação de sementes.

Tabela 9 – Efeito do fator inoculação sobre o Índice de Qualidade de Dickson de mudas de *Pinus taeda* aos 180 dias após a emergência.

Inoculação	IQD
Testemunha	0,10 B ⁽¹⁾
<i>B. amyloliquefaciens</i>	0,13 A
<i>B. subtilis</i>	0,11 AB

⁽¹⁾: Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, dentro da mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor (2019).

Assim como para o experimento 1, para o volume radicular não houve interação entre os fatores analisados e nem efeito isolado. A média geral desta variável foi de 41,45 mL.

5 DISCUSSÃO

Apesar de alguns estudos reportarem efeitos benéficos de rizobactérias associadas ao *Pinus* (BARRIUSO *et al.*, 2008; BRUNETTA *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2018), nenhum trabalho havia analisado seu efeito associado a diferentes gerações de sementes de *P. taeda* até o momento. Esse estudo ressalta a importância da inoculação para a área florestal, visto que a espécie representa importância significativa para a economia do país.

Para a inoculação no substrato, as sementes de 1,5 geração foram as que mais promoveram ganhos em altura. Já para a inoculação em pós-emergência, a semente de 2ª geração foi a que mais incrementou o crescimento em altura das mudas de *P. taeda*, provavelmente em virtude da superioridade genética das matrizes oriundas dessa geração. Os dados apresentados são promissores para a diminuição do período inicial das mudas de *P. taeda* em viveiro, o que conseqüentemente pode melhorar a adaptação ao campo e acelerar o ciclo de desenvolvimento.

Estes resultados podem estar ligados à superioridade das sementes melhoradas visando a altura de mudas. De fato, alguns dos primeiros testes de progênies realizados no país, possuíam como objetivo principal a obtenção de sementes oriundas das melhores matrizes para melhor desempenho em altura, como o estudo realizado pela EMBRAPA na década de 80. Estima-se que o ganho a cada geração seja de 5% a mais para esta característica em relação à geração anterior (EMBRAPA, 2011).

De acordo com Souza (2015), a seleção da variável altura, além de aumentar os ganhos para esta característica, ainda ocasionam melhoramento para diâmetro e fuste no plantio. O rápido crescimento em altura também é explicado por Villacorta *et al.* (2015), que afirmam que o *P. taeda* é bem adaptado a uma gama variedade de sítios, sendo altamente responsivo à silvicultura. Parte dessa adaptação é oriunda de programas de melhoramento genético tradicionais da espécie, com a seleção voltada principalmente para o crescimento rápido, aumento em diâmetro e resistência a doenças. Nesse sentido, Paludzyszyn Filho ([S.d]) afirma que um pomar de 2ª geração pode obter acréscimos em produtividade entre 10% a 20% maior que o pomar

de 1,5 geração, produzindo 5 a 6 m³/ha/ano a mais em matéria-prima, o que poderia antecipar o corte em um ano, sem perder em produtividade.

A altura foi também favorecida pela inoculação com *B. amyloliquefaciens*, principalmente quando o inoculante foi aplicado em pós-emergência em mudas oriundas de sementes de 1,5 geração. Benefícios da inoculação sobre essa variável também já foram registrados por outros autores.

Brunetta *et al.* (2010) comprovaram a promoção de 10 a 16% de crescimento em altura de mudas de *P. taeda* quando no substrato foram inoculadas RPCP. Jang *et al.* (2018) analisaram o efeito da inoculação com *B. subtilis* em espécies perenes. Como resultados, obtiveram aumento de 62% da altura das mudas de espécies de *Populus* e biomassa total em 37% após 120 dias a partir da inoculação com *B. subtilis*. Para o *Eucalyptus*, resultados satisfatórios também foram encontrados por Moreira e Araújo (2013), onde cinco isolados de *Bacillus* sp. foram selecionados como vantajosos para o crescimento do gênero. Para culturas anuais, Szilagyi-Zecchin *et al.* (2015), verificaram a eficácia de *B. amyloliquefaciens* na produção de mudas de tomate. Os autores observaram estímulo de crescimento da parte aérea em 47,7% e 15,5% para a cultivar Santa Clara e Cereja, respectivamente.

Em contrapartida, Santos *et al.* (2018), através da inoculação com *B. subtilis* em *P. taeda* constataram que a altura não sofreu efeito dos tratamentos ao longo de todo o experimento, independente de o inoculante ser aplicado no substrato ou em pós-emergência, utilizando a mesma dosagem citada no presente trabalho.

A ação das rizobactérias sobre a variável altura é, em grande parte, explicada pelos autores através da sua ação como biofertilizante, facilitando a absorção de macronutrientes essenciais. Além do mais, estas ainda atuam no aumento da taxa fotossintética da planta, pela produção de compostos indólicos e sideróforos, estimulando o crescimento de parte aérea (SZILAGYI-ZECCHIN *et al.*, 2015; JANG *et al.*, 2018).

A inoculação com *B. amyloliquefaciens* foi favorável para o diâmetro quando realizada no substrato, independente da geração de sementes. O mesmo foi observado por Barriuso *et al.* (2008). Os autores registraram até 4 mm a mais de crescimento em diâmetro das mudas inoculadas quando comparadas as não inoculadas.

Para o crescimento em diâmetro de mudas inoculadas em pós-emergência as sementes de 1,5 geração foram as que mais incrementaram esse parâmetro. Nessa circunstância, a inoculação não foi um fator de grande influência, a exemplo do observado por Santos *et al.* (2018). Os autores constataram que o diâmetro das mudas de *P. taeda* não sofreram efeitos da inoculação com *B. subtilis*.

Os resultados apresentados no presente trabalho comprovam a superioridade do material genético das sementes de 1,5 geração. De acordo com a Embrapa (2011), testes de progênies foram instalados na década de 80 visando a obtenção de sementes das matrizes de melhor desempenho no que se refere ao diâmetro. Desde então, os Pomares de Sementes por Mudanças (PSM) são os responsáveis pelo fornecimento de sementes com genética superior.

Assim como a altura, o maior crescimento em diâmetro das mudas conseqüentemente pode acarretar em menor tempo destas em viveiro, tornando a questão custo benefício mais atrativa para os produtores, diminuindo até, aproximadamente, quatro semanas a permanência das mudas em viveiro

O acréscimo em massa das mudas foi destacado pela inoculação com *B. amyloliquefaciens*, tanto em substrato como em pós emergência. Resultados similares foram encontrados por Díaz *et al.* (2009) que verificaram que tanto as cepas de *B. subtilis* e *B. amyloliquefaciens* foram capazes de produzir um efeito de enraizamento em mudas de *Eucalyptus globulus*. Além disto, estimularam o desenvolvimento de raízes e incrementaram a biomassa de raízes. Brunetta *et al.* (2010) constataram que a inoculação de *P. taeda* com isolados de *Bacillus* sp. aumentou em 22,45% a massa de parte aérea seca. Santos *et al.* (2018) também obtiveram valores satisfatórios com a inoculação de *B. subtilis* em *P. taeda*, atingindo ganhos de 33,1% para massa de parte aérea seca em relação às mudas não inoculadas. Esses trabalhos confirmam o potencial de espécies do gênero *Bacillus* em serem recomendadas para produção de massa das mudas e, conseqüentemente, melhor crescimento.

Além dos resultados benéficos da inoculação com *Bacillus* comprovados para o *P. taeda*, a inoculação em mudas de *Eucalyptus* também é uma ferramenta viável, conforme estudos publicados por Raasch *et al.* (2013). Os autores observaram que a inoculação com *B. subtilis* resultou em aumento de 53,2% em emissão de raízes;

incrementos na biomassa do sistema radicular e da parte aérea que variaram entre 45,9 e 45,1%, respectivamente.

Para culturas anuais, como o tomate, as rizobactérias também possuem relevante importância. Um exemplo foi constatado por Stavropoulou (2011) que avaliou o efeito de tolerância da planta em conjunto com *B. subtilis*. A inoculação demonstrou uma ação de aumento de 20% das massas de parte aérea e raízes fresca e seca.

Para os valores de IQD encontrados no presente estudo, resultados similares foram encontrados por Santos *et al.* (2018) em mudas de *P. taeda* inoculadas com *B. subtilis*. O IQD foi maior tanto na inoculação no substrato (0,34) como após a emergência das mudas (0,30), com médias superiores a testemunha (0,22). Valores semelhantes para a mesma espécie arbórea estudada também foram obtidos por Rossi *et al.* (2008), com IQD variando de 0,10 a 0,18. Já Brunetta *et al.* (2010) encontraram valores superiores de IQD em mudas de *P. taeda*, onde estes variaram de 0,19 a 0,61.

Os resultados encontrados para o IQD em mudas de *P. taeda* inoculadas com *B. amyloliquefaciens* sugerem que a relação simbiótica, além de influenciar o crescimento inicial, também pode aumentar a chance de sobrevivência destas a campo. Esse fato é de suma importância para diminuir a mortalidade das mudas e, conseqüentemente, o valor de replantio. A inoculação, quando realizada em pós emergência, promoveu 30% a mais de IQD para mudas de *P. taeda*, o que ressalta o potencial de *B. amyloliquefaciens* como promotora de crescimento vegetal.

Grande parte dos resultados encontrados no presente estudo pode estar ligado à superioridade dos genótipos das sementes utilizadas visando características de interesse desde a fase de muda de *P. taeda*. Para Golle *et al.* (2009), o melhoramento genético florestal através de diferentes estratégias é de suma importância para a obtenção do aumento da produtividade.

A importância de sementes geneticamente melhoradas é destacada pelo avanço do melhoramento genético no Brasil. Segundo Grattapaglia *et al.* (2014), pomares de sementes clonais de *P. taeda* de primeira geração resultam em um aumento de 12% no crescimento em volume de madeira. Outros aumentos significativos no ganho genético são descritos pelos autores para os Pomares de

Sementes por Mudas (PMS) fornecedores de sementes de 1,5 geração. Estes pomares em conjunto aos pomares de segunda geração são atualmente as principais fontes de sementes geneticamente superiores no Brasil.

A inoculação de *P. taeda* com espécies de *Bacillus* também pode favorecer a sobrevivência das mudas, pois a rizobactéria também possui potencial de proteção contra estresse ambiental. Esse aspecto não foi avaliado no presente estudo, porém deve ser investigado. Estes *et al.* (2004) demonstraram que mudas de *P. taeda* inoculadas com *B. subtilis* ou *Paenibacillus macerans* expostas a ozônio em diferentes concentrações, obtiveram 65% menor lesão foliar em comparação as não inoculadas.

Hui *et al.* (2018) analisaram o efeito adsorvente do biofilme produzido por *B. amyloliquefaciens* e os resultados indicaram que os íons nitrito foram adsorvidos no biofilme da rizobactéria. Assim, a inoculação pode ser uma importante ferramenta para a remoção de nitritos de águas. Esta condição pode ser aplicada a regiões em que a água de irrigação para as plantas está contaminada, onde a inoculação seria benéfica para estas.

Apesar de crescente a demanda por mudas de *P. taeda* de qualidade a nível mundial, poucos trabalhos científicos estudam técnicas silviculturais destinadas a esse ponto. O presente trabalho sugere a inoculação como um método para incrementar o crescimento das mudas em viveiro, melhorando a qualidade das mesmas. Todavia, mais experimentos devem ser realizados para comprovar a eficácia dessa técnica, tanto em nível nacional como internacional.

6 CONCLUSÕES

A inoculação de sementes de 1,5 geração no substrato não acarreta em ganhos de crescimento e desenvolvimento das mudas de *Pinus*. Entretanto, a inoculação com *B. amyloliquefaciens* em sementes de 2ª geração no substrato resulta em maior crescimento das mudas, com base na altura e produção de massa de parte aérea seca.

A inoculação pós emergência com *B. amyloliquefaciens* em sementes de 1,5 geração afeta positivamente a altura e o diâmetro de mudas de *Pinus*. Além do mais, a rizobactéria ainda fornece ganho altamente relevante no IQD. Uma vez que os dois fatores avaliados apresentam resultados satisfatórios, podem ser adotados como prática silvicultural para o crescimento inicial de mudas de *P. taeda*.

REFERÊNCIAS

- ACR. ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE BASE FLORESTAL PARA O ESTADO DE SANTA CATARINA (ANO BASE 2015). 2016. Disponível em:< http://www.apreflorestas.com.br/wp-content/uploads/2017/03/ACR_Anuario-Estatistico-Florestal-ACR-2016.pdf>. Acesso em: 3 out. 2019.
- ALTAF, M. M.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. A.; GROHMANN, E. *Bacillus* Biofilms and Their Role in Plant Health. [S.l.: s.n.], 2017.
- ARAÚJO, F. F.; CARDOZO, R. B. Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose, em cana-de-açúcar. **Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 12, p. 1283-1288, set. 2011.
- ARAÚJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 456-457, mar. 2008.
- BARRIUSO. J.; SOLANO. B. R.; SANTAMARIA. C.; DAZA. A.; MAÑERO, F. J. G. **Effect of inoculation with putative plant growth-promoting rhizobacteria isolated from *Pinus* spp. On *Pinus pinea* growth, mycorrhization and rhizosphere microbial communities.** Journal of Applied Microbiology. 2008.
- BORGES, R. S.; ALMEIDA, F. J.; SCARANARI, C.; MACHADO, M. A.; CARVALHO, S.A.; COLETTA FILHO, H. D.; AGUILAR-VILDOSO, C. I. Programa IAC/EMBRAPA/CNPq de incentivo à produção e difusão de mudas de citros isentas da clorose variegada dos citros. **Laranja**, [S.l.],v. 21, p. 205-224, abr. 2000.
- BRUNETTA, J. M. F. C.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; GOMES, J. M.; BINOTI, D. B.; FONSECA, E. P. Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras do crescimento de *Pinus taeda*. **Revista Árvore**, v. 34, n. 3, p. 399-406, 2010.
- CHANWAY, C. P. Inoculation of tree roots with PGPR soil bacteria: an emerging technology for reforestation. **Forest Science**, [S.l.], v.43, p.99-112, fev.1997.
- CHANWAY, C.P.; SHISHIDO, M.; NAIRN, J.; JUNGWIRTH, S.; MARKHAM, J.; XIAO, G.; HOLL; F.G. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. **Forest Ecology Management**, [S.l.], v. 133, p. 81-88, jan. 2000.
- DIAS, P. C. **Avaliação genética de *Pinus taeda* propagados via embriogênese somática.** 2013. 102f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2013.
- DÍAZ, K.; VALIENTE, C.; MARTÍNEZ, M.; CASTILLO, M.; SANFUENTES, E. **Root-promoting rhizobacteria in *Eucalyptus globulus* cuttings.** World Journal Biotechnol. 2009.

ELESBÃO, L. E. G. **Performance do Pinus elliottii Engelm. e Pinus taeda L. em áreas arenizadas e degradadas no Oeste do Rio Grande do Sul.** 2011. 155f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

EMBRAPA FLORESTAS. Programa de melhoramento de pinus da Embrapa Florestas. 2011. Disponível em:<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/921231/1/Documento233.pdf>>. Acesso em: 30 jan. 2018.

ENEBAK, S. A.; WEI, G.; KLOEPPER, J. W. Effects of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Loblolly and Slash Pine Seedlings. **Forest Science**, v. 44, n. 1, p. 139-144, 1998.

ESTES, B. L.; ENEBAK, S. A.; CHAPPELKA, A. H. Loblolly pine seedling growth after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria and ozone exposure. **Can J. For. Res.**, v. 34, p. 1410-1416, 2004.

FONSECA, S. M.; RESENDE, M. D. V.; ALFENAS, A. C.; GUIMAEÃES, L. M. S.; ASSIS, T. F.; GRATTAPAGLIA. **Manual prático de melhoramento genético do eucalipto.** Viçosa: UFV, 2010. 200 p.

FOELKEL, E. Produção de sementes geneticamente melhoradas de Pinus. 2011. Disponível em:<[http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=1538&subject=Se mentes&title=Produ%20de%20sementes%20geneticamente%20melhoradas%20de%20Pinus](http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=1538&subject=Se%20mentes&title=Produ%20de%20sementes%20geneticamente%20melhoradas%20de%20Pinus)>. Acesso em: 3 de out. 2019.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A. Dormência em sementes florestais. 2000. Disponível em:<<file:///C:/Users/usaurio/Downloads/Dorm%C3%Aancia%20de%20sementes%20florestais%20-%20Embrapa.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

FREITAS, S.S.; MELLO, A.M.T.; DONZELI, V.P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Ciência do Solo**, Londrina, v. 27, p. 61-70, jul. 2003.

FREITAS, S.S.; PIZZINATTO, M.A. Interações de *Pseudomonas* sp. e *Fusarium oxysporum* sp. *Lycopersici* na rizosfera de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathol**, [S.l.], v. 17, p. 105-112, ago. 1991.

FREITAS, S. S.; VILDOSO, C. I. A. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Ciência do Solo**, [S.l.], v. 28, p. 987-994, set. 2004.

GILMAN, E. F.; WATSON, D. G. **Pinus elliottii**: Fact Sheet ST-463. Flórida: Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 1994. 40 p.

GLICK, B.R. The enhancement of plant growth by freeliving bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, [S.l.], v. 41, p. 109-117, may. 1995.

GOLLE, D. P.; REINIGER, L. R. S.; CURTI, A. R.; BEVILACQUA, C. B. Melhoria florestal: ênfase na aplicação da biotecnologia. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1606-1613, 2009.

GRATTAPAGLIA, D.; DIENER, P. S. A.; SANTOS, G. A. Performance of microsatellites for parentage assignment following mass controlled pollination in a clonal seed orchard of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). **Tree Genetics & Genomes**, v. 10, p. 1631-1643, 2014.

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

GRAÇAS, J. P.; RIBEIRO, C.; COELHO, F. A. A.; CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, P. R. C. Microorganismos estimulantes na agricultura. 2015. Disponível em: <<http://www4.esalq.usp.br/biblioteca/sites/www4.esalq.usp.br/biblioteca/files/publicacoes-a-venda/pdf/SPR59.pdf>>. Acesso em: 30 jan. 2018.

HUI, C.; GUI, X.; SUN, P.; KHAN, R. A.; ZHANG, Q.; LIANG, Y. *et al.* Removal of nitrite from aqueous solution by *Bacillus amyloliquefaciens* biofilm adsorption. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 146-152, 2018.

IBÁ. Árvores plantadas. 2017. Disponível em: <<https://www.iba.org/arvores-plantadas>>. Acesso em: 3 set. 2019.

IPEF. [S.d.]. Disponível em: <<http://www.ipef.br/eventos/2008/ebs2008/11-higa.pdf>>. Acesso em: 4 ago. 2019.

ISIK, F.; GOLDFARB, B.; LEBUDE, A.; LI, B.; MCKEAND, S. Predicted genetic gains and testing efficiency from two loblolly pine clonal trials. **Canadian Journal of Forest Research**, [S.l.], v. 35, n. 7, p. 1754-1766, nov. 2005.

JANG, J. H.; KIM, S. H.; KHAINÉ, M. J.; KWAK, M. J.; LEE, H. K.; LEE, T. Y. *et al.* Physiological changes and growth promotion induced in poplar seedlings by the plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis* JS. **Photosynthetica**, v. 56, n. 4, p. 1188-1203, 2018.

KOKALIS-BURELLE, N.; KLOEPPER, J.W.; REDDY, M.S. Plant growth promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous microorganisms. **Applied Soil Ecology**, Auburn, v. 31, p. 91-100, mar. 2006.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Handbuch der klimatologie**. Berlin, 1930. 400p.

KRONKA, F. J. N.; BERTOLANE, F.; PONCE, R. H. **A cultura do Pinus no Brasil**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 2005. 160p.

MCKEAND, S. E.; JOKELA, E. J.; HUBER, D. A.; BYRAM, T. D.; ALLEN, H. L.; LI, B.; MULLIN, T. J. Performance of improved genotypes of loblolly pine across different soils, climates and silvicultural inputs. **Forestry Ecology Management**, [S.l.], v. 227, n. 1-2, p. 178-184, aug. 2006.

MCKEAND, S.; MULLIN, T.; BYRAM, T.; WHITE, T. Deployment of genetically improved loblolly and slash pines in the South. **Journal Forestry**, [S.l.], v. 101, p. 32-37, nov. 2003.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; FERREIRA, E. M.; SIQUEIRA, L. Efeito de rizobactérias sobre o enraizamento e crescimento de clones de eucalipto em diferentes condições de propagação clonal. **Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 5, p. 813-821, abr. 2007.

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

MARTINEZ, D. T.; RESENDE, M. D. V.; COSTA, R. B.; HIGA, A. R.; SANTOS, G. A.; FIER, I. S. N. Estudo da interação genótipo x ambiente em progênies de *Pinus taeda* por meio da análise de parâmetros genéticos. **Floresta**, Curitiba, v. 42, n. 3, p. 539 - 552, jun. 2012.

MÁSCIA, R. *Bacillus amyloliquefaciens* e *Trichoderma harzianum* no manejo de *Pratylenchus brachyurus* e *Helicotylenchus* sp. na cultura da soja. 2017. 31f. Dissertação (Mestrado em Proteção de plantas) – Instituto Federal Goiano, Goiás, 2017.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; ARAÚJO, F. F. Controle biológico e químico de nematóides em cana de açúcar. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 8, n. especial, p. 6-12, jan.2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. 2009. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf>. Acesso em: 04 ago. 2019.

MOREIRA, A. L. L.; ARAÚJO, F. F. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Árvore**, v. 37, n. 5, p. 933-943, 2013.

MORI, E. S. Instituto de pesquisas e estudos florestais. [s.d.]. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/stecnica/nr16/cap01.pdf>>. Acesso em: 6 mar. 2018.

PALUDZYSZYN FILHO, E. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. 2003. Disponível em:

<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/eucalipto/arvore/CONTAG01_20_2572006132314.html>. Acesso em: 6 mar. 2018.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; FERNANDES, J. S. C.; RESENDE, M. D. V. Avaliação e seleção precoce para crescimento de *Pinus taeda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 12, p. 1719 - 1726, maio. 2002.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; SHIMOYAMA, V. R. S.; MORA, A. L. Seleção precoce para incremento simultâneo do crescimento e da qualidade da madeira em *Pinus taeda* L. [s.d.]. Disponível em:<<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/3111592/1/pag3146.pdf>>. Acesso em: 6 mar. 2018.

PIAO, C.G.; TANG, W.H.; CHEN, Y.S. Study on the biological activity of yield-increasing bacteria. **China Journal of Microbiology**, [S.l.], v. 4, p. 55-62, apr.1992.

PIRES, I. E.; RESENDE, M. D. V.; Silva, R. L.; RESENDE Jr, M. F. R. **Genética florestal**. Viçosa: Arka, 2011. 318 p.

PROBANZA, A.; GARCÍA, J. A.; PALOMINO, M. R.; RAMOS, B.; MAÑERO, F.J.G. *Pinus pinea* L. seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus* (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). *Applied Soil Ecology*. 2002.

RAASCH, L. D.; BONALDO, S. M.; OLIVEIRA, A. A. F. *Bacillus subtilis*: Enraizamento e crescimento de miniestacas de eucalipto em Sinop, norte de Mato Grosso, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, Supplement 1, p. 1446-1457, nov. 2013.

RAVAL, A. A.; DESAI, P. B. Study of the Diverse Bio controlling Potentials of *Bacillus* Species for Plant Growth Promotion. **International Journal of Current Research and Academic Review**, v. 3, n. 12, p. 124-138, 2015.

REIS, E. R. Produção de sementes e mudas florestais. [s.d.]. Disponível em:<http://www.faesb.edu.br/biblioteca/wp-content/uploads/2016/05/livro_producao_de_sementes_e_mudas_florestais.pdf>. Acesso em: 6 mar. 2018.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

ROSSI, V. L.; AMARANTE, C. V. T.; FLEIG, F. D. Crescimento e qualidade de mudas de *Pinus taeda* L. submetidas à poda química de raízes. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 4, p. 435-442, 2008.

SANTOS, R. F.; FLORES, A. V.; BOTELHO, G. R.; PURIN, S. Inoculation of *Pinus taeda* Seedlings with Plant Growth-promoting Rhizobacteria. **Floresta e Ambiente**, [S.l.], v. 25, n. 1, p. 1-7, apr. 2018.

SHIMIZU, J. Y. Introdução. **Pínus na silvicultura brasileira**. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 7 p.

SHISHIDO, M.; LOEB, B. M.; CHANWAY, C. P. External and internal root colonization of lodgepole pine seedlings by two growth-promoting *Bacillus* strains originated from different root microsites. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 8, p. 707-713. 1995.

SILVA, L. D.; HIGA, A. R.; SANTOS, G. A. Silvicultura e melhoramento genético de *Eucalyptus benthamii*. Curitiba: [s.n.], 2012. 150 p.

SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. Microbiota do solo e qualidade ambiental. 2007. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/publicacoes_online/pdf/microbiota.pdf>. Acesso em: 3 out. 2019.

SORIA, S.; ALONSO, R.; BETTUCCI, L. Endophytic bacteria from *Pinus taeda* L. as biocontrol agents of *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell. **Chilean Journal of Agricultural**, v. 72, n. 2, p. 281-284, 2012.

SOUZA, F. B. **Seleção de espécies e procedências de Pinus sp para a região de Assis, Estado de São Paulo**. 2015. 46 p. Dissertação. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Ilha Solteira.

STAVROPOULOU, A. About the action of metabolites of plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis* on plant salt tolerance (I). **Phytopathology and Plant Protection**, v. 44, n. 19, p. 1867-1882, 2011.

SZILAGYI-ZECCHIN, V. J.; MÓGOR, A. F.; RUARO, L.; RÖDER, C. Crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) estimulado pela bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 em cultura orgânica. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 26-33.

THOMAS, R. **Crescimento e nutrição de mudas de Pinus taeda L. no Estado do Rio Grande do Sul**. 2007. 64f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 967 p.

VASQUES, A. G.; NOGUEIRA, A. S.; KIRCHNER, F. F.; BERGER, R. Uma síntese da contribuição do gênero *Pinus* para o desenvolvimento sustentável no sul do Brasil. **Floresta**, Curitiba, v. 37, n. 3, p. 445-450, set./dez. 2007.

VILLACORTA, A. M. G.; MARTIN, T. A.; JOKELA, E. J.; CROPPER JR, W. P.; GEZAN, S. A. Variation in biomass distribution and nutrient content in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) clones having contrasting crown architecture and growth efficiency. **Forest Ecology and Management**, v. 342, p. 84-92.

VONDERWELL, J.D.; ENEBAK, S. A. Differential Effects of Rhizobacterial Strain and Dose on the Ectomycorrhizal Colonization of Loblolly Pine Seedlings. **Forest Science**, v. 46, n. 3, p. 437-441. 2000.

XU, Y. B.; CHEN, M.; ZHANG, Y.; WANG, M.; WANG, Y. HUANG, Q. B. *et al.* The phosphotransferase system gene *ptsI* in the endophytic bacterium *Bacillus cereus* is required for biofilm formation, colonization, and biocontrol against wheat sharp eyespot. **Environmental microbiology**, [S.l.], p. 142-152, may. 2014.

YUAN, J.; RUAN, Y.; WANG, B.; ZHANG, J.; WASEEM, R.; HUANG, Q. *et al.* Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Strain *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6-Enriched Bio-organic Fertilizer Supressed Fusarium Wilt and Promoted the Growth of Banana Plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 3774-3780, 2013.

YUAN, J.; YU, L.; LING, N.; RAZA, W.; SHEN, Q.; HUANG, Q. Plant-growth-promoting traits and antifungal potential of the *Bacillus amyloliquefaciens* YL-25. **Biocontrol Science and Technology**, v. 25, n. 3, p. 276-290, 2013.

ZERIOUTH, H. A. V.; PEREZ, A. G.; ROMERO, D. Surfactin triggers biofilm formation of *Bacillus subtilis* in melon phylloplane and contributes to the biocontrol activity. **Environmental microbiology**, [S.l.], p. 2196-2211, oct.2014.