

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR**

**AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS COMO  
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E  
ENRAIZAMENTO DE MUDAS DE *Eucalyptus* spp.  
SOB DIFERENTES FORMAS DE DISPENSA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ANA CLAUDIA SPASSIN**

**IRATI-PR**

**2014**

**ANA CLAUDIA SPASSIN**

**AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS COMO PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E  
ENRAIZAMENTO DE MUDAS DE *Eucalyptus* spp. SOB DIFERENTES  
FORMAS DE DISPENSA.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, área de concentração em Proteção Florestal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Flávio Augusto de Oliveira Garcia  
Orientador

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daniele Ukan  
Coorientadora

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fabiana S. Bandeira Peres  
Coorientadora

IRATI-PR  
2014

Catálogo na Fonte  
Biblioteca da UNICENTRO

S737a

SPASSIN, Ana Claudia

Avaliação de bactérias como promotoras de crescimento e enraizamento de mudas de *Eucalyptus* spp. sob diferentes formas de dispensa / Ana Claudia Spassin. -- Irati, PR : [s.n], 2014.

94f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências florestais, área de Concentração em Proteção Florestal - Universidade Estadual do Centro-Oeste, PR.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Augusto de Oliveira Garcia

1. ENGENHARIA FLORESTAL. 2. EUCALIPTO. I.GARCIA,  
FLÁVIO AUGUSTO DE OLIVEIRA. II. UNICENTRO. III.TÍTULO

CDD 20<sup>a</sup> ed. 583.42



# Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997


## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS FLORESTAIS


### PARECER

Defesa Nº 64

A Banca Examinadora instituída pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Florestais, do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais, da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Campus de Irati, após arguir a mestrande **Ana Claudia Spassin** em relação ao seu trabalho de dissertação intitulado "AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS COMO PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E ENRAIZAMENTO DE MUDAS DE *Eucalyptus* spp. SOB DIFERENTES FORMAS DE DISPENSA" é de parecer favorável à **APROVAÇÃO** da estudante, habilitando-a ao título de **Mestre em Ciências Florestais**, Área de Concentração em Manejo Sustentável de Recursos Florestais.

Irati-PR, 18 de março de 2014.

  
Dr.<sup>a</sup> **Cacilda Marcia Duarte Rios Faria**  
Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Primeira Examinadora

  
Dr. **Alvaro Figueiredo dos Santos**  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Segundo Examinador

  
Dr. **Flavio Augusto de Oliveira Garcia**  
Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Orientador e Presidente da Banca Examinadora

Home Page: <http://www.unicentro.br>

Campus Santa Cruz: Rua Pres. Zaccarias 875 – Cx. Postal 2010 – Fone: (42) 3521-1030 – FAX: (42) 3521-1090 – CEP 85.015-730 – QUARAPUAVA – PR  
Campus CEDETES: Rua Sílvio Camargo Varela de Sá, 93 – Fone/FAX: (42) 3529-9100 – CEP 85.048-080 – QUARAPUAVA – PR  
Campus de Irati: Pq. 153 – Km 07 – Ruzilândia – Cx. Postal: 21 – Fone: (42) 3421-3030 – FAX: (42) 3421-3357 – CEP 84.500-000 – IRATI – PR

Aos meus pais Lucimara e Sergio, pelo amor incondicional

Aos meus irmãos Giovana e Klaus, pela amizade

Ao Cristiam, pelo amor e companheirismo

Ao Professor Flávio, pelos ensinamentos

Dedico

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por me proporcionar força e perseverança nos momentos mais difíceis.

Ao professor, Dr. Flávio Augusto de Oliveira Garcia, pela orientação, dedicação, amizade, paciência, confiança, incentivo durante todo o período em que trabalhamos juntos na pesquisa e elaboração desta dissertação. A ele, todo o meu respeito e admiração.

Às professoras, Dr<sup>a</sup> Daniele Ukan e Dr<sup>a</sup> Fabiana S. Bandeira Peres, pelo auxílio, co-orientação, pela participação na pré-defesa, por todas as correções, críticas e sugestões dadas.

À Universidade Estadual do Centro-Oeste, por meio da coordenação do programa de Pós-graduação em Ciências Florestais, pela oportunidade e espaço concedido para a realização deste curso e desenvolvimento deste experimento.

À todos os amigos do Laboratório de Proteção Florestal, que ajudaram no preparo das suspensões bacterianas, nas coletas do material vegetal, na montagem dos experimentos e no revezamento de irrigação das mudas no viveiro, principalmente nos feriados e comemorações festivas. Obrigada a todos que proporcionaram momentos mais divertidos e por me fazerem rir em momentos estressantes em dias de trabalho.

As amigas do mestrado e pós-doutorado, que me proporcionaram dias mais felizes e que fizeram os momentos do almoço um instante de descanso, conversas, risadas, trocas de experiências e diversão.

As amigas inseparáveis, Dyandra e Paula, por toda a amizade e companheirismo nos momentos felizes e tristes desta caminhada. À Dyandra, por toda a ajuda nas coletas de brotações e montagem do experimento, pelos momentos em que ficamos até a noite no laboratório desmontando e avaliando os experimentos e por toda felicidade, calma, paciência que ela transmite, além das inúmeras histórias malucas e divertidas que ficarão em minha memória. À Paula, por todos os ensinamentos práticos e teóricos que pacientemente me passou desde o início do trabalho no laboratório, pelas ajudas na montagem e avaliações deste e de outros experimentos, pelo revezamento de regas das mudas no viveiro durante todos os finais de semana desde a implantação do

experimento, por todas as conversas, risadas, angústias, experiências que compartilhamos juntas, pela amizade verdadeira e por ter deixado um pouquinho de você aqui comigo.

Aos meus Pais, Lucimara e Sergio, por todo o incentivo aos estudos, amor, compreensão, ensinamentos, educação, amizade, conselhos, apoio e motivação em todos os momentos.

Aos meus irmãos, Giovana e Klaus, pelos laços que vão além do sangue, eternos amigos e companheiros de uma vida inteira.

Ao Cristiam, por todo companheirismo e pelos momentos que passamos juntos, pelo carinho, amor, compreensão, paciência e por sempre me dar forças e acreditar que eu sou capaz. Por me ajudar com a irrigação das mudas, me levando todos os fins de semana ao viveiro, e por fazer os meus dias mais felizes.

Aos funcionários do viveiro, em especial Ariel, Seu José e Seu Pedro pelos momentos de ajuda e cuidado com as mudas, além do bom humor que sempre expressavam durante os dias de trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa, apoio fundamental para a execução deste trabalho.

À todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para que eu pudesse chegar ao final deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>Lista de Figuras</b> .....	x
<b>Lista de Tabelas</b> .....	xi
<b>RESUMO</b> .....	xvii
<b>ABSTRACT</b> .....	xviii
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 – <i>Eucalyptus</i> sp. e sua importância para o Brasil .....	3
2.2 <i>Eucalyptus grandis</i> .....	4
2.3 - Espécies com possibilidades de cultivo em regiões com ocorrência de geadas ..	6
2.4 – Dificuldade de propagação de espécies recomendadas para as condições de geada .....	7
2.5 – Micro-organismos e seu uso no aumento da produção vegetal .....	8
2.5.1 - Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (PGPR).....	9
2.5.2 - Residentes de Filoplano .....	10
2.6 Uso de micro-organismos na área florestal.....	12
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
3.1- Cultivo e preparo da suspensão de propágulos dos micro-organismos .....	14
3.2 - Estabelecimento do minijardim clonal .....	14
3.3 – Coleta de brotações e preparo das miniestacas .....	16
3.4 - Manejo e Fertilização das miniestacas .....	18
3.5- Variáveis avaliadas .....	19
3.6- Procedimentos estatísticos.....	20
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	21
4.1 - Primeiro experimento .....	21
4.2 - Segundo experimento .....	29
4.3 - Terceiro experimento.....	33
4.4 - Quarto experimento .....	40
4.5 - Quinto experimento .....	45
4.6 - Sexto experimento .....	52
4.7 - Sétimo experimento.....	62
4.8 Área abaixo da curva do progresso da sobrevivência e enraizamento.....	74



4.9 Área abaixo da curva do progresso da altura, comprimento de raiz, peso seco e fresco de parte aérea e raiz de miniestacas de <i>Eucalyptus</i> spp.....	80
5. CONCLUSÕES .....	85
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	86

## Lista de Figuras

- Figura 1.** Processo de formação do minijardim clonal. Transplântio das mudas em espaçamento de 10 cm x 10 cm em vasos contendo areia grossa (A). Muda de *E. dunnii* podada a uma altura de 10 cm da base para a formação da minicepa (B). Muda de *E. dunnii* emitindo as primeiras brotações após a poda para a formação das minicepas (C). Minicepas formadas (D). ..... 15
- Figura 2.** Aplicação dos isolados bacterianos utilizando três métodos de dispensa. Método de Kijima adaptado (A), Pulverização sobre o filoplano das miniestacas (B). Utilização dos dois métodos já supracitados (C). ..... 18
- Figura 3.** Miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* coletadas e colocadas para enraizar em casa de vegetação (A); Miniestaca de *E. grandis* em área de pleno sol apresentando aspecto de seca com aparência queimada ocasionado pela ocorrência da geada (B). Fonte: (O autor, 2013) ..... 31
- Figura 4.** Minicepas de *E. grandis* com baixa emissão de brotação após inverno rigoroso (A). Minicepas de *E. dunnii* (B) e *E. viminalis* (C) com brotações suficientes e aptas para a coleta e estaqueamento das miniestacas no mês de setembro. .... 47

## Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Composição da solução nutritiva básica para a fertirrigação do minijardim clonal de *Eucalyptus* spp. em leito de areia. .... 16
- Tabela 2.** Período de estaqueamento e de avaliação de cada experimento instalado. .... 19
- Tabela 3.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias após estaqueamento, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) aos 60 dias após estaqueamento, sobrevivência (SOBSPS120) e enraizamento (ENRSPS120) na saída da área de pleno sol aos 120 dias após estaqueamento. .... 21
- Tabela 4.** Sobrevivência de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* tratados com diferentes formas de aplicação na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), 30 dias após o estaqueamento. .... 22
- Tabela 5.** Percentual de sobrevivência de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* na saída da casa de sombra (SOBSCS60), 60 dias após o estaqueamento. .... 22
- Tabela 6.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com os métodos de aplicação em que as miniestacas foram submetidas, para a sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) 60 dias após o estaqueamento. .... 23
- Tabela 7.** Percentual de sobrevivência (SOBSPS120) e enraizamento (ENRSPS120), de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* tratados com quatro isolados bacterianos na saída da área de pleno sol, 120 dias após o estaqueamento. .... 25
- Tabela 8.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco de parte aérea (PAfresca), peso seco de parte aérea (PAseca), peso fresco de raiz (Rfresca) e peso seco de raiz (Rseca) de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* com 120 dias de idade. .... 26
- Tabela 9.** Altura, comprimento de raiz, pesos frescos e secos da parte aérea e raiz de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* submetidos a presença ou ausência do isolado bacteriano, na saída da área de pleno sol, 120 dias após o estaqueamento. .... 27
- Tabela 10.** Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), para as variáveis, comprimento de raiz (Craiz) e peso fresco de raiz (Rfresca), na saída da área de pleno sol, 120 dias após o estaqueamento. .... 29
- Tabela 11.** Temperaturas mínimas registradas entre os dias de 25 de maio de 2013 até o dia 25 de Julho de 2013 na região de Irati, PR. .... 30

<b>Tabela 12.</b> Sobrevivência das miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> na saída da casa de vegetação (SOBSCV30) 30 dias após ao estaqueamento e sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) 60 dias após o estaqueamento. ....	32
<b>Tabela 13.</b> Percentual de sobrevivência das miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade e saída da casa de sombra aos 60 dias de idade. ....	32
<b>Tabela 14.</b> Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) aos 60 dias de idade, sobrevivência (SOBSPS120) e enraizamento (ENRSPS120) na saída da área de pleno sol aos 120 dias de idade em função das fontes de variação. ....	34
<b>Tabela 15.</b> Percentual de sobrevivência na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), 30 dias após o estaqueamento e sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60), 60 dias após o estaqueamento em relação às espécies de <i>Eucalyptus</i> sp. utilizadas. ....	35
<b>Tabela 16.</b> Percentual de sobrevivência das miniestacas na saída da área de pleno sol (SOBSPL120), 120 dias após o estaqueamento, em relação às espécies utilizadas e a forma como os isolados foram aplicados. ....	36
<b>Tabela 17.</b> Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> para a variável enraizamento (ENRSPS120) na saída da área de pleno sol 120 dias após o estaqueamento. ....	36
<b>Tabela 18.</b> Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco de parte aérea (PAfresca), peso seco de parte aérea (PAseca), peso fresco de raiz (Rfresca) e peso seco de raiz (Rseca) de miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> , 120 dias após o estaqueamento. ....	38
<b>Tabela 19.</b> Altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco (PAfresca) e seco (PAseca) de parte aérea e raiz das miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> , 120 dias após o estaqueamento. ....	38
<b>Tabela 20.</b> Altura das miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> em função dos métodos de aplicação dos isolados, 120 dias após o estaqueamento. ....	39
<b>Tabela 21.</b> Interação entre as miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> com os métodos de aplicação as quais foram submetidos, para a variável peso fresco de raiz, 120 dias após o estaqueamento. ....	40
<b>Tabela 22.</b> Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) aos 60 dias de idade, sobrevivência	

(SOBSPS120) e enraizamento (ENRSPS120) na saída da área de pleno sol aos 120 dias de idade..... 41

**Tabela 23.** Percentual de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de sombra (SOBSCS60) e sobrevivência (SOBSPL120) e enraizamento (ENRSPL120) na saída da área de pleno sol aos 120 dias de idade, em relação às espécies e isolados utilizados..... 43

**Tabela 24.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco de parte aérea (PAfresca), peso seco de parte aérea (PAseca), peso fresco de raiz (Rfresca) e peso seco de raiz (Rseca) de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis*, 120 dias após o estaqueamento..... 44

**Tabela 25.** Altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz) e peso seco de raiz (Rseca) das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis*, 120 dias após o estaqueamento. .... 45

**Tabela 26.** Número de brotações aptas para a coleta de cada minicepa/espécie para o mês de Setembro de 2013, representado ao final o número médio de brotações aptas para a coleta das espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis*..... 46

**Tabela 27.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminialis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS50) aos 50 dias de idade, sobrevivência (SOBSPS90) e enraizamento (ENRSPS90) na saída da área de pleno sol aos 90 dias de idade em relação as fontes de variação..... 48

**Tabela 28.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii* e *E. viminialis*, na saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, na saída da casa de sombra (SOBSCS50) aos 60 dias de idade e enraizamento (ENRSPL90) na saída da área de pleno sol 90 dias após o estaqueamento. .... 49

**Tabela 29.** Sobrevivência das miniestacas na saída da casa de casa de sombra (SOBSCS50), em relação aos isolados bacterianos utilizados e o tratamento controle, 50 dias após o estaqueamento..... 50

**Tabela 30.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco de parte aérea (PAfresca), peso seco de parte aérea (PAseca), peso fresco de raiz (Rfresca) e peso seco de raiz (Rseca) de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis*, 90 dias após o estaqueamento..... 51

**Tabela 31.** Peso fresco de parte aérea (PAfresca) e raiz (Rfresca) de miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminialis*, 90 dias após o estaqueamento. .... 51

**Tabela 32.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS50) aos 50 dias de idade, sobrevivência

(SOBSPS90) e enraizamento (ENRSPS90) na saída da área de pleno sol aos 90 dias de idade após o estaqueamento..... 53

**Tabela 33.** Interação entre os métodos de aplicação dos isolados em relação às espécies de *Eucalyptus* sp. testadas, para a variável sobrevivência na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), 30 dias após o estaqueamento. .... 54

**Tabela 34.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com os métodos de aplicação em que as miniestacas foram submetidas, na sobrevivência na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), 30 dias após o estaqueamento e na saída da casa de sombra (SOBSCS50), 50 dias após o estaqueamento..... 55

**Tabela 35.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, na saída da casa de sombra aos 50 dias de idade (SOBSCS50) e enraizamento na saída da área de pleno sol 90 dias após o estaqueamento (ENRSPS90). ..... 57

**Tabela 36.** Percentual de miniestacas vivas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* na sobrevivência na saída da aérea de pleno sol (SOBSPS90), 90 dias após o estaqueamento. .... 58

**Tabela 37.** Percentual de sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* na saída da área de pleno sol aos 90 dias após o estaqueamento (SOBSPS90) em relação aos métodos de aplicação dos isolados e o tratamento controle. .... 59

**Tabela 38.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura, comprimento de raiz, peso fresco e seco de parte aérea e raiz de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 90 dias após o estaqueamento. .... 60

**Tabela 39.** Altura, comprimento de raiz e peso fresco e seco de parte aérea e raiz de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 90 dias após o estaqueamento..... 60

**Tabela 40.** Peso fresco e seco da parte aérea e peso seco de raiz, em função dos isolados utilizados, 90 dias após o estaqueamento..... 61

**Tabela 41.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS50) aos 50 dias de idade, sobrevivência (SOBSPS90) e enraizamento (ENRPS90) na saída da área de pleno sol aos 90 dias de idade após o estaqueamento..... 63

**Tabela 42.** Interação entre os métodos de aplicação dos isolados com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, na sobrevivência na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade (SOBSCV30)..... 64

**Tabela 43.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, na sobrevivência na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade (SOBSCV30)..... 64

<b>Tabela 44.</b> Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), para a sobrevivência na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade (SOBSCV30). .....	65
<b>Tabela 45.</b> Interação entre os métodos de aplicação dos isolados com as espécies de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> , para sobrevivência na saída da casa sombra aos 50 dias de idade (SOBSCS50). .....	66
<b>Tabela 46.</b> Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> , na saída da casa de sombra aos 50 dias de idade (SOBSCS50). .....	67
<b>Tabela 47.</b> Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), na saída da casa de sombra aos 50 dias de idade (SOBSCS50). .....	68
<b>Tabela 48.</b> Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> , para sobrevivência (SOBSPS90) na saída da área de pleno sol, 90 dias após o estaqueamento. ....	69
<b>Tabela 49.</b> Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), para a sobrevivência (SOBSPS90) na saída da área de pleno sol, 90 dias após o estaqueamento. ....	70
<b>Tabela 50.</b> Percentual de enraizamento das miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> , na saída da área de pleno sol aos 90 dias após o estaqueamento (ENRSPS90). ....	70
<b>Tabela 51.</b> Enraizamento das miniestacas de <i>Eucalyptus</i> sp. em relação aos isolados bacterianos e a testemunha, na saída da área de pleno sol (ENRSPS90), 90 dias após o estaqueamento. ....	71
<b>Tabela 52.</b> Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura, comprimento de raiz, massa seca e fresca de parte aérea e raiz de miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> , 90 dias após o estaqueamento. ....	71
<b>Tabela 53.</b> Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> , para a variável altura, 90 dias após o estaqueamento. ....	72
<b>Tabela 54.</b> Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), para a variável altura, 90 dias após o estaqueamento. ....	73
<b>Tabela 55.</b> Comprimento de raiz, peso fresco e seco de parte aérea raiz de miniestacas de <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. viminialis</i> , 90 dias após o estaqueamento. ....	74
<b>Tabela 56.</b> Análise de variância sobre a área abaixo da curva de progresso da sobrevivência e enraizamento de miniestacas, em função dos diferentes isolados testados, da forma como os mesmo foram aplicados e das diferentes espécies de <i>Eucalyptus</i> spp. utilizadas. ....	75

<b>Tabela 57.</b> Área abaixo da curva de progresso da sobrevivência de miniestacas de <i>Eucalyptus</i> spp. na saída da casa de vegetação (AACPSCV), em função dos isolados utilizados e a forma como os mesmos foram aplicados.....	76
<b>Tabela 58.</b> Área abaixo da curva de progresso da sobrevivência de miniestacas na saída da casa de sombra (AACPSCS), em função das espécies de <i>Eucalyptus</i> spp. utilizadas e dos métodos utilizados para a aplicação dos isolados.....	78
<b>Tabela 59.</b> Área abaixo da curva de progresso da sobrevivência das miniestacas na saída da área de pleno sol (AACPSPL), em função das espécies de <i>Eucalyptus</i> spp. e dos isolados utilizados.....	79
<b>Tabela 60.</b> Interação espécie de <i>Eucalyptus</i> spp. e isolados bacterianos utilizados, para a área abaixo da curva de progresso do enraizamento das miniestacas na saída da área de pleno sol (AACPSENR).....	80
<b>Tabela 61.</b> Análise de variância sobre a área abaixo da curva de progresso da altura, comprimento de raiz, peso seco e fresco de parte aérea e raiz das miniestacas, em função dos diferentes isolados testados, da forma como os mesmos foram aplicados e das diferentes espécies de <i>Eucalyptus</i> spp. utilizadas.....	81
<b>Tabela 62.</b> Área abaixo da curva de progresso da altura das miniestacas (AACPH), em função das espécies de <i>Eucalyptus</i> spp. e dos isolados utilizados.....	82
<b>Tabela 63.</b> Interação espécie de <i>Eucalyptus</i> spp. e isolados bacterianos utilizados, para a área abaixo da curva de progresso de comprimento de raiz das miniestacas.....	83
<b>Tabela 64.</b> Área abaixo da curva de progresso de peso fresco de parte aérea (AACPPUA) e de raiz (AACPPUR), e peso seco de parte aérea (AACPPSA) e raiz (AACPPSR) das miniestacas, em função das espécies de <i>Eucalyptus</i> spp. utilizadas.....	84



## RESUMO

Ana Claudia Spassin. Prospecção de bactérias como promotoras de crescimento e enraizamento de mudas de eucalipto sob diferentes formas de dispensa.

A utilização de micro-organismos benéficos como promotores de crescimento e enraizamento de plantas tem se mostrado uma excelente alternativa visando estimular o aumento da produtividade e desenvolvimento do eucalipto. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar o potencial de isolados de rizobactérias e residentes do filoplano na propagação vegetativa de *Eucalyptus dunnii*, *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus viminalis* com o propósito de se obter um isolado que promova o crescimento e, ou o enraizamento de miniestacas de alguma das espécies utilizadas no estudo. O experimento foi conduzido no laboratório de Proteção Florestal e no Viveiro do Departamento de Engenharia Florestal da UNICENTRO. Para a formação do minijardim clonal as espécies foram cultivadas em mini-canaletões em leito de areia, sob regime de podas seletivas visando à formação das minicepas. As miniestacas selecionadas foram coletadas no período matutino e submetidas a três métodos diferentes de dispensa de bactérias: imersão das miniestacas em suspensão bacteriana antes do plantio, pulverização de suspensão bacteriana sobre o filoplano das miniestacas e a utilização em conjunto dos dois métodos citados. Estas foram estaqueadas em casa de vegetação e, após 30 dias, foram transferidas para a casa de sombra onde permaneceram entre 20 a 30 dias. Em seguida as mudas foram acondicionadas em área de pleno sol para a rustificação. Nos sete experimentos conduzidos, avaliou-se a sobrevivência e enraizamento, altura, peso seco e fresco de parte aérea e raiz das miniestacas. Os resultados obtidos demonstraram que os isolados bacterianos testados apresentaram alta variabilidade na resposta de promoção de crescimento e enraizamento das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, não sendo observado efeito pronunciado no modo de aplicação devido à ausência de efeito promotor dos isolados bacterianos utilizados.

**Palavras-chave:** Enraizamento, Isolados bacterianos, Miniestacas, Sobrevivência.

## ABSTRACT

Ana Claudia Spassin. Prospection of plant growth promotion bacteria and rooting of eucalypt seedling under different forms of deliver.

The use of beneficial micro-organisms as growth and rooting promoters of plants has proven to be an excellent alternative to stimulate increased productivity and development of the plant. Thus, the aim of this study was to evaluate the potential of rhizobacteria isolates and phylloplane residentes in the vegetative propagation of *Eucalyptus dunnii*, *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus viminalis* with the purpose of obtaining an isolate that promotes growth and either the rooting of cuttings in some of the species used in the study. The experiment was conducted in the laboratory of Forest Protection and at the Nursery of the Department of Forest Engineering - UNICENTRO. For the formation of clonal minigarden, the species were grown in mini gutters in sand, under selective pruning for shaping of the ministumps. Selected cuttings were collected in the morning and submitted to three different methods of bacteria deliver: immersion in bacterial suspension of cuttings before planting, spraying bacterial suspension on the phylloplane of the cuttings and the use together of the two mentioned methods. These were sown in greenhouse and, after 30 days, were transferred to shade house where they remained between 20 to 30 days. Then the seedlings were placed in full sun area for hardening. In the experiment, we evaluated the survival and rooting, height, dry and fresh weight of shoot and root the cuttings. The results obtained showed that the bacterial isolates tested demonstrated high variability in response to growth promoting and rooting of the minicuttings of *E. dunnii*, *E. grandis* and *E. viminalis*, not being noticed pronounced effect on the mode of application due to the absence of the promoting effect of the bacterial isolates used.

**Key words:** Rooting, Bacterial isolates, Minicuttings, Survival.

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente a eucaliptocultura representa o principal segmento do setor silvicultural brasileiro, com mais de cinco milhões de hectares de florestas plantadas. O setor florestal brasileiro colabora diretamente nos âmbitos econômicos e sociais do nosso País, contribuindo para a geração de emprego, educação, inclusão social e preservação do meio ambiente (ABRAF, 2012).

A utilização do eucalipto está relacionada principalmente ao rápido crescimento e fácil adaptação climática que as espécies cultivadas apresentam. Além disso, a madeira pode ser utilizada em vários segmentos da indústria, como para a produção de celulose, carvão vegetal, óleos essenciais, madeira para serraria entre outros (ABRAF, 2012).

Os grandes avanços das áreas plantadas e o sucesso de produção com os plantios de *Eucalyptus* spp. foram conquistados através do melhoramento genético o qual permitiu obter indivíduos com características geneticamente superiores e com qualidade para a produção de madeira para diversos fins.

No Brasil, a propagação de mudas de eucalipto através da clonagem é atualmente realizada pela maioria das empresas florestais pela técnica de miniestaquia (ALFENAS *et al.*, 2009). Esta técnica se mostrou altamente vantajosa e possibilitou a clonagem comercial de genótipos de difícil enraizamento, que devido a essa característica, muitas vezes tinha o seu plantio inviabilizado pelo número reduzido de mudas obtidas (ASSIS, 1997).

Contudo, ainda há espécies, progênies e clones de *Eucalyptus* spp. que mesmo quando propagados via miniestaquia apresentam-se recalcitrantes, interferindo assim negativamente na produção de mudas desses materiais genéticos. Sendo assim, técnicas alternativas que visam o aumento do percentual de enraizamento das miniestacas e o crescimento das plantas, fundamentais para melhorar a qualidade das mudas e reduzir os custos de produção.

Neste sentido, sabe-se que o uso de algumas bactérias, dentre as quais se incluem as rizobactérias e as bactérias residentes do filoplano, ganham destaque, pois estas podem propiciar o desenvolvimento e produção de forma mais rápida e com menores custos.

As bactérias que exercem efeito benéfico no desenvolvimento de plantas e são colonizadoras do sistema radicular são denominadas de rizobactérias promotoras de

crescimento de plantas ou PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (KLOEPPER e SCHROTH, 1978). Os efeitos benéficos das PGPR's em mudas de *Eucalyptus* sp., têm sido amplamente relatados (MAFIA *et al.*, 2005; MAFIA, 2007A; TEIXEIRA *et al.*, 2007), assim como o controle biológico de doenças (LADEIRA, 2004).

As bactérias residentes do filoplano também possuem ação como agentes de controle biológico (FERRAZ, 2008) e mais recentemente tem sido observado o seu efeito como promotores do crescimento de plantas (GARCIA, 2008). Mediante ao elevado número de bactérias que vivem na parte aérea das plantas, alguns estudos vem sendo desenvolvidos como o intuito de utilizá-las no crescimento e desenvolvimento das mesmas.

No sul do Brasil, as espécies de *E. benthamii*, *E. dunnii* e *E. viminalis* apresentam alto potencial de cultivo em regiões frias com ocorrência de geada, devido a maior adaptabilidade a climas rigorosos, no entanto, estas espécies apresentam baixos percentuais de enraizamento o que limita a propagação vegetativa das mesmas. Desta forma, o uso de rizobactérias e bactérias residentes de filoplano podem ser uma ferramenta importante para promover a melhoria do enraizamento de miniestacas de espécies de *Eucalyptus* que apresentem recalcitrância, à clonagem.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de isolados de rizobactérias e bactérias residentes de filoplano sob três formas de dispensa na promoção de crescimento e enraizamento de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 – *Eucalyptus* sp. e sua importância para o Brasil

Espécies do gênero *Eucalyptus* foram introduzidas no Brasil a partir do século XIX, sendo na época, utilizadas somente para fins paisagísticos, sem nenhuma importância comercial. Segundo Martini (2004), é difícil precisar a data da introdução do eucalipto em nosso país, devido aos registros de entrada das primeiras sementes em épocas distintas.

Contudo, estudos passaram a ser feitos por Edmundo Navarro de Andrade em 1904 com a finalidade de obter matéria-prima destinada à produção de lenha e dormentes para a Companhia Paulista de Estradas de Ferro. Em seus estudos, Navarro de Andrade comparou várias essências florestais naturais do Brasil com outras exóticas, entre elas *Eucalyptus globulus* (MARTINI, 2004).

Os resultados dos experimentos realizados com essa espécie de *Eucalyptus* sobressaíram-se de tal forma em relação às demais essências, que se iniciou o plantio em maior escala com essa espécie (ABRAF, 2005). As pesquisas desenvolvidas por Navarro de Andrade proporcionaram a realização dos primeiros reflorestamentos utilizando *Eucalyptus* sp., tendo como efeito positivo, a diminuição do desmatamento, resultando na conservação de florestas nativas (MARTINI, 2004).

A partir de 1966, com a lei dos incentivos fiscais ao reflorestamento, os plantios com *Eucalyptus* sp. expandiram-se por todo o território nacional, principalmente no estado de São Paulo, em que produtores e fazendeiros passaram a utilizar espécies de *Eucalyptus* como um tipo de *commodity*. Juntamente com *Eucalyptus* spp., também foram testadas e plantadas espécies do gênero *Pinus*, sendo utilizadas principalmente *P. elliotti* e *P. taeda*, em que a área plantada com as espécies dos dois gêneros atingiu 5,3 milhões de hectares (VIANA, 2004).

O grande avanço de áreas plantadas utilizando espécies de *Eucalyptus* foi impulsionado pela alta produtividade, rápido crescimento, ampla diversidade de espécies do gênero adaptáveis às várias regiões do Brasil e devido a sua aplicabilidade em diferentes processos do setor florestal (CAMPOS *et al.*, 2009).

Atualmente o Brasil conta com uma área de aproximadamente 6,6 milhões de ha plantados com as duas espécies, sendo a área cultivada com *Eucalyptus* spp. de 5,1 milhões de ha correspondendo a 76,6 % do total da área plantada com as respectivas espécies (ABRAF, 2013).

O gênero *Eucalyptus* spp., originário da Austrália e da região sudeste Asiática, possui mais de 600 espécies descritas, algumas dessas, incluindo seus híbridos, são de grande importância para a economia florestal mundial (QUIQUI *et al.*, 2001). A introdução de espécies deste gênero no Brasil só tornou-se possível para fins comerciais, devido à fácil adaptabilidade a diferentes condições edafoclimáticas e a semelhança de latitudes tropicais e subtropicais entre Brasil e o centro de diversidade de *Eucalyptus* spp. (SILVA, 1983).

No Brasil as espécies mais cultivadas são: *E. camaldulensis*, *E. cloeziana*, *E. dunnii*, *E. grandis*, *E. globulus*, *E. paniculata*, *E. pilularis*, *E. saligna*, *E. staigeriana* e *E. urophylla*, e híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis* (WILCKEN *et al.*, 2008).

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

## **2.2 *Eucalyptus grandis***

O início de programas de clonagem na década de 70 tornou-se fundamental para o desenvolvimento de novas tecnologias, as quais transformaram o cenário florestal brasileiro, proporcionando a obtenção de plantios homogêneos e resistentes à incidência de cancro (ALFENAS *et al.*, 2009). A seleção de espécies resistentes e com características desejáveis passou a ser realizada em um processo mais rigoroso e devido às ótimas características de *E. grandis*. A espécie recebeu uma posição de destaque dentro do gênero, sendo atualmente a mais plantada no Brasil (SOUZA, 2004) e muito

usada na obtenção de híbridos e para multiplicação clonal de árvores selecionadas (MORA e GARCIA, 2000).

Por se tratar de uma espécie com ocorrência natural em regiões mais quentes, mesmo com os avanços tecnológicos, os plantios de *E. grandis* apresentam certas limitações quanto ao seu uso em áreas tropicais úmidas e regiões que apresentam temperaturas mais baixas com ocorrência de geada. A alta susceptibilidade ao cancro do eucalipto e baixa resistência da espécie em áreas frias restringe seu uso em determinadas locais gerando barreiras ao uso extensivo desta espécie (BRONDANI, 2008). Como alternativa, a hibridação de espécies selecionadas com características desejáveis passou a ser aplicada, e o híbrido de *E. urophylla* x *E. grandis* foi o grande incentivador ao crescimento do setor florestal no Brasil (LOPES, 2008), sendo estas as espécies mais utilizadas em programas de hibridação controlada, a qual tem como objetivo a união de boas características na geração segregante (ABAD, 2000).

A seleção do material vegetativo para formação de um plantio clonal de boa qualidade exige considerar vários aspectos ligados à planta e às condições ambientais, além do aspecto silvicultural o qual retrata o potencial de enraizamento do material selecionado, sendo este um fator muito importante (MOURA e GUIMARÃES, 2003) visto que o enraizamento de alguns clones é tido como baixo (ALFENAS *et al.*, 2009) havendo ainda ampla variação na capacidade de enraizamento entre espécies e clones de eucalipto (MELO *et al.*, 2011).

Wendling *et al.* (2000 b) observaram a discrepância de enraizamento de cinco clones híbridos de *Eucalyptus* spp., os quais apresentaram variação entre 17,2 e 67,2% no enraizamento, sendo os clones que apresentaram o melhor desempenho eram híbridos de *E. grandis*.

Em estudo realizado por Brito *et al.* (2012) com a finalidade de avaliar a sobrevivência e o enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus* spp. em diferentes tipos de substratos, observaram que estacas de *E. grandis* tinham um percentual de 70% de sobrevivência em vermiculita e enraizamento de 53%. O híbrido de *E. grandis* x *E. urophylla* apresentou padrão superior, sendo 87,5% de sobrevivência e 84,2%, de enraizamento, demonstrando que ao hibridar *E. grandis* o potencial da espécie pode ser melhorado e que esta possui variabilidade intraespecífica, implicando em fenótipos diferentes de acordo com as interações genótipo por ambientes.

As dificuldades e variações no processo de enraizamento do material genético são determinadas por diversos fatores, estando o sucesso do enraizamento relacionado a

interação complexa entre ambiente, planta e seus fatores endógenos (OLIVEIRA *et al.*, 2001). Algumas espécies de eucalipto, como *E. grandis* e seus híbridos interespecíficos tem demonstrado um alto percentual de enraizamento quando comparado com outras espécies, podendo atingir até 90% no enraizamento (FREITAS *et al.*, 2009). Por apresentar melhores resultados em relação ao enraizamento, a espécie de *E. grandis* pode ser utilizada como parâmetro comparativo em contrapartida as espécies que apresentam baixo percentual e, ou recalcitrância ao enraizamento.

### **2.3 - Espécies com possibilidades de cultivo em regiões com ocorrência de geadas**

O sucesso dos plantios florestais com eucalipto exige adequadas decisões que devem ser tomadas antes mesmo do estabelecimento do reflorestamento. As condições climáticas nas quais a espécie se desenvolve naturalmente é um dos principais fatores a serem considerados para a escolha adequada da espécie ou espécies a serem implantadas em uma determinada região, visando o desenvolvimento e o máximo êxito do plantio (PALUDZYSZYN FILHO *et al.*, 2006).

Segundo Paludzyszyn Filho (2003), em relação às condições climáticas, o Brasil possui duas regiões: tropical e subtropical. A região tropical abrange os estados do Centro-Oeste, Nordeste, Norte e Sudeste, não estando sujeito a fortes e recorrentes geadas. A região subtropical inclui os estados do Sul e parte do Mato Grosso do Sul, sendo caracterizado por verão intenso e inverno rigoroso, com ocorrência de geadas severas em diversas localidades.

As diferentes condições climáticas de cada região do país propiciam o desenvolvimento e o estabelecimento de determinadas espécies, podendo restringir o cultivo de algumas destas em determinados locais. Em regiões subtropicais, sujeitas a geadas severas e freqüentes, tem sido recomendado o cultivo de *E. dunnii* e *E. benthamii*, devido a resiliência destas espécies quando expostas às condições adversas supramencionadas (PALUDZYSZYN FILHO, 2010). Outra espécie potencial para o plantio em locais com inverno rigoroso é *E. viminalis*. Essa espécie é considerada altamente resistente às injúrias e danos causados por temperaturas extremamente baixas, apresentando boa capacidade de regeneração por brotação de cepas, com seu desenvolvimento prejudicado em locais com longo período de seca (FERREIRA, 1979).



Outras espécies de *Eucalyptus* foram testadas para serem cultivadas nas localidades de ocorrência de geadas na região sul, todavia não tiveram incremento satisfatório ou apresentaram dificuldade de adaptação devido a divergência de temperatura, solo e clima quando comparados ao seu local de origem (PALUDZYSZYN FILHO *et al.*, 2006)

Desta forma há grande interesse em *E. dunnii*, *E. benthamii* e *E. viminalis*, devido à capacidade de sobreviver as geadas, ao rápido crescimento, boa forma de fuste, homogeneidade apresentada nos talhões e capacidade de rebrota, sendo que estas características que tem tornado estas espécies promissoras para reflorestamentos no sul do Brasil (FERREIRA, 1979; PALUDZYSZYN FILHO *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2007; PALUDZYSZYN FILHO, 2010)

#### **2.4 – Dificuldade de propagação de espécies recomendadas para as condições de geada**

Devido a sensibilidade de diversas espécies florestais à geadas severas, a produção de *Eucalyptus* spp. torna-se inviável para algumas áreas da região Sul do Brasil. No entanto, a seleção de materiais desejáveis para essas condições, é considerada a alternativa ideal para o estabelecimento das florestas em locais com ocorrência de geadas (IPEF, 1976).

A geada é um fenômeno natural que ocorre a uma temperatura do ar de 0°C ou inferior a esta, podendo ocasionar injúrias nas plantas ou mesmo a sua morte, devido a formação de cristais de gelo nos espaços inter e intracelulares (AGRIOS, 2005), o que leva à perdas para o setor florestal, dependendo da intensidade do dano e da suscetibilidade das plantas (SILVA *et al.*, 2009).

Dependendo da espécie, idade, estação do ano e o estágio de aclimação, as diferenças na resistência entre os vários órgãos e tecidos da planta podem resultar em diferentes mecanismos de congelamento, afetando ou não a planta, mesmo aquelas que apresentam níveis de resistência à geada (HIGA, 1998).

Os sintomas de geada em árvores de eucalipto são variáveis como: queima de ponteiros, morte da copa e trincamento de casca em ramos mais finos. Pode-se ainda observar a queima ou bronzeamento das folhas, sendo estes sintomas considerados como reflexos (FERREIRA, 1989; ALFENAS *et al.*, 2009). Essas diversas injúrias

podem restringir o potencial de crescimento das plantas, ou ainda, inviabilizar a formação de povoamentos comerciais (SELLE e VUADEN, 2007).

O sucesso do plantio em áreas com ocorrência de geada é dependente da seleção e do conhecimento das características morfológicas e fisiológicas da espécie, utilizando estratégias para a implantação das mudas e adoção de um manejo silvicultural diferenciado através da modificação da paisagem e de espaçamentos para mitigar as perdas causadas pelo fenômeno (STAHL, 2010).

## **2.5 – Micro-organismos e seu uso no aumento da produção vegetal**

A utilização de micro-organismos benéficos, principalmente bactérias, visando aumentar a produtividade das plantações é uma prática já realizada há séculos para várias culturas. Civilizações passadas como os egípcios e os maias já utilizavam técnicas empíricas que proporcionavam indiretamente o crescimento de plantas através do controle biológico de fitopatógenos (ROMEIRO, 2007).

Há séculos os agricultores utilizavam técnicas de inoculação de micro-organismos em sementes, de forma intuitiva. E percebiam que ao adicionar ao solo comum um solo onde leguminosas haviam sido cultivadas ocorria o aumento da produtividade (ROMEIRO, 2007).

A invenção do microscópio pelo holandês Anton van Leeuwenhoek e pelo inglês Robert Hooke há mais de 400 anos foi um marco muito importante na história, pois permitiu a percepção da existência dos micro-organismos nos mais diversos locais e condições, proporcionando aos cientistas a compreensão de suas estruturas, o meio pelo qual se reproduziam e os efeitos que os mesmo causavam nas plantas, levando a avanços científicos e quebra de paradigmas como o fim da teoria da geração espontânea (ROMEIRO, 2007). Segundo Lindow e Leveau (2002) o surgimento de novas ferramentas permitiu uma melhor compreensão do processo de desenvolvimento de doenças, possibilitando assim, a implementação de novos métodos de controle.

O ambiente em que a planta se desenvolve e cresce é composto por uma vasta microbiota, podendo esta ser deletéria, neutra ou benéfica ao desenvolvimento de plantas, colonizando o seu interior ou exterior (MARIANO *et al.*, 2004). Os micro-organismos considerados benéficos podem influenciar o crescimento das plantas de forma direta, por meio do aumento na disponibilidade de nutrientes minerais e produção

de hormônios de crescimento, e de forma indireta pela supressão de micro-organismos fitopatogênicos do filoplano e, ou da rizosfera da planta (MELO, 1998).

O solo abriga uma complexa comunidade biológica, possuindo uma grande diversidade de micro-organismos (ROMEIRO, 2007). A região circundante às raízes é denominada de rizosfera e a superfície do sistema radicular é denominada de rizoplano, esses dois nichos tem como principais micro-organismos colonizadores espécies bacterianas. Algumas delas utilizam os nutrientes liberados, exsudados pela superfície radicular das plantas e, em contrapartida, exercem efeito benéfico ao estimularem o crescimento vegetal. Aquelas com capacidade de promoção de crescimento e colonizadoras do sistema radicular foram denominadas de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria* - PGPR) (KLOEPPER e SCHROTH, 1978).

O filoplano é considerado a superfície aérea dos vegetais e tem como colonizadores uma diversa comunidade microbiana, podendo ser: fungos filamentosos, leveduras, vírus, protozoários e bactérias (LINDOW e BRANDL, 2003). Segundo Lindow e Leveau (2002) as bactérias são os organismos mais abundantes na região foliar, sendo chamados de bactérias residentes do filoplano ou epífitas. Essa região por estar mais exposta a alterações do ambiente (temperatura, umidade, concentração de gases, intensidade de radiações etc.) constitui em um desafio ao estabelecimento de populações microbianas (ROMEIRO, 2007).

### **2.5.1 - Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (PGPR)**

A complexa microbiota no solo pode não ter nenhuma interação com os vegetais circunvizinhos, porém quando ocorre a interação esta pode ser deletéria ou benéfica. Aquelas que causam efeito benéfico podem ser denominadas de Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (PGPR), conforme supracitado e estima-se que apenas uma pequena parte destas seja capaz de causar este efeito em plantas (ROMEIRO e GARCIA, 2003; ROMEIRO 2007).

As rizobactérias têm como habitat a rizosfera e rizoplano de plantas (ROMEIRO, 2008), sendo a rizosfera a área do solo sob influência do sistema radicular, e o rizoplano a superfície do sistema radicular, sendo estas, consideradas áreas ricas em exsudados liberados pela planta (ROMEIRO, 2007). A área do solo sob influência do

sistema radicular é rica em nutrientes, uma vez que as plantas exsudam e liberam no ambiente compostos prontamente assimiláveis. Estes nutrientes são assimilados pelas PGPRs, as quais no rizoplasma, se estabelecem, multiplicam e se protegem do antagonismo da microbiota que ali vive (KLOEPPER e SCHROTH, 1978).

Para ser considerada realmente uma PGPR, a rizobactéria deve possuir a capacidade de colonizar as raízes das plantas (KLOEPPER e SCHROTH, 1978). Segundo Powell *et al.* (1994), a maior parte das rizobactérias com características evidentes de PGPR restringem-se a dois gêneros: *Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp. embora, inúmeras outras espécies podem apresentar essa potencialidade.

As espécies de *Pseudomonas* são consideradas colonizadores agressivos de raízes, entretanto, levam desvantagem em relação à *Bacillus* spp. por não formarem endósporos, os quais são considerados as estruturas de resistência biológica de maior eficácia, que permite às espécies deste gênero resistir a longos períodos no campo e em condições adversas (HAAS e DÉFAGO, 2005).

Para Mafia *et al.* (2007a) os métodos envolvidos na promoção de crescimento da planta através do uso de PGPR's, ainda não são totalmente conhecidos. Todavia, alguns autores (CATTELAN, 1999; PAL e GARDENER, 2006; HAAS e DÉFAGO, 2005), sugerem que as rizobactérias atuam diretamente na planta por diferentes meios, como: produção ou alteração de fitormônios, fixação de nitrogênio, mineralização de nutrientes do solo, aumento da permeabilidade das raízes e indução de mecanismos de resistência da planta. Ainda, algumas rizobactérias podem promover o crescimento de forma indireta, mediante a supressão de fitopatógenos através da produção de antibióticos, competição de ferro por produção de sideróforos, competição por nutrientes e sítio de colonização e parasitismo (ROMEIRO, 2007).

### **2.5.2 - Residentes de Filoplano**

Os micro-organismos que habitam a parte aérea dos vegetais são denominados de Residentes do Filoplano ou epífitas (ROMEIRO, 2007). Este hábitat é ocupado por uma vasta microbiota, na qual as bactérias são os organismos mais abundantes, devido à ampla gama de estratégias que utilizam para sobreviver em condições desfavoráveis no meio ao qual estão posicionadas, modificando o ambiente para melhorar a sua colonização (BEATTIE e LINDOW, 1999).

A diversidade e a abundância de espécies bacterianas pode atingir altos níveis no filoplano, sendo muitas vezes encontrados populações com concentrações superiores  $10^7$  ufc.ml<sup>-1</sup>, todavia, poucas são capazes de influenciar benéfica ou deletariamente o hospedeiro (HIRANO e UPPER, 2000; LINDOW e LEVEAU, 2002). Em condições favoráveis algumas espécies de bactérias residentes de filoplano podem atuar como fitopatógenos, ao passo que outras possuem a capacidade de serem benéficas ao vegetal (BEATTIE e LINDOW, 1999), apresentando-se de forma promissora, como potenciais agentes de controle biológico de fitopatógenos e promotores de crescimento (FERRAZ, 2008).

O termo filosfera foi utilizado para descrever a zona próxima das folhas, sendo considerada a área que circunda o filoplano, de modo análogo a idéia dada para rizosfera e rizoplano. O filoplano de plantas foi definido como a superfície foliar, a qual está sujeita a uma série de fatores do meio ambiente e da própria planta (ROMEIRO, 2007), os quais variam ao longo do ano, dos meses e até mesmo do dia, tornando o filoplano um ambiente altamente complexo (WILSON *et al.*, 1999).

As transformações na parte aérea da planta ocorrem de maneira mais rápida do que no sistema radicular (BLAKEMAN, 1985), mediante a maior exposição deste órgão à oscilações de umidade, temperatura, incidência de radiação, ventilação, dentre outros fatores dos quais o solo encontra-se mais isolado e protegido (WILSON *et al.*, 1999). Ao contrário da rizosfera, o filoplano é um ambiente difícil de colonizar uma vez que este é um meio mais instável que oferece pouca ou nenhuma proteção contra os eventos ambientais (FERRAZ, 2008).

Assim, as bactérias residentes do filoplano possuem três mecanismos básicos, que utilizam para sobreviver e minimizar os efeitos deletérios do ambiente ao qual estão sujeitas, constituindo em: escape, tolerância e o nutricional (ROMEIRO, 2007).

No primeiro caso a bactéria busca se estabelecer e ocupar determinados locais na planta menos sujeitos as adversidades ambientais, ao passo que, no segundo caso, ela deve possuir capacidade de tolerar ou resistir às condições severas (BEATTIE e LINDOW, 1999; WILSON *et al.*, 1999). Na terceiro caso, segundo Romeiro (2007), a bactéria deve estar propensa a mudanças, tanto do ponto de vista metabólico como o nutricional, para ser capaz de utilizar os nutrientes disponíveis e de competir por eles com os componentes da microbiota.

Mediante ao elevado número de bactérias que vivem na superfície foliar, inúmeros estudos vem sendo realizados com o intuito de utilizá-las no controle

biológico de plantas contra patógenos e na promoção de crescimento (GARCIA, 2008). Em um estudo realizado por Garcia e Romeiro (2011), isolados bacterianos residentes de filoplano, selecionados para o controle biológico de doenças de diversas culturas, foram capazes de aumentar a produtividade de dois cultivares de feijoeiro, bem como no controle da mancha-angular, demonstrando o efeito de promoção de crescimento e controle biológico desses micro-organismos.

Os mecanismos freqüentemente utilizados por residentes de filoplano no controle biológico são: hiperparasitismo, antibiose direta, competição por espaço e nutrientes e indução de resistência (BAKER *et al.*, 1985; ROMEIRO, 2007).

## **2.6 Uso de micro-organismos na área florestal**

A possibilidade de aumentar o crescimento de plantas e, ou de diminuir a utilização de agrotóxicos em detrimento da aplicação de micro-organismos que são autóctones do ambiente onde a planta é cultivada, seja da parte aérea ou do sistema radicular, despertou o interesse de diversos pesquisadores que buscam aumentar a produção vegetal pela promoção de seu crescimento e, ou controle de doenças de plantas (BATISTA *et al.*, 2010).

No início do século XX, mais precisamente na década de 1920, iniciaram-se os primeiros trabalhos visando o controle biológico de doenças de plantas, utilizando e introduzindo de forma consciente micro-organismos antagonistas aos fitopatógenos. A partir da década de 1940, datam-se os primeiros relatos de uso de fungos como agentes de biocontrole, e apenas nas décadas de 50 e 60, o uso de organismos procariotas (bactérias) passou a ser estudado por pesquisadores chineses, os quais realizaram importantes trabalhos (ROMEIRO e GARCIA, 2003; ROMEIRO, 2007).

Em estudo realizado por Cunha *et al.* (2006), comparando o efeito de antibióticos e rizobactérias no controle de bactérias fitopatogênicas em *Eucalyptus* spp., observaram a eficiência de alguns isolados de rizobactérias testados em relação aos antibióticos, evidenciando seu potencial uso no controle de fitobacterioses nessas espécies. Além de comprovar que alguns isolados observados, eram capazes de promover o aumento no crescimento do sistema radicular e parte aérea de plantas.

Acredita-se que bactérias colonizadoras da rizosfera de plantas são também capazes de sobreviver no filoplano, onde, algumas dessas, atuam inclusive no controle biológico de doenças radiculares, vasculares; bem como das que ocorrem na própria

parte aérea e também de promover o crescimento de plantas (HIRANO e UPPER, 2000; KURZE *et al.*, 2001; LINDOW e LEVEAU, 2002; GYENIS *et al.*, 2003; GARCIA, 2008).

Em estudo realizado em condições laboratoriais por Mafia *et al.* (2009) com o propósito de avaliar a colonização de raízes por rizobactérias em espécies e híbridos de eucalipto, observou-se que alguns isolados em condições *in vitro*, eram capazes de colonizar o sistema radicular de diferentes espécies e híbridos de eucalipto estudados; isso indica que esses isolados possam ser considerados PGPR's, segundo os critérios delimitados por Kloepper e Schroth (1978). Contudo, é necessária a avaliação em condições *in vivo*, uma vez que diversos autores observaram que as interações observadas *in vitro* não implicam em efeito de promoção de crescimento (ROMEIRO e GARCIA, 2003).

Ainda, em testes realizados por Mafia *et al.* (2007b), visando avaliar o efeito de rizobactérias sobre o enraizamento e crescimento de híbridos de eucalipto em diferentes condições de propagação clonal, foi possível observar que os ganhos de incremento em enraizamento e em biomassa radicular, variaram de acordo com o isolado de rizobactéria e clone de eucalipto testado, apresentando em alguns casos ganho de 20,4% e 73,0 % para enraizamento e biomassa radicular, respectivamente. Os mesmos autores concluíram que as rizobactérias testadas foram eficientes quanto à promoção do enraizamento e crescimento de clones de eucalipto, sob diferentes condições de propagação clonal.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Patologia Florestal e no Viveiro de Pesquisas do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, *Campus* de Irati - PR. A cidade está localizada na região Centro-sul do Estado, a 156 km de Curitiba, situada a 25° 27' 56'' de latitude S e 50° 37' 51'' de altitude W, com altitude média de 812 metros.

Os micro-organismos utilizados no experimento pertencem à coleção microbiana do laboratório de Proteção Florestal da UNICENTRO.

#### 3.1- Cultivo e preparo da suspensão de propágulos dos micro-organismos

Para o presente estudo foram utilizados um isolado de rizobactéria obtido a partir de solo rizosférico de plantas de *E. benthamii* e três isolados de residentes do filoplano isoladas de folhas de *E. benthamii*. Esses isolados foram selecionados por demonstrarem potencialidades na promoção de incremento de biomassa e indução de enraizamento adventício em estudos preliminares, sendo identificados como RFE 05, RFE 32, RFE 42 e UBK12 (CARMO, 2012; MATTOS E GARCIA, 2012).

As culturas bacterianas foram cultivadas em meio TSB<sup>®</sup> - Trypticase Soy Broth (Fabricante: HIMEDIA<sup>®</sup>), incubadas a uma temperatura de 28°C por 24 horas com fotoperíodo de 12 horas. Posteriormente, foi retirado uma alíquota de 100 µL do crescimento bacteriano, assepticamente com auxílio de um pipetador automático dispensando-o em placas de Petri, contendo o meio TSA<sup>®</sup> - Trypticase Soy Agar (Fabricante: HIMEDIA<sup>®</sup>), previamente esterilizado e espalhado com auxílio de alça de Drygalski, incubando-se à 28°C por 24 horas com fotoperíodo de 12 horas.

Os propágulos bacterianos formados sobre a superfície do meio de cultura nas placas de Petri foram suspensos em solução salina NaCl (0,85%) tendo a concentração ajustada por meio de espectrofotometria para 0,4 em densidade óptica de 600nm para a obtenção de 10<sup>8</sup> UFC/mL<sup>-1</sup>; a partir desse ponto os propágulos foram utilizados para a realização dos experimentos.

#### 3.2 - Estabelecimento do minijardim clonal

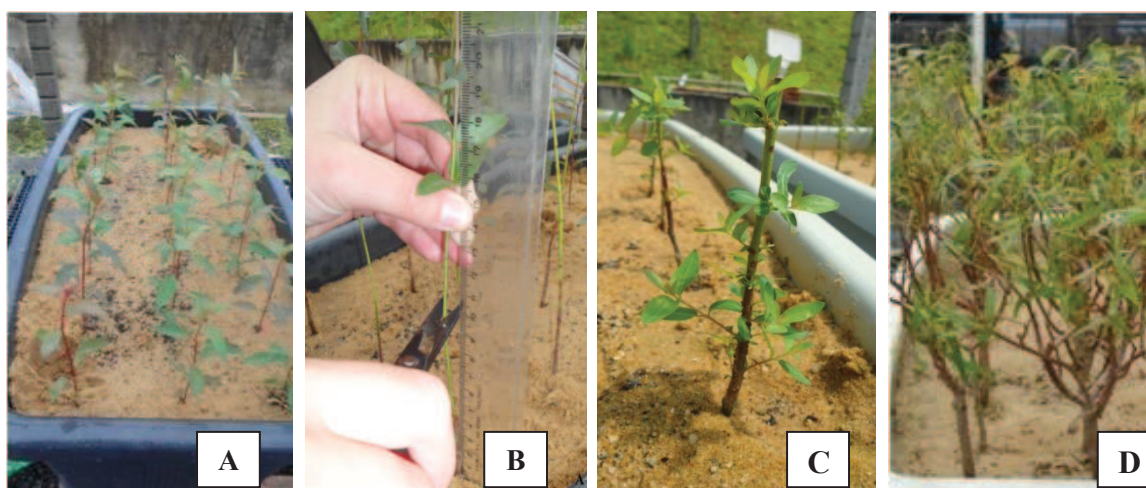


O estudo foi conduzido com minicepas de três espécies de *Eucalyptus*: *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*. As minicepas de *E. viminalis* foram produzidas a partir de sementes obtidas em pomares de polinização controlada, cedidas pela empresa Klabin S. A. Para *E. dunnii* e *E. grandis* foram utilizadas mudas seminais de 120 dias de idade adquiridas de um viveiro comercial da região.

A semeadura de *E. viminalis* foi realizada em substrato Macplant<sup>®</sup>, em tubetes de 110 cm<sup>3</sup>, previamente desinfestados em banho-maria aquecido à 83°C por 30 segundos e mantidas em casa de vegetação por cerca de 30 dias. Após, as mudas foram rustificadas à sombra e posteriormente a pleno sol.

Ao completarem 120 dias de idade, realizou-se o transplântio das mudas de *E. viminalis* para mini-canaletões de 90 m<sup>3</sup> (70 cm de comprimento, 45 cm de largura e 50 cm de profundidade), tendo como substrato areia grossa lavada, estabelecidas em um espaçamento de 10 cm entre plantas e 10 cm entre linhas. As mudas de *E. dunnii* e *E. grandis* também foram transferidas para minicanaletões análogos aos anteriormente mencionados para a formação das minicepas adotando-se os mesmos procedimentos descritos.

Após uma semana do transplântio para os canaletões, as mudas foram podadas a uma altura de 10 cm da base com auxílio de tesoura de poda, deixando-se quando possível um par de folhas por muda, visando à formação das minicepas (Figura 1).



**Figura 1.** Processo de formação do minijardim clonal. Transplântio das mudas em espaçamento de 10 cm x 10 cm em vasos contendo areia grossa (A). Muda de *E. dunnii* podada a uma altura de 10 cm da base para a formação da minicepa (B). Muda de *E. dunnii* emitindo as primeiras brotações após a poda para a formação das minicepas (C). Minicepas formadas (D).

A irrigação dos minicanaletões foi realizada manualmente, de acordo com as condições climáticas diárias. A fertilização utilizada foi à base de NPK (4-14-8) nas concentrações de 0,5 g planta<sup>-1</sup> sendo realizada uma vez por semana durante a formação das minicepas e duas vezes por semana após o estabelecimento do minijardim clonal. Juntamente com o NPK foi realizada a aplicação de micronutrientes a um volume de 10 ml por mini-canaletão. Na tabela 1, estão dispostos os micronutrientes utilizados para o preparo da solução estoque (L<sup>-1</sup>), aplicados no minijardim clonal de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*.

**Tabela 1.** Composição da solução nutritiva básica para a fertirrigação do minijardim clonal de *Eucalyptus* spp. em leito de areia.

Micronutriente		
Fonte de Micronutriente	FQ/ PM	Concentração (g/L <sup>-1</sup> )
Sulfato de manganês	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O / 169,02	0,1332
Ácido bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> / 61,83	0,24
Cloreto de zinco	ZnCl <sub>2</sub> / 136,30	0,04
Sulfato de Cobre	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O / 249,68	0,034
Molibdato de amônia	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O / 1235,86	0,0007
EDTA dissódico	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O / 372,24	0,33
Sulfato ferroso	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O / 278,02	0,216

\*FQ = fórmula química, PM = peso molecular. Fonte: (Alfenas *et al.*, 2009)

Após o estabelecimento do minijardim clonal as minicepas foram submetidas a sucessivas coletas de brotações aptas ao estaqueamento. Quando necessário foram realizadas as podas de manutenção, sendo este procedimento realizado num intervalo de 15 a 20 dias, a fim de manter a sanidade e produtividade do minijardim clonal.

### 3.3 – Coleta de brotações e preparo das miniestacas

Durante o desenvolvimento do experimento realizaram-se sete coletas de brotações que ocorreram entre os meses de Fevereiro a Outubro de 2013.

Para a coleta das brotações, utilizou-se tesoura de poda previamente lavada e desinfestada em álcool 70% (v/v). As miniestacas foram confeccionadas utilizando a parte apical e intermediária das brotações, sendo confeccionadas com dimensões entre 4

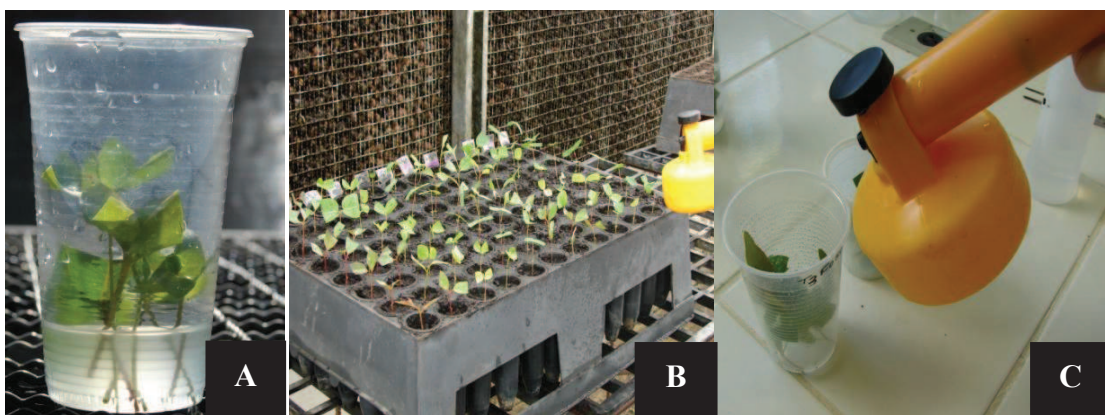
a 5 cm, contendo de um a dois pares de folhas, tendo a área foliar reduzida a 50% do seu tamanho original.

As miniestacas foram coletadas sempre quando possível no período matutino, afim de evitar a evapotranspiração excessiva das mesmas e desta forma minimizar o estresse hídrico dos propágulos selecionados. Após a coleta das brotações nas minicepas, as mesmas foram acondicionadas em caixas de isopor com água, de maneira a manter as condições de turgescência do material vegetal até o início da aplicação dos tratamentos.

Foram utilizados tubetes de 110 cm<sup>3</sup> e antes de serem preenchidos com o substrato Macplant, estes foram lavados com água e detergente neutro e posteriormente desinfestados em banho-maria a uma temperatura de 83 °C por 30 segundos (ALFENAS *et al.*, 2009), visando reduzir possíveis inóculos de fitopatógenos existentes.

Previamente ao estaqueamento em substrato, as miniestacas foram submetidas a três formas de dispensa dos isolados bacterianos, de forma a avaliar o incremento de enraizamento e, ou crescimento, em relação à forma de dispensa da bactéria promotora sobre as miniestacas.

A primeira forma de dispensa (aplicação) utilizada foi adaptado do método de Kijima (KIJIMA *et al.*, 1995), que consistiu na imersão da base das miniestacas por um período aproximadamente de 1 hora em suspensão bacteriana e posteriormente estas foram estaqueadas em tubetes. O segundo método utilizado foi à pulverização da suspensão bacteriana sobre o filoplano das miniestacas, sendo a pulverização foliar realizada até o ponto de escorrimento, na concentração de 10<sup>8</sup> UFC/mL<sup>-1</sup>. O terceiro método constitui na dispensa dos isolados utilizando os dois métodos em conjunto, realizando-se primeiramente a imersão da base das miniestacas por 1 hora na solução bacteriana e posteriormente a pulverização da suspensão bacteriana no filoplano até o ponto de escorrimento das folhas (Figura 2). As aplicações dos isolados foram realizadas em casa de vegetação independente do método de dispensa utilizado.



**Figura 2.** Aplicação dos isolados bacterianos utilizando três métodos de dispensa. Método de Kijima adaptado (A), Pulverização sobre o filoplano das miniestacas (B). Utilização dos dois métodos já supracitados (C).

Para facilitar a leitura dos resultados, a aplicação do método de Kijima adaptado foi chamada de imersão (I), a pulverização dos isolados no filoplano foi designada apenas como pulverização (P), e a utilização dos dois métodos em conjunto foi chamada de (IP – imersão+pulverização).

### **3.4 - Manejo e Fertilização das miniestacas**

Para a sobrevivência e enraizamento, as miniestacas de cada uma das três espécies de *Eucalyptus*, foram submetidas aos três diferentes métodos de dispensa, sendo em seguida, estaqueadas no substrato e acondicionadas em casa de vegetação, posteriormente foram transferidas a casa de sombra e finalmente colocadas na área de pleno sol para a rustificação.

Para os experimentos, 1, 2, 3 e 4, as miniestacas permaneceram 30 dias em casa de vegetação, 30 dias em casa de sombra cobertas com sobrite de 50% e mais 60 dias em área de pleno sol, de maneira a completarem o período de 120 dias de formação das mudas. Para os experimentos 5, 6 e 7, as miniestacas foram colocadas em casa de vegetação para enraizar durante 30 dias, após este período as miniestacas foram transferidas para a casa de sombra coberta com sombrite de 50% durante mais 20 dias. E finalmente, estas foram dispostas a pleno sol por 40 dias até que completassem o ciclo de formação da muda (90 dias). Na tabela 2, são apresentados o dia do estaqueamento das miniestacas e a idade em que ocorreram cada uma das avaliações.

**Tabela 2.** Período de estaqueamento e de avaliação de cada experimento instalado.

Experimento	Estaqueamento	Avaliações		
		1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>
Primeiro	22 de Fevereiro	30 DAE	60 DAE	120 DAE
Segundo	25 de Março	30 DAE	60 DAE	120 DAE
Terceiro	09 de Maio	30 DAE	60 DAE	120 DAE
Quarto	02 de Julho	30 DAE	60 DAE	120 DAE
Quinto	05 de Setembro	30 DAE	50 DAE	90 DAE
Sexto	10 de Outubro	30 DAE	50 DAE	90 DAE
Sétimo	16 de Outubro	30 DAE	50 DAE	90 DAE

\*DAE = dias após o estaqueamento.

As miniestacas foram adubadas aos 30, 60 e em alguns casos aos 90 dias após o estaqueamento aplicando 5 mL<sup>-1</sup> por muda de NPK (4-14-8).

### 3.5 - Variáveis avaliadas

A idade em que as miniestacas foram avaliadas variou em função da estação do ano. As miniestacas coletadas nas estações do outono e inverno foram avaliadas após 120 dias do estaqueamento, enquanto as miniestacas que foram obtidas na primavera foram avaliadas aos 90 dias de idade.

Para a avaliação do efeito dos tratamentos supracitados na sobrevivência, enraizamento e crescimento de mudas foram avaliados os seguintes parâmetros:

- Percentual de enraizamento de miniestacas que formaram raiz após a fase de rustificação, bem como a sobrevivência das mudas na saída da casa de vegetação, saída da casa de sombra e saída da área de pleno sol, sendo a avaliação de sobrevivência realizada em função da época do ano em que as miniestacas foram coletadas;
- Altura de parte aérea e raiz da muda: foram utilizados para a medição destas variáveis uma régua e um paquímetro digital, respectivamente;
- Massa de matéria fresca e seca da parte aérea e de raízes: esses parâmetros foram determinados aos 90 ou 120 DAE. Foram inicialmente separadas as raízes da parte aérea e determinado a massa fresca de ambas as partes em balança de precisão. Depois da obtenção da massa fresca, as amostras foram acondicionadas em estufa de circulação de ar a 72°C até o estabelecimento do peso constante

das mesmas, sendo realizado o peso do material, obtendo assim a massa seca das amostras.

Realizou-se uma avaliação da área abaixo da curva de progresso de: sobrevivência na saída da casa de vegetação (SOBSCV), sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS), sobrevivência na saída da área de pleno sol (SOBSPL) e de enraizamento das miniestacas na saída da área de pleno sol (ENRPL), bem como para a altura, comprimento de raiz, massa seca e fresca de parte aérea e raiz das miniestacas, com o intuito de avaliar o efeito dos isolados, dos métodos de aplicação e espécies de *Eucalyptus* sp. utilizadas ao longo do tempo de execução dos experimentos.

### **3.6 - Procedimentos estatísticos**

Os experimentos foram conduzidos no delineamento em blocos casualizados, no esquema fatorial 4x3x3. Os tratamentos foram montados utilizando-se: quatro isolados bacterianos (RFE05, RFE32, RFE42 e UBK12), três formas de aplicação (imersão, pulverização e a associação dos dois métodos) e três espécies diferentes de *Eucalyptus* (*E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*). O tratamento controle constituiu por miniestacas que não foram tratadas com os isolados bacterianos, sendo realizada a aplicação da água (T). Foram montados quatro blocos com 45 tratamentos cada, sendo 4 repetições por tratamento, num total de 180 mudas por bloco.

Os resultados foram submetidos à ANOVA ( $p < 0,05$ ), e quando detectada diferença entre as características avaliadas, foi realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para verificar a diferença entre as médias dos tratamentos testados, utilizando o pacote estatístico SAEG.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 - Primeiro experimento

Observou-se neste experimento que houve efeito significativo na sobrevivência entre as mudas das três espécies avaliadas na saída da casa de vegetação (30 dias após estaqueamento), na saída da casa de sombra (60 dias após estaqueamento) e ao fim da fase de pleno sol (120 dias após estaqueamento). Também foi observada diferença no percentual de enraizamento ao término da fase de pleno sol. Houve efeito dos isolados testados para a sobrevivência e enraizamento das mudas aos 120 dias de idade, na saída da área de pleno sol. Neste experimento, observou-se interação significativa na saída da casa de sombra entre as variáveis “aplicação x isolados” (Tabela 3).

**Tabela 3.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias após estaqueamento, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) aos 60 dias após estaqueamento, sobrevivência (SOBSPS120) e enraizamento (ENRSPS120) na saída da área de pleno sol aos 120 dias após estaqueamento.

FV	Quadrados Médios			
	SOBSCV30	SOBSCS60	SOBSPS120	ENRSPS120
Espécie	3,198*	2,071*	0,219*	0,212*
Aplicação	0,311*	0,156 <sup>ns</sup>	0,035 <sup>ns</sup>	0,018 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	0,033 <sup>ns</sup>	0,036 <sup>ns</sup>	0,027 <sup>ns</sup>	0,014 <sup>ns</sup>
Isolado	0,145 <sup>ns</sup>	0,121 <sup>ns</sup>	0,066*	0,061*
Esp*Isolado	0,075 <sup>ns</sup>	0,029 <sup>ns</sup>	0,020 <sup>ns</sup>	0,023 <sup>ns</sup>
Aplic*Isolado	0,114 <sup>ns</sup>	0,190*	0,022 <sup>ns</sup>	0,028 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic*Iso	0,111 <sup>ns</sup>	0,123 <sup>ns</sup>	0,019 <sup>ns</sup>	0,013 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação.

Os percentuais de sobrevivência na saída da casa de vegetação foram baixos, em que *E. dunnii* obteve os melhores resultados (43,7%), seguido de *E. grandis* (26,3%) e por último e com o menor índice de sobrevivência *E. viminalis* (6%). Embora há de se considerar que todas as três espécies tiveram baixo percentual de sobrevivência (Tabela 4). Não houve efeito dos isolados em relação à testemunha.

Houve influência significativa na forma de aplicação dos isolados em relação à sobrevivência das miniestacas na SOBSCV30, de modo que a combinação dos dois métodos foi superior a imersão isoladamente, porém não diferiu da pulverização (Tabela 4).

**Tabela 4.** Sobrevivência de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* tratados com diferentes formas de aplicação na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), 30 dias após o estaqueamento.

Fatores	SOBSCV30 (%)	
	Espécie	<i>E. dunnii</i>
<i>E. grandis</i>		26,3 b
<i>E. viminalis</i>		6 c
Aplicação	I	19 b
	P	27 ab
	IP	30 a

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados transformados por  $\sqrt{x + 0,5}$ , onde x representa a variável resposta. I = imersão; P = pulverização; IP = imersão + pulverização.

Na avaliação de sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) aos 60 dias de idade, houve diferença estatística apenas entre as três espécies eucaliptos testada (Tabela 5). A espécie de *E. dunnii* permaneceu com o maior índice de sobrevivência com 31% de miniestacas vivas, diferenciando das espécies *E. grandis* com o segundo maior índice 21% e de *E. viminalis* com o menor índice de sobrevivência 4%. Nesta fase, em que ocorreu a aclimatização do material vegetal houve um decréscimo no percentual de miniestacas que sobreviveram.

**Tabela 5.** Percentual de sobrevivência de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* na saída da casa de sombra (SOBSCS60), 60 dias após o estaqueamento.

Espécies (%)		
<i>E. dunnii</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. viminalis</i>
31 a	21 b	4 c

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados transformados por  $\sqrt{x + 0,5}$ , onde x representa a variável resposta.



De acordo com Souza *et al.* (2013), o aumento na mortalidade das miniestacas observada durante a saída da casa de sombra está relacionado a má formação das raízes durante a fase de casa de vegetação o qual, compromete todo desenvolvimento da muda. A não formação de raiz durante a fase de enraizamento (casa de vegetação) também é um fator que contribuiu para a redução na sobrevivência de mudas durante o período de aclimatização (casa de sombra), fazendo-se necessário, segundo Ferreira *et al.* (2004) conhecer o tempo ótimo de permanência das miniestacas em casa de vegetação a fim de se obter um alto percentual de plantas enraizadas.

A interação observada na SOBSCS30 entre a forma de aplicação e o isolado utilizado (Tabela 6), demonstrou que o método de imersão da miniestaca em suspensão apresentou comportamento diferente quando os tratamentos foram comparados. As miniestacas que foram imersas em Água e na suspensão bacteriana do isolado UBK12 (rizobactéria) foram as miniestacas que mais sobreviveram quando comparados com as imersas em suspensão dos isolados RFE05, RFE32 e RFE42. Quando analisados os métodos de pulverização da suspensão nas folhas e a utilização dos dois métodos em conjunto observa-se que os isolados não diferiram estatisticamente entre si em relação a estas duas formas de aplicação para a variável sobrevivência na saída da casa de sombra (Tabela 6).

Em relação aos isolados, observou-se ainda que para o isolado RFE42 a melhor forma de aplicação foi através da pulverização o qual diferiu do método de imersão, contudo não apresentou diferenças quando aplicado pelos dois métodos em conjunto (IP). Para os demais isolados, não houve diferenças estatísticas na forma como os mesmos foram aplicados (Tabela 6).

**Tabela 6.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com os métodos de aplicação em que as miniestacas foram submetidas, para a sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) 60 dias após o estaqueamento.

Métodos de aplicação	Isolado (%)				
	RFE05	RFE32	RFE42	UBK12	Testemunha
I	6 b A	6 b A	4 b B	14 a A	39 a A
P	22 a A	12,5 a A	25 a A	25 a A	20 a A
IP	22 a A	25 a A	8 a AB	25 a A	20,1 a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados transformados por  $\sqrt{x + 0,5}$ , onde x representa a variável resposta. I = imersão; P = pulverização; IP = imersão + pulverização.

A interação entre isolados de micro-organismos e diferentes métodos de aplicação pode constituir um fator dificultoso na operacionalização do emprego de um determinado inoculante à base de rizobactérias e residentes do filoplano. Uma forma de evitar esse problema é selecionar isolados com maior capacidade de abrangência, utilizando aqueles que são capazes de aumentar a sobrevivência e enraizamento de um maior número de miniestacas possíveis, independente da forma em que os mesmos serão aplicados.

Na avaliação feita na saída das mudas da fase de pleno sol observou-se efeito significativo para as espécies e os isolados estudados, não sendo observada interação entre estes fatores. O percentual de sobrevivência de *E. dunnii* e *E. grandis* foi igual entre si (13%), mas diferiu estatisticamente do percentual de sobrevivência de *E. viminialis* (1%) (Tabela 7).

Em números absolutos houve maior mortalidade nas áreas de pleno sol e casa de sombra, em relação à casa de vegetação, sendo este fato também observado por Brondani *et al.* (2010) e Almeida *et al.* (2007). Isto possivelmente está relacionado ao adequado controle das condições ambientais (temperatura e umidade) dentro da casa de vegetação, a qual possibilita quando necessário ajustar estas variáveis climáticas a fim de proporcionar melhores condições para o desenvolvimento da planta, não havendo este controle nas áreas de sombra e pleno sol. Sendo que a execução deste experimento iniciou-se no verão e terminou no inverno, que caracterizou-se por baixas temperaturas, com ocorrências de geadas.

Em relação ao enraizamento avaliado ao fim da fase de aclimação a pleno sol, observou-se que as miniestacas de *E. viminialis* não apresentaram evidências de enraizamento (0%) diferindo das miniestacas *E. dunnii* e *E. grandis* que enraizaram (10% e 10,4%), mas não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 7).

Garcia (2013 relato pessoal) relata que dentre as várias espécies potenciais para cultivo em regiões de geadas, *E. viminialis* tem apresentado como uma das mais recalcitrantes ao enraizamento adventício. Sabe-se que em sistema de estaquia com colheita de brotações em jardim clonais a altura da brotação em relação à base da cepa é determinante para o sucesso do enraizamento (HACKETT, 1987) citado por Wendling (2004); todavia não se tem informações à cerca deste efeito na miniestaquia para *E. viminialis*.

A aplicação do isolados bacterianos nas miniestacas diferiu estatisticamente em relação à sobrevivência e o enraizamento na saída da área de pleno sol. Para a variável

sobrevivência, o isolado RFE42 foi inferior a testemunha, contudo não diferiu dos demais isolados (Tabela 7). Em relação ao enraizamento, os isolados RFE05, RFE32 e RFE42 responderam de maneira inferior quando comparados com a aplicação apenas da água (testemunha), não diferindo do isolado UBK12. Não ocorreram diferenças significativas entre os métodos de aplicação aos quais os tratamentos foram submetidos.

**Tabela 7.** Percentual de sobrevivência (SOBSPS120) e enraizamento (ENRSPS120), de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* tratados com quatro isolados bacterianos na saída da área de pleno sol, 120 dias após o estaqueamento.

Fatores		SOBSPS120 (%)	ENRSPS120 (%)
Espécie	<i>E. dunnii</i>	13 a	10 a
	<i>E. grandis</i>	13 a	10,4 a
	<i>E. viminalis</i>	1 b	0 b
Isolado	RFE05	9 ab	4 b
	RFE32	10 ab	4 b
	RFE42	4 b	3 b
	UBK12	7 ab	5 ab
	Testemunha	18 a	15 a

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados transformados por  $\sqrt{x + 0,5}$ , onde x representa a variável resposta.

A baixa resposta dos isolados bacterianos à sobrevivência e enraizamento das miniestacas quando comparados com a testemunha pode estar relacionado com a dificuldade que os micro-organismos encontraram para se estabelecer e colonizar o tecido, havendo segundo Shishido e Chanway (2000), à necessidade de um determinado intervalo de tempo para que aja a estabilização da população de micro-organismos benéficos quando inoculados nas plantas.

De acordo com alguns autores (ANDREWS E HIRANO, 1991; SHISHIDO *et al.*, 1995), a variabilidade na resposta da indução do crescimento e enraizamento de plantas pelo uso de rizobactérias e residentes do filoplano está relacionada à diminuição da população de alguns destes micro-organismos quando submetidos a constantes variações ao seu desenvolvimento, sendo estas influências ambientais capazes de alterar o habitat em que os agentes benéficos devem se estabelecer.

Para as variáveis mensuráveis obtidas na saída da fase de pleno sol, observou-se que ocorreram diferenças estatísticas em relação à altura, comprimento de raiz, peso fresco e seco de parte aérea e raiz de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* submetidos a presença ou ausência dos isolados bacterianos, não sendo observada diferenças estatísticas na forma como os isolados foram aplicados. Houve efeito significativo na interação “aplicação x isolado” para a variável comprimento de raiz e peso fresco da parte aérea das miniestacas (Tabela 8).

**Tabela 8.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco de parte aérea (PAfresca), peso seco de parte aérea (PAseca), peso fresco de raiz (Rfresca) e peso seco de raiz (Rseca) de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* com 120 dias de idade.

FV	Quadrados Médios					
	Alt	Craiz	PAfresca	Rfresca	PAseca	Rseca
Espécie	7,016*	5,903*	2,973*	1,906*	0,461*	0,258*
Isolado	1,955*	1,419*	0,365*	0,389*	0,120*	0,070*
Aplicação	0,626 <sup>ns</sup>	0,243 <sup>ns</sup>	0,131 <sup>ns</sup>	0,211 <sup>ns</sup>	0,055 <sup>ns</sup>	0,038 <sup>ns</sup>
Esp * Isso	0,513 <sup>ns</sup>	0,482 <sup>ns</sup>	0,135 <sup>ns</sup>	0,136 <sup>ns</sup>	0,042 <sup>ns</sup>	0,026 <sup>ns</sup>
Aplic * Isso	1,066 <sup>ns</sup>	0,965*	0,313 <sup>ns</sup>	0,251*	0,059 <sup>ns</sup>	0,026 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	0,844 <sup>ns</sup>	0,504 <sup>ns</sup>	0,565 <sup>ns</sup>	0,227 <sup>ns</sup>	0,004 <sup>ns</sup>	0,020 <sup>ns</sup>
Es*Iso*apl	0,542 <sup>ns</sup>	0,358 <sup>ns</sup>	0,132 <sup>ns</sup>	0,110 <sup>ns</sup>	0,032 <sup>ns</sup>	0,015 <sup>ns</sup>

\*valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação. Esp = espécie; Iso = isolado; aplic = aplicação.

Em relação à altura de mudas nenhum isolado teve efeito de aumentar este parâmetro nas espécies avaliadas, de modo geral o isolado RFE42 teve um efeito inibitório em relação à testemunha. Observação similar dá-se para o comprimento de raiz e peso fresco de parte aérea, sendo que os isolados RFE05, RFE32 e RFE42 inibiram o desenvolvimento do sistema radicular e parte aérea das miniestacas quando comparados com a testemunha, contudo, não diferiram do isolado UBK12 (Tabela 9).

Em relação ao peso fresco de raiz os isolados RFE05, RFE32 e RFE42 foram estatisticamente inferiores quando comparados com o isolado UBK12 e a testemunha, para o peso seco de raiz todos isolados apresentaram desempenho inferior à testemunha, e para o peso seco de parte aérea os isolados não diferiram da aplicação da testemunha (Tabela 9).

**Tabela 9.** Altura, comprimento de raiz, pesos frescos e secos da parte aérea e raiz de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* submetidos a presença ou ausência do isolado bacteriano, na saída da área de pleno sol, 120 dias após o estaqueamento.

<b>Altura (cm)</b>			
Isolado		Espécie	
RFE05	1,38 AB	<i>E. dunnii</i>	2,21 A
RFE32	1,45 AB	<i>E. grandis</i>	2,26 A
RFE42	0,69 B	<i>E. viminalis</i>	0,158 B
UBK12	1,18 AB		
Testemunha	3,01 A		
<b>Comprimento de raiz (cm)</b>			
RFE05	0,94 B	<i>E. dunnii</i>	1,63 A
RFE32	0,90 B	<i>E. grandis</i>	1,84 A
RFE42	0,61 B	<i>E. viminalis</i>	0 B
UBK12	0,99 AB		
Testemunha	2,34 A		
<b>Peso fresco Parte aérea (cm)</b>			
RFE05	0,103 B	<i>E. dunnii</i>	0,170 A
RFE32	0,100 B	<i>E. grandis</i>	0,227 A
RFE42	0,058 B	<i>E. viminalis</i>	0,039 B
UBK12	0,122 AB		
Testemunha	0,285 A		
<b>Peso fresco Raiz (cm)</b>			
RFE05	0,138 B	<i>E. dunnii</i>	0,177 A
RFE32	0,138 B	<i>E. grandis</i>	0,401 A
RFE42	0,112 B	<i>E. viminalis</i>	0 B
UBK12	0,170 A		
Testemunha	0,403 A		
<b>Peso seco Parte aérea (cm)</b>			
RFE05	0,048 AB	<i>E. dunnii</i>	0,066 A
RFE32	0,035 B	<i>E. grandis</i>	0,093 A
RFE42	0,031 B	<i>E. viminalis</i>	0,001 B
UBK12	0,040 AB		
Testemunha	0,112 AB		
<b>Peso seco Raiz (cm)</b>			
RFE05	0,019 B	<i>E. dunnii</i>	0,030 A
RFE32	0,017 B	<i>E. grandis</i>	0,050 A
RFE42	0,015 B	<i>E. viminalis</i>	0 B
UBK12	0,021 B		
Testemunha	0,060 A		

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados por  $\sqrt{x + 0,5}$ , onde x representa a variável resposta.

Segundo Kloepper e Schorth (1978), as bactérias que colonizam a rizosfera e o filoplano de plantas podem causar efeito benéfico, neutro ou deletério aos hospedeiros. A princípio os resultados observados sugerem este terceiro efeito. Atualmente há uma busca intensa por micro-organismos com efeito pró-bióticos para o cultivo de vegetais e, o presente resultado mostra que é preciso ser criterioso, na avaliação destes organismos, afim de evitar falhas futuras.

A ausência na resposta dos vegetais à aplicação dos micro-organismos utilizados pode ter ocorrido devido à falta de especificidade entre a bactéria e o genótipo da planta utilizada. Mafia *et al.* (2007b), embora tenham observado eficiência na promoção do enraizamento e crescimento de clones de *Eucalyptus* sp. pelo uso de isolados bacterianos, sugerem que a inexistência de um isolado específico pode ocasionar a não significância de resposta em determinados materiais genéticos.

Em relação às espécies de eucalipto testadas, observou-se que para todas as variáveis analisadas as espécies de *E. dunnii* e *E. grandis* não diferiram significativamente entre si para nenhuma das variáveis, todavia sendo estatisticamente superiores à *E. viminalis*, a qual apresentou os menores índices de sobrevivência, enraizamento, valores médios de altura, comprimento de raiz e peso fresco e seco, evidenciando desta forma a dificuldade na propagação clonal desta espécie de eucalipto (Tabela 9).

Os resultados da interação observados na Tabela 10 demonstram que para a imersão os melhores resultados foram obtidos com a aplicação da testemunha, diferindo estatisticamente dos demais isolados. Para os métodos de pulverização e a aplicação de ambos os métodos (IP) não houve diferenças estatísticas entre a aplicação dos isolados e da testemunha, sendo este efeito observado para as variáveis: comprimento de raiz e peso fresco de raiz (Tabela 10).

Avaliando cada isolado separadamente, observa-se que para as duas variáveis analisadas os isolados RFE05, UBK12 e a testemunha não apresentaram diferenças significativas na forma como os isolados foram aplicados. Para o isolado RFE32 os melhores resultados foram obtidos com a aplicação de ambos os métodos (IP) tendo diferido estatisticamente da pulverização, contudo, não diferindo do método de imersão. O isolado RFE42 apresentou os melhores resultados para o comprimento de raiz quando este foi aplicado por ambos os métodos e pelo método de imersão. Para o peso fresco de raiz, o isolado RFE42 não apresentou diferenças significativas entre os métodos de aplicação (Tabela 10).

**Tabela 10.** Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), para as variáveis, comprimento de raiz (Craiz) e peso fresco de raiz (Rfresca), na saída da área de pleno sol, 120 dias após o estaqueamento.

Isolado	Comprimento de raiz (cm)			Peso fresco raiz (g)		
	I	P	IP	I	P	IP
RFE05	0,40 a B	2,01 a A	0,40 a A	0,053 a B	0,224a A	0,032 a A
RFE32	0,40 ab B	0 b A	2,33 a A	0,033 abB	0,006 b A	0,261 a A
RFE42	0 b B	1,16 a A	0,66 a A	0 a B	0,088 a A	0,088 a A
UBK12	0,80 a B	0,78 a A	1,40 a A	0,068 a B	0,083 a A	0,216 a A
T (água)	3,31 a A	1,82 a A	1,90 a A	0,369 a A	0,256 a A	0,230 a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados transformados por  $\sqrt{x + 0,5}$ , onde x representa a variável resposta. I = imersão; P = pulverização; IP = imersão + pulverização.

#### 4.2 - Segundo experimento

O segundo experimento foi implantado no dia 25 de março de 2013 e a avaliação final estava prevista para o dia 25 de Julho de 2013. Contudo, não foi possível realizar a avaliação final que constituía na análise de sobrevivência e enraizamento na saída da área de pleno sol aos 120 dias de idade e as demais variáveis mensuráveis como: altura, comprimento de raiz, peso fresco e seco de parte aérea e raiz das mudas.

Estas análises não foram realizadas devido ao elevado percentual de mortalidade causado pela ocorrência de sucessivas geadas e até de uma nevasca que matou as mudas que encontravam-se em aclimatação em área de pleno sol no período de 25 de maio a 25 de julho de 2013.

Na tabela 11 é possível observar as temperaturas mínimas registradas pela estação tecnológica SIMEPAR para a região de Irati nos dias 25 de maio a 25 de julho de 2013. Estes registros demonstram que a média das temperaturas foram baixas, com mínimas de até -2,7°C no período.

**Tabela 11.** Temperaturas mínimas registradas entre os dias de 25 de maio de 2013 até o dia 25 de Julho de 2013 na região de Irati, PR.

<b>Período</b>	<b>Temp. mínima °C</b>	<b>Período</b>	<b>Temp. mínima °C</b>
25-05-2013	9,8	25-06-2013	13,8
26-05-2013	8,6	26-06-2013	13,6
27-05-2013	11,5	27-06-2013	13,4
28-05-2013	13,9	28-06-2013	13,7
29-05-2013	12,8	29-06-2013	14,9
30-05-2013	6,6	30-06-2013	12,0
31-05-2013	4,0	01-07-2013	9,8
01-06-2013	10,6	02-07-2013	9,4
02-06-2013	13,5	03-07-2013	7,3
03-06-2013	9,9	04-07-2013	13,4
04-06-2013	7,1	05-07-2013	8,6
05-06-2013	8,2	06-07-2013	11,5
06-06-2013	8,5	07-07-2013	8,8
07-06-2013	6,6	08-07-2013	11,0
08-06-2013	7,7	09-07-2013	10,9
09-06-2013	11,1	10-07-2013	11,4
10-06-2013	9,8	11-07-2013	9,3
11-06-2013	13,1	12-07-2013	8,7
12-06-2013	11,9	13-07-2013	5,6
13-06-2013	10,3	14-07-2013	7,5
14-06-2013	8,3	15-07-2013	10,1
15-06-2013	10,5	16-07-2013	3,8
16-06-2013	11,5	17-07-2013	3,1
17-06-2013	11,8	18-07-2013	6,6
18-06-2013	9,7	19-07-2013	11,4
19-06-2013	12,8	20-07-2013	14,3
20-06-2013	13,3	21-07-2013	12,0
21-06-2013	10,5	22-07-2013	1,3
22-06-2013	6,0	23-07-2013	-0,5
23-06-2013	4,5	24-07-2013	-2,7
24-06-2013	11,5	25-07-2013	0,1

Fonte: (SIMEPAR, 2013)

A utilização de miniestacas de espécies resistentes ao frio é uma alternativa utilizada que visa à obtenção de material vegetal capaz de suportar temperaturas muito baixas e se desenvolver em regiões com invernos rigorosos e com ocorrência de geada. Contudo, mesmo as espécies recomendadas para o plantio nessas condições podem apresentar dificuldades de desenvolvimento quando muito tenras, ocasionado por grandes perdas ou perda total da produção devido à alta sensibilidade do material vegetal, principalmente quando se trata de uma muda produzida via processo assexuado e não sexuada, cujo material é mais sensível.



Este fator foi observado na implantação deste experimento (Figura 3), cujas miniestacas apresentaram desenvolvimento e crescimento durante as etapas de enraizamento (casa de vegetação) e aclimatização (casa de sombra). Quando colocadas em área de pleno sol para a rustificação as miniestacas sobreviveram em temperaturas mais baixas, no entanto, não foram capazes de suportar a ocorrência de geadas a qual levou a queima e perda total do experimento na fase final do mesmo. Desta forma, a avaliação deste experimento constitui apenas da sobrevivência na saída da casa de vegetação e na saída da casa de sombra.



**Figura 3.** Miniestacas de *E. dunni*, *E. grandis* e *E. viminalis* coletadas e colocadas para enraizar em casa de vegetação (A); Miniestaca de *E. grandis* em área de pleno sol apresentando aspecto de seca com aparência queimada ocasionado pela ocorrência da geada (B). Fonte: (O autor, 2013)

Neste segundo experimento não observou-se efeito significativo dos isolados nem do modo de aplicação quanto a SOBSCV30 e SOBSCS60. Todavia observou-se efeito interespecífico da sobrevivência das miniestacas nestas duas fases (Tabela 12).

**Tabela 12.** Sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis* na saída da casa de vegetação (SOBSCV30) 30 dias após ao estaqueamento e sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) 60 dias após o estaqueamento.

FV	Quadrados Médios	
	SOBSCV30	SOBSCS60
Espécie	0,755*	0,557*
Aplicação	0,077 <sup>ns</sup>	0,010 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	0,011 <sup>ns</sup>	0,054 <sup>ns</sup>
Isolado	0,051 <sup>ns</sup>	0,108 <sup>ns</sup>
Esp*Isolado	0,117 <sup>ns</sup>	0,028 <sup>ns</sup>
Aplic*Isolado	0,065 <sup>ns</sup>	0,037 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic*Isso	0,094 <sup>ns</sup>	0,040 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação.

Na avaliação de SOBSCV30, observou efeito significativo apenas para as espécies estudadas (Tabela 12). As espécies *E. dunnii* e *E. grandis* não apresentaram diferenças estatísticas entre si com 36,6% e 28,3% respectivamente de miniestacas vivas. Contudo, as mesmas diferiram significativamente da espécie de *E. viminialis* (Tabela 13) a qual apresentou o menor número de miniestacas vivas com 9,1%, respectivamente.

**Tabela 13.** Percentual de sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis* na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade e saída da casa de sombra aos 60 dias de idade.

Espécie	SOBSCV30 (%)	SOBSCS60 (%)
<i>E. dunnii</i>	36,6 a	14,5 a
<i>E. grandis</i>	28,3 a	12 a
<i>E. viminialis</i>	9,1 b	2,9 b

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Na avaliação de SOBSCS60, notou-se um aumento no número de miniestacas mortas, no entanto, ocorreu o mesmo comportamento das espécies após a saída da casa de vegetação. A espécie *E. dunnii* apresentou o maior número de miniestacas vivas com 14,5% não diferindo estatisticamente da espécie de *E. grandis* com 12% respectivamente de miniestacas que sobreviveram. As miniestacas de *E. viminialis* apresentaram o menor

percentual de enraizamento com 2,9%, diferindo estatisticamente das espécies *E. dunnii* e *E. grandis* (Tabela 13).

Os resultados obtidos no segundo experimento demonstram um baixo percentual de miniestacas vivas na saída da casa de vegetação e saída da casa de sombra. Credita-se esta mortalidade à perda do controle ambiental da casa de vegetação, que apresentou problemas técnicos no sistema de aquecimento e principalmente no sistema de irrigação em que houveram vários dias com falta de abastecimento de água. Embora, durante o período de casa de sombra não tenha ocorrido nenhum problema, o ocorrido no período anterior parece ter sido determinante para o aumento da mortalidade na casa de sombra.

Avaliando a sobrevivência de miniestacas de *E. dunnii* na saída da casa sombra, Rosa (2006), verificou que as miniestacas que não formaram raízes no período da casa de vegetação acabaram morrendo quando foram acondicionadas em casa de sombra, demonstrando que como no presente experimento a formação do sistema radicular na primeira fase é determinante para o restante do processo de produção de mudas de *Eucalyptus* sp. por mini-estaquia.

Segundo Almeida *et al.*, (2007) miniestacas não enraizadas ou com sistema radicular mal formado não são capazes de equilibrar as perdas hídricas promovidas pela evapotranspiração da brotação, não sendo capazes de se desenvolver em um ambiente menos controlado que aquele encontrado dentro da casa de vegetação.

### **4.3 - Terceiro experimento**

Em relação às três espécies avaliadas houve efeito significativo na sobrevivência entre estas nas avaliações realizadas na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), saída da casa de sombra (SOBSCS60) e saída de casa de pleno sol (SOBSPS120), bem como o efeito do tipo de aplicação na avaliação de sobrevivência nesta última fase do processo de produção (Tabela 14). Ainda observou-se que houve efeito na interação entre os isolados utilizados e o percentual de enraizamento das espécies de *Eucalyptus* spp. avaliado na saída da casa de pleno sol.

**Tabela 14.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) aos 60 dias de idade, sobrevivência (SOBSPS120) e enraizamento (ENRSPS120) na saída da área de pleno sol aos 120 dias de idade em função das fontes de variação.

FV	Quadrados médios			
	SOBSCV30	SOBSCS60	SOBSPS120	ENRSPS120
Espécie	0,104*	1,232*	5,168*	5,179*
Aplicação	0,026 <sup>ns</sup>	0,051 <sup>ns</sup>	0,246*	0,038 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	0,017 <sup>ns</sup>	0,027 <sup>ns</sup>	0,090 <sup>ns</sup>	0,052 <sup>ns</sup>
Isolado	0,008 <sup>ns</sup>	0,025 <sup>ns</sup>	0,093 <sup>ns</sup>	0,029 <sup>ns</sup>
Esp*Isolado	0,019 <sup>ns</sup>	0,082 <sup>ns</sup>	0,043 <sup>ns</sup>	0,052*
Aplic*Isolado	0,015 <sup>ns</sup>	0,039 <sup>ns</sup>	0,070 <sup>ns</sup>	0,047 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic*Iso	0,023 <sup>ns</sup>	0,040 <sup>ns</sup>	0,054 <sup>ns</sup>	0,045 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação.

Avaliando o experimento na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade, observou-se de modo similar ao observado por Brito *et al.* (2012), que as miniestacas das três espécies de eucaliptos testadas apresentaram um percentual de sobrevivência acima de 90%. As miniestacas das espécies de *E. dunnii* e *E. grandis* obtiveram os melhores resultados em relação a variável sobrevivência, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 15), com um percentual de 97% ambas as espécies. Contudo, as duas espécies diferiram estatisticamente da espécie de *E. viminalis* (Tabela 15) a qual apresentou um percentual de 90,4% de miniestacas que sobreviveram nesta fase, sendo este um resultado considerado promissor, visto que a espécie de *E. viminalis* apresenta recalcitrância ao enraizamento.

Wendling e Xavier (2005) sugerem que o alto percentual de miniestacas sobreviventes na saída da casa de vegetação está relacionado ao possível controle das condições ambientais dentro da casa o que favorece a manutenção da sobrevivência dos propágulos vegetativos, não havendo nesta fase grandes diferenças entre as espécies avaliadas. Os mesmos autores em seu estudo observaram que para todos os clones de *E. grandis* testados os valores de sobrevivência na saída da casa de vegetação chegaram próximos a 100%, o que assemelha-se aos encontrados neste experimento, onde espécies de *E. grandis* e *E. dunnii* apresentaram 97% de sobrevivência na saída da casa de vegetação.

**Tabela 15.** Percentual de sobrevivência na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), 30 dias após o estaqueamento e sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60), 60 dias após o estaqueamento em relação às espécies de *Eucalyptus* sp. utilizadas.

<b>Fator</b>		<b>SOBSCV30 (%)</b>	<b>SOBSCS60 (%)</b>
Espécie	<i>E. dunnii</i>	97 a	86,6 a
	<i>E. grandis</i>	97 a	93 a
	<i>E. viminalis</i>	90,4 b	65 b

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Ao analisar a sobrevivência das miniestacas na saída da casa de sombra aos 60 dias de idade, verificou-se um decréscimo no número de miniestacas vivas em relação a fase anterior. Para as espécies de *E. dunnii* e *E. grandis* os resultados de sobrevivência foram semelhantes aos encontrados na saída da casa de vegetação, sendo os melhores percentuais de sobrevivência encontrados pelas miniestacas das espécies de *E. grandis* 93% e *E. dunnii* 86,6%, o qual diferiram estatisticamente da espécie de *E. viminalis* (Tabela 15) com um percentual de 65% de miniestacas vivas.

Após a transferência das miniestacas para a área de pleno sol, observou-se a redução do percentual de sobrevivência das miniestacas das três espécies testadas nesta fase de cultivo. A espécie que apresentou o maior percentual de sobrevivência foi *E. grandis* com 68% diferindo estatisticamente de *E. dunnii* e *E. viminalis* (Tabela 16) com 21% e 14% de miniestacas vivas, respectivamente.

Nesta etapa, observou-se ainda que ocorreu diferença estatística entre os métodos de aplicação dos isolados, indicando que as miniestacas que foram submersas em suspensão por um período de uma hora, apresentaram maior sobrevivência quando comparadas aquelas submetidas aos métodos de pulverização e a combinação dos referidos métodos (IP) (Tabela 16).

**Tabela 16.** Percentual de sobrevivência das miniestacas na saída da área de pleno sol (SOBSPS120), 120 dias após o estaqueamento, em relação às espécies utilizadas e a forma como os isolados foram aplicados.

Fatores	SOBSPS120 (%)	
	Espécie	<i>E. dunnii</i>
	<i>E. grandis</i>	68 a
	<i>E. viminalis</i>	14 b
Aplicação	I	42 a
	P	31 b
	IP	30 b

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. I= imersão; p = pulverização; IP = imersão + pulverização.

Em relação ao enraizamento aos 120 dias de idade, observa-se que para as miniestacas de *E. grandis* todos os isolados promoveram o enraizamento em relação à testemunha, não diferindo entre si. Porém, não foi observado este efeito para as miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminalis* (Tabela 17).

Comparando o efeito de cada isolado em relação às espécies de *Eucalyptus* sp. nota-se que todos os isolados e a testemunha foram melhores quando aplicados em *E. grandis*, sendo estatisticamente inferiores quando aplicados em *E. dunnii* e *E. viminalis* (Tabela 17).

**Tabela 17.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* para a variável enraizamento (ENRSPS120) na saída da área de pleno sol 120 dias após o estaqueamento.

Espécie (%)	Isolado (%)				
	RFE05	RFE32	RFE42	UBK12	Testemunha
<i>E. dunnii</i>	15 a B	8 a B	8 a B	8 a B	12 a B
<i>E. grandis</i>	50 a A	67 a A	58 a A	62 a A	42 b A
<i>E. viminalis</i>	0 a B	0 a B	0 a B	4 a B	0 a B

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Esse efeito de especificidade hospedeiro agente eliciador não é fato novo. Em estudo de biocontrole, Smith *et al.*, (1997) observaram que a eficiência do controle biológico mediado por *Bacillus cereus* contra o tombamento de mudas de tomate variou em função do cultivar avaliado, indicando que podem ocorrer variações na capacidade

de colonização, tamanho e composição da população microbiana dependendo do material genético da planta em estudo.

Mafia *et al.* (2007a) relatam que entre os diversos clones avaliados e as estirpes de isolados de rizobactérias avaliadas, observaram que a resposta de promoção ou não de crescimento eliciado pelo microrganismo era dependente da interação bactéria-clone. Assim, acredita-se que possa ter ocorrido esta especificidade de interação. A interação observada apenas entre a espécie de *E. grandis* e os isolados bacterianos testados pode estar relacionada com as diferenças encontradas no ambiente da rizosfera e filoplano das espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis*, além da própria variação na composição genética de cada uma das espécies avaliadas.

O efeito de promoção do crescimento pelos isolados é a provável causa do maior percentual de miniestacas enraizadas de *E. grandis* em relação a *E. dunnii* e *E. viminalis*.

Os parâmetros avaliados após a etapa de pleno sol: altura, comprimento de raiz, peso fresco e seco de biomassa de parte aérea e raiz, apresentaram variações apenas interespecíficas, não sendo observadas diferenças significativas entre os isolados e a forma como os mesmos foram aplicados (Tabela 18).

Este experimento assemelha-se ao realizado por Melo *et al.* (2012), em que os autores constataram que o isolado bacteriano avaliado promoveu o aumento das taxas de enraizamento de um clone de *E. urophylla*, contudo não foram observados ganhos relacionados à biomassa do sistema radicular. Embora não significativo, os autores concluíram que a presença do componente bacteriano foi eficaz, pois os mesmos agregaram incremento nos valores médios para todas as variáveis testadas, além de contribuir para o enraizamento do clone.

Para as variáveis quantitativas analisadas apenas o peso seco de raiz não apresentou diferenças significativas entre as três espécies de eucaliptos testadas. Para a variável altura, observou diferenças significativas para a espécie e a forma como os isolados foram aplicados. Ainda, observou-se interação significativa entre as espécies utilizadas e os métodos de aplicação para a variável peso fresco de raiz (Tabela 18).

**Tabela 18.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco de parte aérea (PAfresca), peso seco de parte aérea (PAseca), peso fresco de raiz (Rfresca) e peso seco de raiz (Rseca) de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 120 dias após o estaqueamento.

FV	Quadrados médios					
	Alt	C raiz	PA fresca	R fresca	PA seco	R seco
Espécie	261,6*	1937,8*	0,256*	0,085 *	0,463*	0,680 <sup>ns</sup>
Isolado	2,642 <sup>ns</sup>	8,712 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,0008 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>	0,347 <sup>ns</sup>
Aplicação	12,35*	19,22 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>	0,011 <sup>ns</sup>	0,00001 <sup>ns</sup>
Esp * Isso	2,389 <sup>ns</sup>	14,94 <sup>ns</sup>	0,002 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,004 <sup>ns</sup>	0,255 <sup>ns</sup>
Aplic * Iso	2,809 <sup>ns</sup>	21,21 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,005 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	1,790 <sup>ns</sup>	12,49 <sup>ns</sup>	0,002 <sup>ns</sup>	0,004*	0,006 <sup>ns</sup>	0,00009 <sup>ns</sup>
Es*Is*Apl	2,042 <sup>ns</sup>	16,01 <sup>ns</sup>	0,002 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,005 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo teste F. FV = Fonte de variação.

A espécie de *E. grandis* foi a que apresentou melhor desenvolvimento e conseqüentemente os melhores resultados, diferenciando estatisticamente das espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis*. Para os parâmetros comprimento de raiz e biomassa seca e fresca de raiz, *E. dunnii* apresentou valores superiores à *E. viminalis* (Tabela 19).

**Tabela 19.** Altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco (PAfresca) e seco (PAseca) de parte aérea e raiz das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 120 dias após o esqueamento.

Espécie	Variáveis				
	Altura(cm)	C raiz(cm)	PA fresca(g)	R fresca(g)	PA seco(g)
<i>E. dunnii</i>	1,25 b	1,85 b	0,0291 b	0,0130 b	0,076 b
<i>E. grandis</i>	4,55 a	10,68 a	0,1290 a	0,0709 a	0,204 a
<i>E. viminalis</i>	0,68 b	0,05 c	0,0059 c	0,0001 b	0,036 c

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Os resultados encontrados neste estudo para *E. viminalis* assemelham-se aos encontrados por Souza Junior *et al.* (2002), ao avaliarem o enraizamento de estacas de *E. viminalis*, os autores observaram ao final de 45 dias em casa de vegetação a formação de brotos, contudo verificaram que nenhuma estaca enraizou, confirmando assim a recalcitrância ao enraizamento da espécie.



Para a variável altura, ocorreu também diferenças na forma de aplicação dos isolados. Os melhores resultados para altura das espécies de *Eucalyptus* ocorreu com a aplicação do método de imersão, o qual foi estatisticamente superior quando comparados ao método de pulverização e utilização de ambos os métodos (IP) (Tabela 20).

**Tabela 20.** Altura das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* em função dos métodos de aplicação dos isolados, 120 dias após o estaqueamento.

Métodos de aplicação	Altura (cm)
I	2,67 A
P	1,98 B
IP	1,81 B

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. I = imersão; P = pulverização; IP = imersão + pulverização.

Os resultados da interação para a variável peso fresco de raiz, demonstram que para *E. dunnii* e *E. viminalis*, a forma como os isolados foram aplicados não apresentou diferenças estatísticas. Para *E. grandis* o método de pulverização apresentou os melhores resultados, diferindo significativamente da aplicação do método de imersão e da utilização dos dois métodos em conjunto (IP) (Tabela 21).

A avaliação de cada método separado em relação as espécies de *Eucalyptus*, demonstra que para os três métodos utilizados, *E. grandis* foi estatisticamente superior quando comparados com a *E. dunnii* e *E. viminalis*, a qual não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 21).

**Tabela 21.** Interação entre as miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* com os métodos de aplicação as quais foram submetidos, para a variável peso fresco de raiz, 120 dias após o estaqueamento.

Espécies (%)	Métodos de aplicação		
	I	P	IP
<i>E. dunnii</i>	0,01 a B	0,01 a B	0,02 a B
<i>E. grandis</i>	0,07 b A	0,10 a A	0,05 b A
<i>E. viminalis</i>	0,00 a B	0,00 a B	0,00 a B

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados transformados:

I = imersão; P = pulverização; IP = imersão + pulverização.

#### 4.4 - Quarto experimento

Neste experimento observou-se efeito significativo na sobrevivência na saída da casa de sombra (60 dias), sobrevivência a pleno sol e enraizamento (120 dias) das espécies, sendo também observadas diferenças significativas entre os isolados testados para a sobrevivência das mudas aos 60 dias de idade, na saída da casa de sombra e para a sobrevivência aos 120 dias de idade, na saída da área de pleno sol (Tabela 22).

A forma como os isolados foram aplicados não influenciou as variáveis sobrevivência e enraizamento de mudas (Tabela 22). Isto pode ser um fator positivo no que tange um possível uso do agente eliciador do efeito de promoção, pois indica que a maneira mais rápida e menos onerosa de aplicação pode ser empregada a fim de operacionalizar o trabalho dentro de uma empresa florestal, sem que ocorram perdas de resultados.

**Tabela 22.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) aos 60 dias de idade, sobrevivência (SOBSPS120) e enraizamento (ENRSPS120) na saída da área de pleno sol aos 120 dias de idade.

FV	Quadrados médios			
	SOBSCV30	SOBSCS60	SOBSPS120	ENRSPS120
Espécie	0,021 <sup>ns</sup>	0,385*	0,625*	0,601*
Aplicação	0,129 <sup>ns</sup>	0,107 <sup>ns</sup>	0,075 <sup>ns</sup>	0,054 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	0,214 <sup>ns</sup>	0,050 <sup>ns</sup>	0,087 <sup>ns</sup>	0,027 <sup>ns</sup>
Isolado	0,164 <sup>ns</sup>	0,327*	0,101*	0,032 <sup>ns</sup>
Esp*Isolado	0,162 <sup>ns</sup>	0,055 <sup>ns</sup>	0,049 <sup>ns</sup>	0,021 <sup>ns</sup>
Aplic*Isolado	0,085 <sup>ns</sup>	0,106 <sup>ns</sup>	0,053 <sup>ns</sup>	0,025 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic*Isso	0,091 <sup>ns</sup>	0,049 <sup>ns</sup>	0,035 <sup>ns</sup>	0,025 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação

Na avaliação de sobrevivência na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), não houve diferença estatística entre nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 22). O uso de micro-organismos pode não apresentar, muitas vezes, influência na sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, possivelmente, pelo fato das mesmas estarem utilizando suas próprias reservas internas para a sobrevivência e formação do sistema radicular e assim não disponibilizarem nutrientes para o desenvolvimento da colônia microbiana (DIAS *et al.*, 2012).

Na saída da casa de vegetação, as espécies *E. grandis*, *E. dunnii* e *E. viminalis*, apresentaram um alto percentual de sobrevivência na faixa dos 90%. O alto percentual de sobrevivência está relacionado ao bom controle ambiental dentro da casa de vegetação, sendo este fundamental para que ocorram melhores resultados na fase de enraizamento. Contudo, conforme Iritani e Souza (1983), citados por Titon (2001), a avaliação de sobrevivência na saída da casa de vegetação não é garantia de sucesso no enraizamento das miniestacas, mas pode ser considerado um bom indicador de que as condições de temperatura e umidade estão bem controladas e adequadas dentro da casa de vegetação.

Após a saída da casa de vegetação observou-se que houve um aumento no número de miniestacas mortas, isso possivelmente está relacionado a ausência ou má formação de raízes durante o período em que permaneceram na casa de vegetação e

sobretudo, aos fatores ambientais como temperatura e umidade, os quais o material vegetal foi exposto após a fase de casa vegetação, em que estes eram controlados. Segundo dados meteorológicos do SIMEPAR, no mês de Agosto (período de aclimatização das miniestacas), a temperatura média registrada no mês foi de 13,8 °C, com alguns dias apresentando temperaturas mínimas abaixo de 0 °C. Estas variações ambientais podem ter contribuído para a mortalidade das miniestacas, visto que estas constituem um material vegetal ainda muito sensível.

A espécie que apresentou maior sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS60) foi *E. grandis* com 77% de miniestacas vivas, não diferindo estatisticamente de *E. dunnii* com 71,25%, contudo as duas espécies apresentaram diferenças significativas quando comparadas com *E. viminalis* o qual apresentou 57,9% de sobrevivência até esta etapa de desenvolvimento (Tabela 23). Nesta fase, observou-se ainda que houve efeito da aplicação dos isolados, sendo que nas miniestacas que foram aplicados os isolados bacterianos houve uma maior sobrevivência quando comparados à testemunha.

Na avaliação de sobrevivência na saída da área de pleno sol (SOBSPS120), as três espécies de *Eucalyptus* diferiram estatisticamente entre si (Tabela 23), a espécie que apresentou maior sobrevivência das miniestacas foi *E. grandis* com 28,75%, seguida de *E. dunnii* com 18,75% e por último e com menor percentual de sobrevivência *E. viminalis* com 8%.

A aplicação do isolados bacterianos nas miniestacas diferiu estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ), em relação à sobrevivência na saída da área de pleno sol (SOBSPL120). Os isolados bacterianos RFE05, RFE32 e UBK12 foram significativamente superiores quando comparados com as miniestacas em que ocorreu apenas a aplicação da Água. O isolado RFE42 não diferiu estatisticamente dos demais isolados bacterianos e da aplicação da água, apresentando efeito nulo à sobrevivência aos 120 dias de idade das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis*, *E. viminalis*.

Na avaliação do enraizamento aos 120 dias de idade (ENRSPL120) observou-se que ocorreram diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) para este parâmetro somente para as espécies avaliadas, não sendo o enraizamento afetado pela exposição a isolados bacterianos nem pela forma de aplicação destes (Tabela 23). As espécies de *E. grandis* e *E. dunnii* apresentaram 20% e 15,4%, respectivamente de miniestacas enraizadas, não diferindo estatisticamente entre si. A espécie de *E. viminalis* diferiu significativamente das espécies de *E. grandis* e *E. dunnii*, com o pior resultado de enraizamento,

apresentando um percentual de 0,8% de miniestacas enraizadas (Tabela 23), confirmando assim a recalitrância desta espécie ao enraizamento (SOUZA JUNIOR, 2002; NAVROSKI, 2012;)

**Tabela 23.** Percentual de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de sombra (SOBSCS60) e sobrevivência (SOBSPL120) e enraizamento (ENRSPL120) na saída da área de pleno sol aos 120 dias de idade, em relação às espécies e isolados utilizados.

<b>Espécie</b>	<b>SOBSCS60<sup>(1)</sup> (%)</b>	<b>SOBSPS120 (%)</b>	<b>ENRSPS120 (%)</b>
<i>E.dunnii</i>	71,25 A	18,75 B	15,4 A
<i>E.grandis</i>	77 A	28,75 A	20 A
<i>E.viminalis</i>	57,9 B	8 C	0,8 B
<b>Isolado</b>			
RFE05	77 A	25 A	-
RFE32	67 A	19 A	-
RFE42	74 A	15 AB	-
UBK12	73 A	21 A	-
Testemunha	50 B	11 B	-

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. <sup>(1)</sup> dados transformados por  $\sqrt{x + 0,5}$ , onde x representa a variável resposta.

A maior porcentagem de miniestacas vivas e enraizadas de uma espécie de clima quente em uma região Subtropical quando comparadas com as espécies de clima frio, pode ser explicada pela maior facilidade que esta espécie tem para enraizar, pois, embora a espécie de *E. grandis* seja muito sensível a temperaturas amenas tendo um baixo grau de tolerância ao frio, esta espécie apresenta alta capacidade de enraizamento, caso que não ocorre com as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis*. Estas espécies por sua vez, apresentam boa resistência ao frio sendo seus plantios recomendados para as regiões Sul onde há ocorrência de temperaturas baixas e riscos de geadas (PALUDZYSZYN FILHO *et al.*, 2006), contudo apresentam histórico de recalitrância ao enraizamento, característico de espécies subtropicais, (ASSIS E MAFIA, 2007; SOUZA JUNIOR *et al.*, 2002), dificultando assim a propagação destas espécies. Apesar dos baixos percentuais de enraizamento destas espécies, estas são bem promissoras em programas de melhoramento para síntese de híbridos (ALFENAS *et al.*, 2009).

As variáveis, altura, comprimento de raiz, peso fresco e seco de parte aérea e raiz, não sofreram influência na presença dos isolados bacterianos e na forma como os

mesmos foram aplicados, não sendo observadas diferenças significativas quando comparado com a testemunha (Tabela 24). Além disso, não houve interação significativa para os fatores analisados.

**Tabela 24.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco de parte aérea (PAfresca), peso seco de parte aérea (PAseca), peso fresco de raiz (Rfresca) e peso seco de raiz (Rseca) de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 120 dias após o estaqueamento.

FV	Quadrados Médios					
	Alt	C raiz	PA fresca	R fresca	PA seca	R seca
Espécie	36,698*	240,188*	0,322 <sup>ns</sup>	0,124 <sup>ns</sup>	0,098 <sup>ns</sup>	0,0005*
Isolado	5,103 <sup>ns</sup>	6,632 <sup>ns</sup>	0,030 <sup>ns</sup>	0,0037 <sup>ns</sup>	0,010 <sup>ns</sup>	0,00001 <sup>ns</sup>
Aplicação	3,838 <sup>ns</sup>	28,46 <sup>ns</sup>	0,016 <sup>ns</sup>	0,010 <sup>ns</sup>	0,006 <sup>ns</sup>	0,00004 <sup>ns</sup>
Esp*Isso	2,433 <sup>ns</sup>	5,860 <sup>ns</sup>	0,018 <sup>ns</sup>	0,0025 <sup>ns</sup>	0,0053 <sup>ns</sup>	0,00001 <sup>ns</sup>
Aplic*Isso	2,999 <sup>ns</sup>	13,52 <sup>ns</sup>	0,018 <sup>ns</sup>	0,006 <sup>ns</sup>	0,006 <sup>ns</sup>	0,00003 <sup>ns</sup>
Es*Iso*apl	2,245 <sup>ns</sup>	11,50 <sup>ns</sup>	0,014 <sup>ns</sup>	0,006 <sup>ns</sup>	0,004 <sup>ns</sup>	0,00003 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação.

Para as variáveis, altura, comprimento de raiz e peso seco de raiz foi observada diferença significativa entre as espécies de eucaliptos testadas (Tabela 24). Para a variável altura e comprimento de raiz, as espécies de *E. grandis* e *E. dunnii* não apresentaram diferenças significativas entre si, diferindo contudo da espécie de *E. viminalis* (Tabela 25).

Em relação ao peso seco de raiz, as três espécies diferiram estatisticamente entre si. A espécie *E. grandis* foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) quando comparada com as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis*. Embora, *E. dunnii* tenha se mostrado estatisticamente inferior quanto ao peso seco de raiz quando comparado ao *E. grandis*, está espécie se mostrou no entanto, significativamente superior a espécie *E. viminalis* (Tabela 25).

**Tabela 25.** Altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz) e peso seco de raiz (Rseca) das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 120 dias após o estaqueamento.

Espécie	Variáveis		
	Altura (cm)	Comp de raiz (cm)	Raiz seca (g)
<i>E. dunnii</i>	1,50 a	2,80 a	0,0035 b
<i>E. grandis</i>	2,16 a	4,12 a	0,0064 a
<i>E. viminalis</i>	0,61 b	0,18 b	0,0001 c

Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Embora a espécie *E. grandis* não tenha apresentado diferenças significativas em relação a espécie *E. dunnii* para as variáveis altura e comprimento de raiz, observa-se que *E. grandis* apresentou os maiores valores médios em relação a esta variável, sendo estatisticamente superior em relação ao peso seco de raiz quando comparado com as espécies *E. dunnii* e *E. viminalis*, as quais diferiram significativamente entre si, sendo *E. dunnii* estatisticamente superior a *E. viminalis* (Tabela 25). O melhor desenvolvimento de *E. grandis* possivelmente está relacionado às características que esta espécie apresenta (MORA E GARCIA, 2000), muito embora seu uso não seja recomendado para regiões frias (BRONDANI, 2008).

#### 4.5 - Quinto experimento

Mediante às baixas temperaturas registradas na estação do inverno as minicepas apresentaram pouca emissão de brotações durante os meses de Julho e Agosto não permitindo que as coletas fossem realizadas neste período. Em função disto, o quinto experimento foi montado em Setembro de 2013.

Neste experimento, as brotações foram coletadas apenas das minicepas das espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis* as quais apresentaram um número médio de brotações/minicepa suficientes para a coleta. As minicepas de *E. grandis* mostram maior sensibilidade ao inverno rigoroso e principalmente a geada que ocorreu no mês de Julho. Desta forma, as minicepas não emitiram brotações suficientes para a coleta no mês de setembro (Tabela 26) (Figura 5).

**Tabela 26.** Número de brotações aptas para a coleta de cada minicepa/espécie para o mês de Setembro de 2013, representado ao final o número médio de brotações aptas para a coleta das espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*.

Minicepa	Número de brotações por minicepa/espécie		
	<i>E. dunnii</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. viminalis</i>
1	19	5	27
2	16	3	45
3	11	10	24
4	11	14	8
5	32	Morreu	28
6	10	8	12
7	18	0	22
8	22	0	21
9	14	12	30
10	6	1	35
11	22	2	72
12	8	6	26
13	18	0	18
14	16	2	22
15	8	0	20
16	26	2	30
17	20	6	28
18	10	9	14
19	18	0	16
20	22	2	8
21	14	12	30
22	21	4	35
23	16	18	28
24	35	6	12
25	12	3	32
26	28	8	30
27	2	2	23
28	30	13	18
29	31	5	12
30	Morreu	9	40
31	Morreu	10	0
32	Morreu	7	58
33	Morreu	6	25
34	Morreu	3	22
35	Morreu	2	24
36	Morreu	5	18
37	Morreu	4	30
38	Morreu	3	Morreu
39	Morreu	3	Morreu
40	Morreu	8	Morreu
<b>Média/brotações</b>	12,9	5,3	25,4



O número médio de brotações por minicepa de *E. dunnii*, *E. viminalis* e *E. grandis* para o mês de setembro foi de 12,9; 25,4 e 5,3 brotações, respectivamente. Embora *E. grandis* tenha apresentado a menor mortalidade de minicepas, em função do frio em relação as outras duas espécies que são tidas como resistentes a essa condição ambiental, observa-se que o número de brotações aptas para a coleta desta espécie para o período previsto para a montagem do experimento no mês de setembro foram baixas (Tabela 26). Este fato possivelmente está relacionado às baixas temperaturas ocorridas durante o inverno.

Desta forma, o quinto experimento foi implantado no fim da estação do inverno no dia 05 de Setembro de 2013 sendo avaliado até o dia 05 de Dezembro de 2013. Para que não ocorresse descarte de material apto para o estaqueamento, procedeu-se a coleta das brotações apenas com as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis* (Figura 4).



**Figura 4.** Minicepas de *E. grandis* com baixa emissão de brotação após inverno rigoroso (A). Minicepas de *E. dunnii* (B) e *E. viminalis* (C) com brotações suficientes e aptas para a coleta e estaqueamento das miniestacas no mês de setembro.

Na avaliação deste experimento observou que não houve diferença significativas na sobrevivência das mudas das duas espécies, nas avaliações da saída de casa de vegetação (SOBSCV30), casa de sombra (SOBSCS50) e área de pleno sol (SOBSPL90). Também não houve diferença no enraizamento (ENRSPL90) em relação às espécies (Tabela 27).

Em relação à forma de aplicação também não houve diferença destes sobre a sobrevivência e o enraizamento nas fases supramencionadas.

Houve efeito significativo em relação aos isolados bacterinos e a testemunha para a sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS50), saída da área de pleno sol (SOBSPL90) e enraizamento (ENRSPL90) (Tabela 27).

Observou-se interação significativa entre os isolados microbianos e as espécies de *Eucalyptus* testadas, na sobrevivência avaliada na saída das casas de vegetação (SOBSCV30) e sombra (SOBSCS50), bem como no enraizamento (ENRSPS90) na saída da área de pleno sol (Tabela 27).

**Tabela 27.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminalis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS50) aos 50 dias de idade, sobrevivência (SOBSPS90) e enraizamento (ENRSPS90) na saída da área de pleno sol aos 90 dias de idade em relação as fontes de variação.

FV	Quadrados médios			
	SOBSCV30	SOBSCS50	SOBSPS90	ENRSPS90
Espécie	0,102 <sup>ns</sup>	0,638 <sup>ns</sup>	0,300 <sup>ns</sup>	0,172 <sup>ns</sup>
Aplicação	0,047 <sup>ns</sup>	0,010 <sup>ns</sup>	0,081 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	0,003 <sup>ns</sup>	0,191 <sup>ns</sup>	0,004 <sup>ns</sup>	0,048 <sup>ns</sup>
Isolado	0,197 <sup>ns</sup>	0,219*	0,124*	0,057*
Esp*Isolado	0,156*	0,244*	0,059 <sup>ns</sup>	0,071*
Aplic*Isolado	0,103 <sup>ns</sup>	0,063 <sup>ns</sup>	0,045 <sup>ns</sup>	0,016 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic*Isso	0,148 <sup>ns</sup>	0,122 <sup>ns</sup>	0,091 <sup>ns</sup>	0,029 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação.

Em relação à sobrevivência observou-se efeito significativo da interação entre espécies e isolados nas características SOBSCV30, SOBSCV50 e ENRSPL90 (Tabela 27).

Na avaliação realizada na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), os isolados não apresentaram efeito distinto quando aplicados em *E. dunnii* e *E. viminalis*. Para *E. viminalis* não houve diferenças entre os isolados aplicados nesta espécie, contudo, observou-se que para *E. dunnii* os melhores resultados foram obtidos quando aplicados os isolados RFE05 e UBK12 o qual diferiram estatisticamente dos isolados F032 e RFE42, porém, não sendo observada diferenças estatísticas quando comparados com a testemunha (Tabela 28).

Na avaliação realizada na saída da casa de sombra (SOBSCS50) e enraizamento (ENRSPL90) na saída da área de pleno sol os isolados RFE32 e RFE42 tiveram efeito deletério quando aplicados em miniestacas de *E. dunnii*, porém não diferiram da testemunha quando a espécie alvo era *E. viminialis* (Tabela 28).

Avaliando o efeito dos isolados dentro das espécies é possível observar que para *E. viminialis*, os isolados não diferiram entre si e o tratamento controle, tendo todos o mesmo efeito na SOBSCV30, SOBSCS50 e ENRSPS90. Para *E. dunnii* na SOBSCV30 os melhores resultados foram obtidos com o isolado RFE05 e UBK12, os quais diferiram estatisticamente dos isolados RFE32 e RFE42 não diferindo, contudo, da testemunha. Para a SOBSCS50 e ENRSPL90 os melhores resultados foram observados com o isolado RFE05 a qual diferiu estatisticamente dos isolados RFE32 e RFE42, não diferindo contudo dos isolado UBK12 e da testemunha (Tabela 28).

**Tabela 28.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii* e *E. viminialis*, na saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, na saída da casa de sombra (SOBSCS50) aos 60 dias de idade e enraizamento (ENRSPL90) na saída da área de pleno sol 90 dias após o estaqueamento.

Isolado	SOBSCV30 (%)		SOBSCS50 (%) <sup>(1)</sup>		ENRSPS90 (%) <sup>(1)</sup>	
	<i>E. dunnii</i>	<i>E. viminialis</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. viminialis</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. viminialis</i>
RFE05	83 a A	65 a A	69 a A	56 a A	19 a A	0 a A
RFE32	50 a B	62 a A	33 b B	62 a A	4 b B	2 a A
RFE42	48 a B	67 a A	19 b C	56 a A	4 b B	0 a A
UBK12	75 a A	73 a A	54 a AB	56 a A	13 a AB	6 a A
Test.	63 a AB	81 a A	48 a AB	65 a A	8 a AB	0 a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. <sup>(1)</sup> Dados transformados por  $\sqrt{x + 5}$ , onde x representa a variável resposta.

Coelho (2006), ao avaliar isolados bacterianos de *Pseudomonas* spp. observou que o efeito de promoção dos isolados variava quando aplicava-se em espécies vegetais diferentes.

Segundo Miller *et al.* (1989), esta variação ocorre pois um determinado isolado de rizobactéria ou residente de filoplano pode ser específico a algumas espécies ou cultivares, agindo em uma determinada espécie vegetal em maior nível enquanto em outra espécie vegetal este isolado pode apresentar alta dificuldade de colonização. Estes

autores acreditam ainda, que essas diferenças ocorrem devido às características genéticas de cada planta as quais possuem quantidades e composições de exsudados radiculares diferenciados de uma espécie para outra.

A avaliação dos resultados ainda permite analisar que houve efeito dos isolados sobre a SOBSPS90. Todavia nenhum destes isolados promoveu uma sobrevivência maior que o tratamento controle (Tabela 29). Ainda, o isolado RFE42 reduziu a sobrevivência em relação à testemunha, a qual não diferiu dos demais isolados (RFE05, RFE32 e UBK12).

**Tabela 29.** Sobrevivência das miniestacas na saída da casa de casa de sombra (SOBSCS50), em relação aos isolados bacterianos utilizados e o tratamento controle, 50 dias após o estaqueamento.

SOBSPS %	Isolado				
	RFE05	RFE32	RFE42	UBK12	Testemunha
	18 ab	22 ab	14 b	19 ab	33 a

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Dados transformados por  $\sqrt{x + 5}$ , onde x representa a variável resposta.

Após o período de avaliação na saída da área de pleno sol, procedeu-se as análises referentes às variáveis: altura, comprimento de raiz, peso fresco e seco de parte aérea e raiz das miniestacas. Observa-se que as miniestacas tratadas com os isolados bacterianos não sofreram influência na presença dos mesmos para os parâmetros avaliados, não sendo observadas diferenças significativas quando comparados com a testemunha e nem como a forma como os mesmos foram aplicados. Observa-se ainda que para o peso de raiz e parte aérea, as espécies diferiram estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ) em relação ao peso fresco de parte aérea e raiz (Tabela 30).

**Tabela 30.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura (Alt), comprimento de raiz (Craiz), peso fresco de parte aérea (PAfresca), peso seco de parte aérea (PAseca), peso fresco de raiz (Rfresca) e peso seco de raiz (Rseca) de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis*, 90 dias após o estaqueamento.

FV	Variáveis					
	Alt	C raiz	PA fresca	R fresca	PA seco	R seco
Espécie	0,172 <sup>ns</sup>	11,033 <sup>ns</sup>	0,166*	0,045*	0,022 <sup>ns</sup>	0,0002 <sup>ns</sup>
Isolado	0,057 <sup>ns</sup>	1,454 <sup>ns</sup>	0,030 <sup>ns</sup>	0,019 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>
Aplicação	0,003 <sup>ns</sup>	0,091 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>	0,00002 <sup>ns</sup>
Esp*Iso	0,071 <sup>ns</sup>	11,195 <sup>ns</sup>	0,021 <sup>ns</sup>	0,024 <sup>ns</sup>	0,020 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>
Aplic*Iso	0,016 <sup>ns</sup>	0,553 <sup>ns</sup>	0,0207 <sup>ns</sup>	0,0020 <sup>ns</sup>	0,015 <sup>ns</sup>	0,0027 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	0,048 <sup>ns</sup>	0,249 <sup>ns</sup>	0,0053 <sup>ns</sup>	0,053 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>	0,0005 <sup>ns</sup>
Es*Iso*Aplic	0,029 <sup>ns</sup>	1,474 <sup>ns</sup>	0,0036 <sup>ns</sup>	0,0527 <sup>ns</sup>	0,033 <sup>ns</sup>	0,006 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

O peso fresco de raiz e parte aérea de *E. dunnii* foi superior ao peso de *E. viminialis* (Tabela 31). Isto indica que possivelmente, para este experimento *E. dunnii* foi capaz de acumular mais água nos tecidos, todavia isto não implicou no aumento do peso seco em relação a *E. viminialis*.

**Tabela 31.** Peso fresco de parte aérea (PAfresca) e raiz (Rfresca) de miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminialis*, 90 dias após o estaqueamento.

Espécie	Variáveis	
	PA fresca (g)	Raiz fresca (g)
<i>E. dunnii</i>	0,134 a	0,071 a
<i>E. viminialis</i>	0,053 b	0,010 b

Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Dados transformados por  $\sqrt{x}$ , onde x representa a variável resposta.

As espécies *E. dunnii* e *E. viminialis* não diferiram estatisticamente entre si, para nenhuma das fases sobrevivência e enraizamento das miniestacas, apresentando resultados muito baixos para sobrevivência e enraizamento das espécies. Embora esteja seja um resultado muito baixo para o enraizamento, os resultados encontrados aqui

corroboram com os estudos de outros autores (ALFENAS *et al.* 2009; PALUDZSZYN filho *et al.*, 2006).

Com o objetivo de realizar protocolos para a propagação vegetativa *in vitro* de *E. dunnii*, Navroski (2012) constatou que na fase de enraizamento, somente três microestacas de um total de 150, formaram raiz. Estes resultados permitiram o autor afirmar que a fase de enraizamento constituiu-se no maior problema da micropropagação desta espécie, destacando que depois de enraizadas as microestacas atingiram um desenvolvimento adequado em um curto espaço de tempo.

Considerando-se a reduzida reposta ao enraizamento destas duas espécies, devem ser efetuados estudos adicionais que visem obter isolados bacterianos específicos a uma determinada espécie, com o objetivo de se obter melhores respostas para o enraizamento destas espécies que apresentam maior resistência ao frio. O uso de microorganismos associados ao conhecimento de fatores como: melhor estação do ano para enraizamento, tipo de miniestaca, substrato, tempo de formação da miniestaca, pode permitir resultados positivos em relação a espécies que apresentam recalcitrância ao enraizamento.

#### **4.6 - Sexto experimento**

Este experimento foi instalado na estação da primavera, e teve todo o seu desenvolvimento avaliado durante este período. Ao final de 50 dias, as miniestacas foram transferidas para a área de pleno sol, onde receberam alta luminosidade, acompanhado de tardes chuvosas, característico do início da estação do verão, sendo este clima crucial ao crescimento e desenvolvimento das mudas, principalmente de *E. grandis*.

Observa-se que neste experimento houve efeito significativo dos tratamentos aplicados. As espécies de *Eucalyptus* apresentaram efeito significativamente entre si durante todas as fases de desenvolvimento das miniestacas, os isolados bacterianos e a água apresentaram diferenças significativas durante as fases de SOBSCV30 e SOBSCS50, e a forma como os isolados foram aplicados diferiu significativamente entre si durante as etapas de sobrevivência das mudas, não diferindo exceto em relação ao ENRSPS90 (Tabela 32).

Os resultados obtidos neste experimento demonstram que houve interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre espécies e forma de aplicação dos isolados para SOBSCV30, interação entre a forma de aplicação e o isolado aplicado para a SOBSCV30 e SOBSCS50, e interação significativa entre espécies e isolados utilizados na SOBSCS50 e ENRSPS90 (Tabela 32).

**Tabela 32.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS50) aos 50 dias de idade, sobrevivência (SOBSPS90) e enraizamento (ENRSPS90) na saída da área de pleno sol aos 90 dias de idade após o estaqueamento.

FV	Quadrados médios			
	SOBSCV30	SOBSCS50	SOBSPS90	ENRSPS90
Espécie	0,609*	1,396*	2,543*	6,091*
Aplicação	0,350*	0,254*	0,246*	0,049 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	0,143*	0,067 <sup>ns</sup>	0,059 <sup>ns</sup>	0,125 <sup>ns</sup>
Isolado	0,318*	0,257*	0,181 <sup>ns</sup>	0,130 <sup>ns</sup>
Esp*Isolado	0,085 <sup>ns</sup>	0,165*	0,183 <sup>ns</sup>	0,150*
Aplic*Isolado	0,118*	0,146*	0,087 <sup>ns</sup>	0,087 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic*Iso	0,047 <sup>ns</sup>	0,035 <sup>ns</sup>	0,066 <sup>ns</sup>	0,044 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação

Para a avaliação de sobrevivência na saída da casa de vegetação (SOBSCV30) observou-se que a forma como os isolados foram aplicados teve interação significativa em relação à espécie de *Eucalyptus*. Os resultados apresentados na tabela 33 permitem observar que para *E. dunnii* o uso associado das técnicas de imersão e pulverização (IP) dos isolados teve efeito antagônico em relação a aplicação dos isolados pelos métodos de imersão (I) e pulverização (P) isoladamente. Já para *E. grandis* e *E. viminalis* não houve influência do método de aplicação para estas espécies.

A avaliação isolada de cada método de aplicação mostrou que para o método de imersão os melhores resultados foram obtidos com as miniestacas de *E. viminalis*, a qual diferiu estatisticamente de *E. dunnii* e *E. grandis*. A utilização dos dois métodos em conjunto (IP) foi melhor quando aplicado nas espécies de *E. grandis* e *E. viminalis*, diferindo de *E. dunnii* a qual foi estatística inferior quando comparado com ambas as

espécies. Para o método de pulverização não houve diferença estatística entre as três espécies avaliadas (Tabela 33).

**Tabela 33.** Interação entre os métodos de aplicação dos isolados em relação às espécies de *Eucalyptus* sp. testadas, para a variável sobrevivência na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), 30 dias após o estaqueamento.

Espécie	Métodos de aplicação (%)		
	I	P	IP
<i>E. dunnii</i>	77 a B	84 a A	52 b B
<i>E. grandis</i>	73 a B	81 a A	73 a A
<i>E. viminalis</i>	95 a A	90 a A	86 a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. I = imersão; P = pulverização; IP = imersão+pulverização.

Além disso, observou-se interação significativa na SOBSCV30, entre a forma de aplicação e o isolado utilizado. Para os métodos de imersão e pulverização não houve diferenças significativas entre os isolados e a testemunha aplicada, no entanto, ocorreram diferenças significativas em relação à aplicação dos referidos métodos em conjunto. Os isolados RFE32, RFE42, UBK12 e a testemunha (água), foram estatisticamente superiores ao isolado RFE05. Este isolado apresentou respostas abaixo do esperado quando aplicado através da utilização dos dois métodos em conjunto (Tabela 34).

Avaliando cada isolado separado, observa-se que para o isolado RFE05 houve diferenças estatísticas na forma como o mesmo foi aplicado. Os métodos de imersão e pulverização aplicados de forma separada apresentaram os melhores resultados para este isolado, sendo observado efeito inferior do mesmo quando aplicado através da utilização dos dois métodos em conjunto (IP). Para os demais isolados e a testemunha, não ocorreram diferenças significativas na forma como os mesmos foram aplicados (Tabela 34).



**Tabela 34.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com os métodos de aplicação em que as miniestacas foram submetidas, na sobrevivência na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), 30 dias após o estaqueamento e na saída da casa de sombra (SOBSCS50), 50 dias após o estaqueamento.

Isolado	SOBSCV30 (%)			SOBSCS50 (%)		
	I	P	IP	I	P	IP
RFE05	79 a A	73 a A	40 b B	65 a A	69 a AB	33 b B
RFE32	77 a A	92 a A	77 a A	67 a A	81 a AB	73 a AB
RFE42	85 a A	81 a A	69 a A	65 a A	50 a B	48 a AB
UBK12	92 a A	96 a A	81 a A	65 a A	79 a AB	62 a AB
T (água)	75 a A	83 a A	85 a A	54 a A	73 a AB	71 a AB

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. I = imersão; P = pulverização; IP = imersão+pulverização.

Quanto à sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS50), observou-se interação significativa entre isolados e o método pelos quais os mesmos foram aplicados. Avaliando cada método separado, observa-se que para o método de imersão, os isolados não diferiram estatisticamente entre si. Para o método de pulverização, a aplicação do isolado RFE42 foi a que apresentou os piores resultados, contudo, este não diferiu dos demais isolados e da água. Para a utilização de ambos os métodos, o isolado RFE05 apresentou os piores resultados, contudo, ele também não diferiu significativamente da aplicação dos demais isolados e da testemunha (Tabela 34).

Assim como na SOBSCV30, observou-se o mesmo comportamento em relação à SOBSCS50. A aplicação do isolado RFE05 pela utilização dos referidos métodos em conjunto mostrou-se estatisticamente inferior quando aplicados os isolados RFE32, RFE42, UBK12 e testemunha (água). Não foram observadas interações significativas entre os isolados utilizados e os métodos de imersão e pulverização, sendo estes estatisticamente iguais entre si (Tabela 34).

A diferença observada na resposta da sobrevivência das miniestacas em relação à forma como o isolado RFE05 foi aplicado pode estar relacionado à variação da eficiência do isolado de residente do filoplano quando aplicado primeiramente na imersão e posteriormente na pulverização. O tempo da aplicação do isolado até o estaqueamento propriamente dito, pode ter resultado na redução da população do isolado, e conseqüentemente na menor eficiência deste quando aplicado utilizando os dois métodos em conjunto. Embora alguns autores relatem que observaram declínio da

população de rizobactérias após um mês à inoculação (SHISHIDO *et al.*, 1995), este comportamento pode ser variável de acordo com cada isolado e as condições a qual os mesmos estão expostos.

Na saída da casa de sombra aos 50 dias, observou-se também interação significativa entre espécie e isolado aplicado, nota-se ainda, variação sobre o efeito de um mesmo isolado quando aplicado em uma diferente espécie. Para a espécie *E. dunnii* o isolado RFE42 apresentou efeito inferior quando comparado aos isolados RFE32 e UBK12, não diferindo contudo do isolado RFE05 e da testemunha. Em relação a *E. viminialis* observa-se que o isolado RFE42 teve comportamento idêntico quando aplicado em miniestacas de *E. dunnii*. Para a *E. grandis*, os isolados RFE32, RFE42 e UBK12 não diferiram da testemunha, mas tiveram efeito melhor que o isolado RFE05, embora este também não tenha diferido da testemunha (Tabela 35).

De acordo com os dados, nota-se que embora o isolado RFE32 não tenha apresentado diferenças estatísticas quando comparados com a testemunha, este foi capaz de contribuir com o desenvolvimento e sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis*, em 20,8%, 5% e 10,8%, respectivamente. Contudo, observa-se que alguns isolados demonstraram especificidade quando aplicados em diferentes espécies, caso este do isolado RFE42, que obteve melhores resultados quando aplicado em *E. grandis*, não sendo observado este efeito para *E. dunnii* e *E. viminialis*.

Os resultados da aplicação de cada isolado dentro das três espécies de *Eucalyptus* sp. estudadas demonstram que para o isolado RFE05, os melhores resultados foram obtidos quando este foi aplicado em *E. viminialis*, diferindo estatisticamente das espécies de *E. grandis* e *E. dunnii*. Para o isolado RFE42, os melhores efeitos na sobrevivência das miniestacas foram observados em *E. grandis* e *E. viminialis*, a qual diferiu estatisticamente de *E. dunnii*. Para os isolados RFE32, UBK12 e a testemunha, não foram observadas diferenças estatísticas na aplicação entre as três espécies de *Eucalyptus* sp. (Tabela 35).

**Tabela 35.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, na saída da casa de sombra aos 50 dias de idade (SOBSCS50) e enraizamento na saída da área de pleno sol 90 dias após o estaqueamento (ENRSPS90).

Isolado	SOBSCS50 (%)			ENRSPS90 (%)		
	<i>E. dunnii</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. viminalis</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. viminalis</i>
RFE05	42 b AB	46 b B	79 a AB	14 b AB	31 a B	15 b A
RFE32	58 b A	71 ab A	92 ab A	25 b A	65 a A	25 c A
RFE42	29 b B	75 a A	58 a B	10 b B	67 a A	10 b A
UBK12	56 b A	81 ab A	69 ab AB	8 b B	71 a A	8 b A
T (água)	48 b AB	67 ab AB	83 ab AB	19 b AB	50 a AB	19 b A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Na saída da área de pleno sol aos 90 dias de idade, ocorreram diferenças significativas em relação à sobrevivência (SOBSPS90) e enraizamento (ENRSPS90) de *Eucalyptus* spp. Para o enraizamento ocorreu interação significativa entre espécies de *Eucalyptus* e isolado utilizado.

Os isolados RFE05, RFE42, UBK12 e a testemunha apresentaram os melhores efeitos quando estes foram aplicados em *E. grandis*, diferindo significativamente de *E. dunnii* e *E. viminalis*. O isolado RFE32 apresentou os melhores resultados quando aplicado em *E. grandis*, seguido por *E. viminalis*, e por último e com os resultados menos desejáveis em *E. dunnii* (Tabela 35).

Observou-se que para *E. dunnii* o isolado RFE42 e UBK12 apresentaram efeito inferior ao enraizamento quando comparados ao isolado RFE32, não diferindo contudo do isolado RFE05 e da testemunha. Para a *E. grandis* não se constatou o mesmo efeito que ocorreu em *E. dunnii*. Os isolados RFE42 e UBK12 que apresentaram efeito negativo em *E. dunnii*, para *E. grandis* estes mesmo isolados apresentaram efeito positivo juntamente com o isolado RFE32, sendo estatisticamente superior quando comparados com o isolado RFE05. Em relação a *E. viminalis* não foi constatada diferenças significativas para o enraizamento utilizando os isolados bacterianos e a testemunha, embora alguns isolados tenham apresentado médias visualmente mais baixas para o enraizamento quando comparados entre si, como o caso do isolado UBK12 em que nenhuma das miniestacas aplicadas com este isolado enraizou, contudo, devido o baixo percentual de enraizamento das miniestacas não foi possível constatar significativamente estas diferenças (Tabela 35).

De maneira simplificada, nota-se que o isolado RFE32 apresentou efeito superior para as espécies de *E. grandis*, seguido de *E. dunnii*, contudo, alguns isolados demonstraram especificidade quando aplicados nas diferentes espécies, caso este do isolado RFE42 e UBK12 que se sobressaíram estatisticamente em relação ao enraizamento para *E. grandis*, mas quando aplicados em *E. dunnii* estes demonstraram efeito contrário, sendo estatisticamente inferior para a espécie (Tabela 35).

Estes resultados sustentam como já relatados neste trabalho, que existem variações do efeito dos isolados promotores de crescimento em relação uma espécie de planta e outra, havendo em alguns casos especificidade entre isolado e espécie aplicada (CHANWAY E HOLL, 1993).

Brunetta (2006) conclui que dentre nove isolados testados quanto à especificidade em quatro espécies de *Pinus*, apenas um isolado não se mostrou específico para as variáveis biomassas da parte aérea e sistema radicular, para duas das quatro espécies de *Pinus* estudada.

A sobrevivência na saída da área de rustificação aos 90 dias de idade, a espécie que apresentou maior sobrevivência foi *E. grandis* com 65,4%, a qual diferiu estatisticamente de *E. viminalis* e *E. dunnii* com 40,4% e 24,5% , respectivamente de miniestacas vivas, havendo diferenças significativas observadas em relação a sobrevivência entre *E. viminalis* e *E. dunnii* (Tabela 36).

**Tabela 36.** Percentual de miniestacas vivas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* na sobrevivência na saída da aérea de pleno sol (SOBSPS90), 90 dias após o estaqueamento.

	SOBSPS90 (%)
<i>E. dunnii</i>	24,5 c
<i>E. grandis</i>	65,4 a
<i>E. viminalis</i>	40,4 b

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Para a sobrevivência na saída da área de pleno sol, os métodos utilizados para a aplicação dos isolados e a testemunha (água) apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). A aplicação dos isolados utilizando o método de pulverização foi estatisticamente superior a utilização dos dois métodos em conjunto (imersão e pulverização), e não apresentou diferenças significativas quando comparado ao método

apenas de imersão das miniestacas (Tabela 37), ratificando os resultados observados nas avaliações na saída da casa de vegetação e saída da casa de sombra.

O maior efeito da pulverização em relação ao uso das duas técnicas combinadas, pode ser atribuído a uma população microbiana excessivamente grande, que levou ao exaurimento dos metabólitos do hospedeiro deixando assim os dois nichos inaptos a colonização das bactérias. Beattie e Lindow (1999) postulam que, naturalmente, ao chegar no filoplano uma população bacteriana sofre uma redução inicial e somente após o seu estabelecimento volta a desenvolver-se. E há de se levar consideração que nas condições realizadas no estudo, a população bacteriana aplicada no filoplano e endofiticamente pela imersão eram concentrações extremamente elevadas o que pode ter acarretado um comportamento diferente destas populações levando ao colapso do nicho ecológico e ao resultado observado.

**Tabela 37.** Percentual de sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis* na saída da área de pleno sol aos 90 dias após o estaqueamento (SOBSPS90) em relação aos métodos de aplicação dos isolados e o tratamento controle.

<b>Métodos de Aplicação dos isolados – SOBSPS90 (%)</b>	
I	40 ab
P	51 a
IP	39 b

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Para as variáveis mensuráveis observou-se que ocorreram diferenças estatísticas entre as espécies testadas em relação às variáveis: altura, comprimento de raiz e biomassa fresca de raiz das miniestacas. Para as variáveis: peso fresco e seco de parte aérea e peso seco de raiz, houve diferenças estatísticas entre as espécies de eucaliptos avaliados e a utilização dos isolados bacterianos e a testemunha (Tabela 38).

**Tabela 38.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura, comprimento de raiz, peso fresco e seco de parte aérea e raiz de miniestacas de *E. dunni*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 90 dias após o estaqueamento.

FV	Quadrados médios					
	Alt	C raiz	PA fresca	R fresca	PA seco	R seco
Espécie	50,05*	2210,3*	7,164*	10,055*	0,926*	0,167*
Isolado	2,354 <sup>ns</sup>	37,32 <sup>ns</sup>	0,144*	0,142 <sup>ns</sup>	0,030*	0,003*
Aplicação	2,264 <sup>ns</sup>	57,99 <sup>ns</sup>	0,141 <sup>ns</sup>	0,266 <sup>ns</sup>	0,018 <sup>ns</sup>	0,027 <sup>ns</sup>
Esp * Iso	1,843 <sup>ns</sup>	84,59 <sup>ns</sup>	0,121 <sup>ns</sup>	0,153 <sup>ns</sup>	0,019 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>
Aplic * Iso	1,475 <sup>ns</sup>	20,59 <sup>ns</sup>	0,091 <sup>ns</sup>	0,132 <sup>ns</sup>	0,010 <sup>ns</sup>	0,015 <sup>ns</sup>
Esp * Apli	1,064 <sup>ns</sup>	57,99 <sup>ns</sup>	0,223 <sup>ns</sup>	0,360 <sup>ns</sup>	0,032 <sup>ns</sup>	0,005 <sup>ns</sup>
Es*Iso*Apl	1,299 <sup>ns</sup>	25,46 <sup>ns</sup>	0,062 <sup>ns</sup>	0,132 <sup>ns</sup>	0,009 <sup>ns</sup>	0,019 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação

Para as variáveis: altura, comprimento de raiz e peso fresco e seco de parte aérea e raiz a espécie de *E. grandis* apresentou resultados estatisticamente superiores quando comparados a *E. dunnii* e *E. viminalis*. A espécie de *E. dunnii* diferiu significativamente em relação a *E. viminalis*, apresentando o segundo melhor resultado em relação ao comprimento de raiz, contudo, para as variáveis altura e peso fresco e seco de raiz as duas espécies não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 39).

**Tabela 39.** Altura, comprimento de raiz e peso fresco e seco de parte aérea e raiz de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 90 dias após o estaqueamento.

Espécie	Variáveis					
	Alt(cm)	Craiz(cm)	Pfresca(g)	Rfresca(g)	Pseca(g)	Rseca(g)
<i>E. dunnii</i>	3,14 b	3,36 b	0,1777 b	0,0646 b	0,0617 b	0,0139 b
<i>E. grandis</i>	9,80 a	12,5 a	0,7156 a	0,7481 a	0,2554 a	0,0998 a
<i>E. viminalis</i>	3,14 b	0,90 c	0,0708 c	0,0159 b	0,0238 c	0,0034 b

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

A espécie de *E. grandis* expressou os melhores resultados em relação ao desenvolvimento das miniestacas, sendo superior que as miniestacas das outras duas espécies em todos os parâmetros avaliados (Tabela 39). Em relação a *E. dunnii* apresentou maiores índices em relação a *E. viminalis* nos parâmetros comprimento de raiz, peso de matéria fresca e seca de parte aérea, não diferindo nas demais.

Os resultados para a variável de peso seco de raiz mostram um bom desenvolvimento do sistema radicular de *E. grandis* o qual diferiu estatisticamente quando comparado com as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis* para a variável peso seco de raiz, o que pode ter contribuído para o melhor desenvolvimento da parte aérea destas mudas (Tabela 39).

**Tabela 40.** Peso fresco e seco da parte aérea e peso seco de raiz, em função dos isolados utilizados, 90 dias após o estaqueamento.

Isolado	Variáveis		
	P fresca(g)	P seca(g)	R seca(g)
RFE05	0,241 b	0,084 b	0,026 b
RFE32	0,418 a	0,162 a	0,053 a
RFE42	0,308 ab	0,106 b	0,038 ab
UBK12	0,319 ab	0,113 ab	0,041 ab
Testemunha	0,3194 ab	0,101 b	0,034 ab

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. P = parte aérea; R = raiz.

Em relação ao peso de raiz nenhum isolado foi capaz de melhorar o desenvolvimento deste órgão. Todavia para em relação ao peso de parte aérea, observa-se que ao avaliar o peso seco de parte aérea, ou seja, descontando-se a água, observa-se que o isolado RFE32 promoveu um incremento do mesmo em relação à testemunha (Tabela 40).

Possivelmente, este fato deve-se a maior aptidão deste isolado em colonizar o filoplano. Garcia (2008), ao avaliar o efeito de uma rizobactéria, estirpe de *Bacillus cereus* no controle da ferrugem do feijoeiro e produção de grãos, observou que ao aplicar a rizobactéria por meio de microbiolização de sementes obtinha melhores resultados tanto para o biocontrole, como para a produção de grãos, em relação a quando aplicava-se esta mesma estirpe de bactéria no filoplano de plantas de feijão. Diferentemente, Carrer Filho *et al.* (2008), não observaram efeito significativo ao dispensarem no filoplano ou no rizoplano uma estirpe de *Noccardioides thermolinacnus*. De modo que é possível que a maior aptidão em colonizar um ou outro hábitat ou os dois, dependa da espécie microbiana estudada.

#### 4.7 - Sétimo experimento

Os resultados obtidos durante o período de desenvolvimento do experimento demonstraram que em todas as etapas de sobrevivência e enraizamento das miniestacas, ao menos uma fonte de variação diferiu significativamente entre si, ocorrendo interação entre alguns fatores durante as etapas de formação das mudas (Tabela 41).

Os resultados da avaliação de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade demonstram que ocorreram diferenças significativas entre as três espécies de *Eucalyptus* sp. utilizadas, entre os quatro isolados bacterianos testados e o tratamento controle, e a forma como os mesmos foram aplicados. Além disso, observou-se interação significativa pelo teste F ( $p < 0,05$ ) entre “espécie x aplicação”, “espécie x isolado” e “aplicação x isolado”.

A sobrevivência na saída da casa de sombra aos 50 dias de idade apresentou diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para as variáveis espécie e isolado, nesta fase, observou-se também interação significativa entre “aplicação x isolado”, “espécie x isolado” e “aplicação x espécie” (Tabela 41).

Aos 90 dias de idade ocorreram diferenças estatísticas na avaliação de sobrevivência na saída da área de pleno sol para as variáveis: espécie, isolado e método de aplicação, sendo, nesta etapa, observada também interação significativa entre “espécie x isolado” e “aplicação x isolado”.

Na saída da área de rustificação além da sobrevivência foram avaliadas o número de miniestacas enraizadas de *E. grandis*, *E. dunnii* e *E. viminalis*. Para a variável enraizamento observou-se diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) em relação as espécies de eucaliptos testadas e os isolados bacterianos utilizados em relação ao tratamento controle (Tabela 41).



**Tabela 41.** Análise de variância para a sobrevivência das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* durante a saída da casa de vegetação (SOBSCV30) aos 30 dias de idade, sobrevivência na saída da casa de sombra (SOBSCS50) aos 50 dias de idade, sobrevivência (SOBSPS90) e enraizamento (ENRPS90) na saída da área de pleno sol aos 90 dias de idade após o estaqueamento.

FV	Quadrados médios			
	SOBSCV30	SOBSCS50	SOBSPS90	ENRPS90
Espécie	1,121*	3,163*	2,857*	3,179*
Aplicação	0,572*	0,010 <sup>ns</sup>	0,188*	0,048 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	0,136*	0,116*	0,089 <sup>ns</sup>	0,007 <sup>ns</sup>
Isolado	0,085*	0,210*	0,217*	0,061*
Esp*Isolado	0,090*	0,160*	0,144*	0,028 <sup>ns</sup>
Aplic*Isolado	0,063*	0,199*	0,136*	0,034 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic*Isso	0,045 <sup>ns</sup>	0,107 <sup>ns</sup>	0,100	0,029 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação

O desmembramento da interação modo de aplicação e espécie de *Eucalyptus* na avaliação da sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBSCV30), permite inferir que: para *E. dunnii* a aplicação por pulverização dos isolados bacterianos configurou-se no melhor método. Para *E. grandis* e *E. viminalis* o método de aplicação do isolado não influenciou na sobrevivência das miniestacas (Tabela 42).

Em relação ao modo de aplicação e as variações interespecíficas, o método de imersão foi melhor para *E. grandis*, que apresentou as maiores taxas de sobrevivência, seguido por *E. viminalis* na avaliação realizada na saída da casa de vegetação. Para pulverização as espécies testadas não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 42). Quando aplicou-se os micro-organismos pela combinação dos dois métodos, as mudas de *E. grandis* tiveram maior percentual de sobrevivência que as demais (Tabela 42).

**Tabela 42.** Interação entre os métodos de aplicação dos isolados com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, na sobrevivência na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade (SOBSCV30).

Espécie (%)	Métodos de aplicação (%)		
	Imersão	Pulverização	Ambos os Métodos
<i>E. dunnii</i>	55 b C	88 a A	62 b B
<i>E. grandis</i>	94 a A	98 a A	89 a A
<i>E. viminalis</i>	73 a B	81 a A	60 a B

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Houve interação significativa entre *Eucalyptus* spp. e os isolados microbianos. Embora nenhum destes isolados tenha promovido o aumento da sobrevivência das mudas em casa de vegetação em relação ao tratamento controle quando comparado sua relação intraespecífica (Tabela 43). Todavia quando comparou-se o efeito dos isolados sobre a sobrevivência, de uma espécie com a outra, observa-se que para os isolados bacterianos RFE05, RFE32 e UBK12 a maior sobrevivência foi das mudas de *E. grandis*. Para o isolado RFE42, *E. dunnii* apresentou menor percentual de sobrevivência em relação as outras espécies (Tabela 43). Como não houve diferença no percentual de sobrevivência intraespecífica no tratamento controle, credita-se este efeito aos procariontes aplicados (Tabela 43).

**Tabela 43.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, na sobrevivência na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade (SOBSCV30).

Isolado	Espécies (%)		
	<i>E. dunnii</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. viminalis</i>
RFE05	77 b A	100 a A	79 b A
RFE32	75 b A	94 a A	67 b A
RFE42	50 b A	92 a A	77 a A
UBK12	73 b A	98 a A	60 b A
Testemunha	67 a A	83 a A	73 a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Na saída da casa de vegetação ainda foi possível observar interação significativa entre a forma de aplicação e o isolado utilizado. A aplicação de todos os métodos

mostrou-se igual em relação aos isolados bacterianos e o tratamento controle (Tabela 44).

Nota-se ainda que a forma como os isolados RFE05, RFE32, RFE42 e UBK12 foram aplicados nas miniestacas não diferiu significativamente entre si, contudo, a aplicação do tratamento controle por ambos os métodos foi estatisticamente inferior quando comparados a aplicação da água pelo método de imersão e pulverização (Tabela 44).

**Tabela 44.** Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), para a sobrevivência na saída da casa de vegetação aos 30 dias de idade (SOBSCV30).

Métodos de aplicação	Isolado				
	RFE05	RFE32	RFE42	UBK12	Test.
Imersão	73 a A	77 a A	65 a A	73 a A	81 a A
Pulverização	98 a A	94 a A	85 a A	85 a A	81 a A
Ambos os métodos	85 a A	65 a A	69 a A	73 a A	60 a B

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Os resultados da interação “espécie x aplicação” na SOBSCS50 apresentados na Tabela 45 indicam que não houve diferenças significativas para as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* em relação a forma como os isolados foram aplicados nestas espécies. Contudo, ocorreram diferenças significativas dentro de cada método de aplicação, sendo observado que para os métodos de Imersão e a aplicação de ambos os métodos, os melhores resultados foram observados para *E. grandis*, seguido de *E. viminalis* e por último e com resultados inferiores, *E. dunnii*. Observou-se ainda, que a aplicação pelo método de pulverização foi estatisticamente superior para *E. grandis*, o qual diferiu significativamente de *E. viminalis* e *E. dunnii* (Tabela 45).

**Tabela 45.** Interação entre os métodos de aplicação dos isolados com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, para sobrevivência na saída da casa sombra aos 50 dias de idade (SOBSCS50).

Espécie (%)	Métodos de aplicação (%)		
	Imersão	Pulverização	Ambos os Métodos
<i>E. dunnii</i>	14 a C	31 a B	19 a C
<i>E. grandis</i>	70 a A	61 a A	70 a A
<i>E. viminalis</i>	45 a B	39 a B	41 a B

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os dados de interação “espécie x isolado” na saída da casa de sombra (SOBSCS50) demonstram que não ocorreram diferenças significativas entre os isolados quando estes foram aplicados nas espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis*. Para *E. grandis*, os isolados RFE05, RFE32 e UBK12 foram estatisticamente superiores que o tratamento controle.

Analisando a aplicação de cada isolado para cada uma das espécies observa-se que para os isolados RFE32 e UBK12 os melhores resultados foram obtidos quando estes isolados foram aplicados em *E. grandis*, diferindo significativamente das espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis*. O isolado RFE05 apresentou diferenças significativas quando aplicado nas três espécies de eucaliptos, os resultados mais satisfatórios foram observados em *E. grandis*, o qual diferiu de *E. viminalis* sendo a segunda espécie que melhor se desenvolveu quando aplicado o isolado RFE05. *E. dunnii* contudo, apresentou os piores resultados quando submetido a aplicação deste isolado, sendo estatisticamente inferior as espécies de *E. grandis* e *E. viminalis*. A aplicação do isolado RFE42 e do tratamento controle não diferiu significativamente entre as espécies de *E. grandis* e *E. viminalis*, no entanto, a aplicação dos mesmos foi significativamente inferior quando aplicados na espécie de *E. dunnii* (Tabela 46).

Esta variação, segundo Misaghi (1990) pode estar relacionada a diversos fatores, estando possivelmente associada a alterações do ambiente. Garcia (2008) através de um estudo de dinâmica populacional de isolados residentes de filoplano constatou que houve crescimento e multiplicação inicial dos isolados, contudo após o período de 12 horas de dispensa dos isolados bacterianos não foi possível observar a formação de nenhuma colônia na superfície no meio semi-seletivo, isto segundo o autor, possivelmente ocorreu porque as bactérias ou não estavam mais presentes no filoplano

ou não se multiplicaram mais no meio, ocasionado provavelmente pelas mudanças de temperatura e umidade do ambiente a qual estava expostos.

**Tabela 46.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, na saída da casa de sombra aos 50 dias de idade (SOBSCS50).

Isolado	Espécie (%)		
	<i>E. dunnii</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. viminalis</i>
RFE05	29 c A	75 a A	54 b A
RFE32	12 b A	67 a A	31 b A
RFE42	10 b A	58 a AB	40 a A
UBK12	31 b A	88 a A	31 b A
Testemunha	23 b A	48 a B	52 a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Na SOBSCS50 observou-se ainda interação significativa entre “aplicação x isolado”. De acordo com os resultados, nota-se que os métodos de imersão e a utilização de ambos os métodos não apresentaram diferenças significativas em relação aos isolados utilizados, contudo, embora não significativo a aplicação da testemunha apresentou as menores médias quando comparado com os isolados bacterianos utilizando esses dois métodos. Para o método de pulverização observou que ocorreram diferenças significativas entre os isolados, sendo os isolados RFE05, UBK12 e a testemunha estatisticamente superior quando pulverizados na miniestacas de *Eucalyptus* sp. do que os isolados RFE32 e RFE42.

Avaliando cada isolado separadamente, nota-se que para os isolados RFE05, RFE32, UBK12 e a testemunha não houve diferenças estatísticas como os mesmos foram aplicados, sendo todos os métodos significativamente iguais para estes isolados e o tratamento controle, contudo, para o isolado RFE42 os melhores efeitos foram observados quando este foi aplicado utilizando o método de imersão e ambos os métodos, diferindo desta forma, significativamente do método de pulverização, o qual resultou no pior método de dispensa deste isolado na saída da casa de sombra aos 60 dias de idade (Tabela 47).

**Tabela 47.** Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), na saída da casa de sombra aos 50 dias de idade (SOBSCS50).

Métodos de aplicação	Isolado				
	RFE05	RFE32	RFE42	UBK12	Test.
Imersão	48 a A	44 a A	46 a A	40 a A	38 a A
Pulverização	65 a A	29 b A	17 b B	54 a A	54 a A
Ambos os métodos	46 a A	38 a A	46 a A	65 a A	31 a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Os resultados da interação entre “espécie x isolado” para sobrevivência na saída da área de pleno sol (SOBSPS90) indicam que para as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis* todos os isolados bacterianos e o tratamento controle apresentaram o mesmo efeito, não diferindo estatisticamente entre si. Para a espécie de *E. grandis*, nota-se que os isolados RFE05, RFE32 e UBK12 foram estatisticamente superiores quando comparado com a água, contudo, o isolado RFE42 não apresentou diferenças significativas. Os isolados RFE05, RFE32 e UBK12 apresentaram efeito positivo para o desenvolvimento e sobrevivência das miniestacas de *E. grandis* (Tabela 48).

Os dados da tabela 48 ainda demonstram a influência de cada isolado sobre as espécies de eucaliptos testadas. Os isolados RFE05, RFE32 e UBK12 apresentaram os melhores resultados quando aplicados em *E. grandis*, diferindo significativamente quando aplicados nas espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis*. O isolado RFE42 apresentou diferenças estatísticas entre as três espécies avaliadas, sendo melhor quando aplicado em *E. grandis*, seguido com o segundo melhor resultado quando aplicado em *E. viminalis* e por fim, apresentando os resultados mais baixos quando aplicado em *E. dunnii*. Para o tratamento controle, as espécies de *E. grandis* e *E. vininalis* não diferiram estatisticamente entre si, apresentando o mesmo comportamento quando submetidos a aplicação da água, contudo, a espécie de *E. dunnii* apresentou resultados mais baixos diferindo significativamente das outras espécies avaliadas (Tabela 48).

Assim como neste trabalho, diversos outros autores relatam a inconstância nos resultados pelo uso de micro-organismos, em que um isolado ora é benéfico, ora não apresenta ação sobre o crescimento vegetal, e em alguns casos torna-se até deletério a planta (FREITAS *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2005).

**Tabela 48.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, para sobrevivência (SOBSPS90) na saída da área de pleno sol, 90 dias após o estaqueamento.

Isolado	Espécies (%)		
	<i>E. dunnii</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. viminalis</i>
RFE05	23 b A	65 a A	40 b A
RFE32	8 b A	54 a A	23 b A
RFE42	4 c A	46 a AB	23 b A
UBK12	25 b A	75 a A	15 b A
Testemunha	4 b A	40 a B	38 a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Os resultados da sobrevivência na saída da área de pleno sol (SOBSPS90) ainda demonstram interação significativa entre “aplicação x isolado”. De acordo com a tabela 49, observa-se que a utilização dos métodos de imersão e ambos os métodos não apresentaram diferenças estatísticas na aplicação dos isolados bacterianos e na aplicação do tratamento controle, apresentando resultados iguais quando dispensados por estes métodos. O uso da pulverização como método de aplicação dos isolados e do tratamento controle, apresentou diferenças significativas entre os tratamentos avaliados, sendo a aplicação do isolado RFE05 pela pulverização estatisticamente superior quando comparado com a utilização dos isolados RFE32 e RFE42 utilizando o mesmo método. Os isolados UBK12 e a testemunha não diferiram do isolado RFE05 e do isolado RFE32, contudo, foram estatisticamente superiores ao isolado RFE42.

Avaliando cada isolado separadamente com cada método de aplicação, tem-se que para os isolados RFE05, RFE32, UBK12 e a testemunha não a diferenças estatísticas na forma como os mesmo são aplicados, podendo ser utilizado um dos três métodos sem obter efeitos distintos, contudo, para o isolado RFE42, o método de imersão foi significativamente melhor quando comparado com os métodos de pulverização e a utilização de ambos os métodos (Tabela 49), sendo o mais recomendado para este isolado a dispensa pelo método de imersão, a fim de se obter melhores resultados.

**Tabela 49.** Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), para a sobrevivência (SOBSPS90) na saída da área de pleno sol, 90 dias após o estaqueamento.

Métodos de aplicação	Isolado				
	RFE05	RFE32	RFE42	UBK12	Test.
Imersão	42a A	40a A	44a A	38a A	29a A
Pulverização	52a A	17 bc A	10c B	38ab A	35 ab A
Ambos os métodos	33a A	29a A	19a B	40a A	17a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Na avaliação de ENRSPS90 os resultados demonstraram a dificuldade de enraizamento das espécies de *E. dunnii* e *E. viminialis* o qual apresentaram um percentual de 3,3% e 0,4% de miniestacas enraizadas, não diferindo estatisticamente entre si, confirmando assim a recalcitrância das espécies, principalmente de *E. viminialis*. A espécie de *E. grandis* apresentou resultados satisfatórios em relação a esta variável, sendo estatisticamente superior a *E. dunnii* e *E. viminialis*, com 42% de mudas com raízes formadas (Tabela 50).

**Tabela 50.** Percentual de enraizamento das miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminialis*, na saída da área de pleno sol aos 90 dias após o estaqueamento (ENRSPS90).

Espécie	Enraizamento (%)
<i>E. dunnii</i>	3,3 b
<i>E. grandis</i>	42 a
<i>E. viminialis</i>	0,4 b

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

A aplicação dos isolados bacterianos e do tratamento controle sobre as miniestacas de *Eucalyptus* sp. apresentaram influência significativa aos 90 dias de idade em relação ao enraizamento das espécies. De acordo com os dados da tabela 51, a utilização do isolado UBK12 gerou efeitos positivos em até 93,2% para o enraizamento sendo este estatisticamente superior quando comparado a aplicação do tratamento controle, contudo, este isolado não apresentou diferenças significativas quando comparado a utilização dos isolados RFE05, RFE32 e RFE42.



**Tabela 51.** Enraizamento das miniestacas de *Eucalyptus* sp. em relação aos isolados bacterianos e a testemunha, na saída da área de pleno sol (ENRSPS90), 90 dias após o estaqueamento.

Isolado	Enraizamento
RFE05	19 ab
RFE32	13 ab
RFE42	13 ab
UBK12	20 a
Testemunha	10 b

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Em relação às variáveis mensuráveis obtidas após a formação das miniestacas aos 90 dias, observou-se que ocorreram diferenças estatísticas entre as espécies de *Eucalyptus* testadas para às variáveis: comprimento de raiz, biomassa seca e fresca de parte aérea e raiz das miniestacas. Para a variável altura ocorreram diferenças significativas entre espécies e aplicação, sendo observada interação significativa entre “espécie x isolado” e “aplicação x isolado” (Tabela 52).

**Tabela 52.** Análise de variância para as variáveis mensuráveis: altura, comprimento de raiz, massa seca e fresca de parte aérea e raiz de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 90 dias após o estaqueamento.

FV	Variáveis					
	Alt	C raiz	PA fresca	R fresca	PA seco	R seco
Espécie	599,6*	1239,8*	4,414*	4,669*	0,5758*	0,069*
Isolado	28,44*	15,48 <sup>ns</sup>	0,079 <sup>ns</sup>	0,080 <sup>ns</sup>	0,009 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>
Aplicação	30,68*	3,62 <sup>ns</sup>	0,136 <sup>ns</sup>	0,109 <sup>ns</sup>	0,012 <sup>ns</sup>	0,019 <sup>ns</sup>
Esp * Isso	14,59*	5,73 <sup>ns</sup>	0,041 <sup>ns</sup>	0,052 <sup>ns</sup>	0,004 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>
Aplic*Isso	16,30 <sup>ns</sup>	15,34 <sup>ns</sup>	0,058 <sup>ns</sup>	0,047 <sup>ns</sup>	0,006 <sup>ns</sup>	0,0007 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic	9,00 <sup>ns</sup>	3,61 <sup>ns</sup>	0,064 <sup>ns</sup>	0,071 <sup>ns</sup>	0,004 <sup>ns</sup>	0,0012 <sup>ns</sup>
Es*Iso*Ap	141,6 <sup>ns</sup>	15,36 <sup>ns</sup>	0,051 <sup>ns</sup>	0,043 <sup>ns</sup>	0,005 <sup>ns</sup>	0,0007 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação

Os resultados da interação ocorrida entre “espécie x isolado” em relação à variável altura podem ser observados na tabela 54. De acordo com os dados, nota-se que para as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis* não houve diferença significativa entre os isolados bacterianos e o tratamento controle aplicados nestas espécies, sendo todos

estatisticamente iguais. Para *E. grandis*, observa-se que os isolados RFE05, RFE32 e UBK12 foram estatisticamente superiores quando comparados com a testemunha, apresentando ganhos de até 87,9% quando aplicado o isolado UBK12 em contrapartida a aplicação do tratamento controle. O isolado RFE42 não diferiu significativamente dos demais isolados bacterianos e da aplicação da testemunha (Tabela 53).

A partir dos dados da interação ainda é possível avaliar o uso de cada isolado sobre as três espécies de eucaliptos testadas. Observa-se que todos os isolados bacterianos utilizados foram estatisticamente superiores quando aplicados em *E. grandis*, do que quando aplicados em *E. dunnii* e *E. viminalis* (Tabela 53).

Embora aparentemente ainda não haja um consenso na literatura sobre a existência de especificidade de alguns isolados bacterianos, alguns pesquisadores (ENEBAK, 2005; BRUNETTA *et al.*, 2007) acreditam que elas existem e apontam esta especificidade entre bactéria-hospedeiro como sendo um fator indesejável, visto que isolados bacterianos específicos inviabilizariam a produção e utilização dos mesmos a nível comercial.

Na literatura, contudo, existem muitos exemplos demonstrando a possibilidade de uso de rizobactérias e residentes do filoplano em diferentes espécies de plantas, tipos de solo e regiões (ANTOUN & PRÉVOST, 2005) não sendo portanto, esse fator o limitante para o uso de isolados bacterianos em diferentes espécies.

Em relação a aplicação do tratamento controle, as miniestacas das espécies de *E. grandis* e *E. viminalis* não diferiram significativamente entre si, contudo, diferiram estatisticamente de *E. dunnii*, o qual apresentou resultados inferiores até mesmo quando aplicada a testemunha (Tabela 53).

**Tabela 53.** Interação entre isolados bacterianos e a testemunha (água) com as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, para a variável altura, 90 dias após o estaqueamento.

Isolado	Espécies - Altura (cm)		
	<i>E. dunnii</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. viminalis</i>
RFE05	2,48 b A	8,26 a A	3,21 b A
RFE32	0,61 b A	6,91 a A	1,91 b A
RFE42	0,36 b A	6,35 a AB	1,79 b A
UBK12	2,51 b A	9,34 a A	1,28 b A
Testemunha	0,40 b A	4,97 a B	2,98 a A

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Foi observado também interação significativa entre método de aplicação e isolado utilizado. Os isolados RFE05, UBK12 e a testemunha, não apresentaram diferenças significativas em relação a forma como estes foram aplicados. Para o isolado RFE32, os métodos de imersão e a utilização de ambos os métodos (IP) foi estatisticamente a aplicação através da pulverização. Para o isolado RFE42 o melhor método de aplicação foi a imersão, a qual diferiu estatisticamente da aplicação pelo método de pulverização (P) e da utilização de ambos os métodos (IP) (Tabela 54).

Avaliando cada método separado, observa-se que para o método de imersão, os isolados e o tratamento controle não diferiram estatisticamente entre si. Para o método de pulverização os melhores resultados foram obtidos quando aplicados os isolados RFE05, UBK12 e a testemunha, o qual diferiram significativamente dos isolados RFE32 e RFE42 quando aplicados por este método (P). A aplicação de ambos os métodos (IP) mostrou os melhores resultados para os isolados RFE05, RFE32 e UBK12, diferindo portanto do isolado RFE42 e da testemunha (Tabela 54).

**Tabela 54.** Interação entre os métodos de aplicação com os isolados bacterianos e a testemunha (água), para a variável altura, 90 dias após o estaqueamento.

Isolado	Espécies - Altura (cm)		
	I	P	IP
RFE05	4,67 a A	5,48 a A	3,81 a A
RFE32	4,40 a A	1,97 b B	3,07 a A
RFE42	5,18 a A	1,12 b B	2,21 b B
UBK12	4,56 a A	4,22 a A	4,35 a A
Testemunha	3,00 a A	3,83 a A	1,51 a B

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

De acordo com os resultados da Tabela 55, observa-se que as miniestacas de *E. grandis* foram a que expressaram os melhores dados de desenvolvimento em comprimento de raiz, biomassa fresca e seca de parte aérea e raiz quando comparadas com as miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminalis*. Para estas variáveis, *E. grandis* demonstrou-se estatisticamente superior quando comparada a *E. dunnii* e *E. viminalis*, diferindo significativamente de ambas as espécies.

**Tabela 55.** Comprimento de raiz, peso fresco e seco de parte aérea raiz de miniestacas de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, 90 dias após o estaqueamento.

Espécie	Variáveis				
	C raiz(cm)	PA fresca(g)	R fresca(g)	PA seco(g)	R seco(g)
<i>E. dunnii</i>	0,56 b	0,0496 b	0,0172 b	0,0164 b	0,0029 b
<i>E. grandis</i>	8,15 a	0,5177 a	0,4919 a	0,1854 a	0,0602 a
<i>E. viminalis</i>	0,012 b	0,0462 b	0,0007 b	0,0150 b	0,0000 b

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

#### 4.8 - Área abaixo da curva do progresso da sobrevivência e enraizamento

Os resultados da análise de variância demonstraram diferença significativa quanto a área abaixo da curva de progresso de sobrevivência (AACPS) e de enraizamento (AACPE) de miniestacas ( $p > 0,05$ ) de *Eucalyptus* spp. durante os meses de março de 2013 a janeiro de 2014 (Tabela 56).

Para a sobrevivência na saída da casa de vegetação ocorreram diferenças significativas em relação aos isolados testados e a forma como os mesmos foram aplicados nas miniestacas.

Considerando a sobrevivência na saída da casa de sombra observou-se diferença significativa entre as espécies de *Eucalyptus* spp. utilizadas e os métodos pelos quais os isolados bacterianos e testemunha foram aplicados.

Em relação à sobrevivência e enraizamento na saída da área de pleno sol, foram observadas diferenças significativas entre as espécies de *Eucalyptus* spp. utilizadas para a variável sobrevivência, e para o enraizamento observou-se diferença significativa entre os isolados utilizados, sendo observada interação significativa entre “espécie x isolado” na fase final de formação da muda.

**Tabela 56.** Análise de variância sobre a área abaixo da curva de progresso da sobrevivência e enraizamento de miniestacas, em função dos diferentes isolados testados, da forma como os mesmos foram aplicados e das diferentes espécies de *Eucalyptus* spp. utilizadas.

FV	Quadrados Médios			
	SOBSCV	SOBSCS	SOBSPL	ENRSPL
Espécie	0,921 <sup>ns</sup>	19,14*	78,98*	121,87 <sup>ns</sup>
Aplicação	4,442*	5,745*	1,819 <sup>ns</sup>	0,865 <sup>ns</sup>
Isolado	2,893*	1,641 <sup>ns</sup>	4,154 <sup>ns</sup>	1,502*
Esp*Aplic	1,168 <sup>ns</sup>	0,787 <sup>ns</sup>	1,510 <sup>ns</sup>	0,779 <sup>ns</sup>
Esp*Isolado	0,647 <sup>ns</sup>	0,544 <sup>ns</sup>	1,292 <sup>ns</sup>	1,709*
Aplic*Isolado	0,571 <sup>ns</sup>	1,441 <sup>ns</sup>	0,860 <sup>ns</sup>	0,738 <sup>ns</sup>
Esp*Aplic*Iso	0,706 <sup>ns</sup>	0,971 <sup>ns</sup>	1,312 <sup>ns</sup>	0,769 <sup>ns</sup>

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação.

Para a avaliação da sobrevivência na saída da casa de vegetação, observou-se que os isolados bacterianos testados não foram capazes de promover o crescimento e enraizamento das miniestacas durante os meses de avaliação, sendo ainda observado que o isolado RFE05 apresentou resultado estatisticamente inferior quando comparado com a testemunha, indicando um possível efeito deletério na planta (Tabela 57).

Segundo Soterro *et al.*, (2006) a associação dos micro-organismos com a rizosfera das plantas é essencial para que haja interação benéfica entre a planta alvo, no entanto, nem sempre é possível observar efeito promotor dos isolados utilizados. Suslow e Schroth (1982) apontam as condições ambientais como um dos principais fatores que interferem no estabelecimento dos micro-organismos incorporados na planta. Sendo relatado que os intemperis ambientais podem afetar negativamente na capacidade da bactéria de se mover do local de inoculação até o ponto necessário para que haja o estabelecimento das mesmas no vegetal, impedindo desta forma que estas se associem e causem efeito promotor.

Independente do isolado utilizado os resultados indicaram que a utilização do método de pulverização foi estatisticamente superior a aplicação dos outros métodos dentro da casa de vegetação, demonstrando que embora os isolados não tenham efeito pronunciado, um possível agente promotor poderia colonizar e se estabelecer na planta quando aplicado por este método (Tabela 57).

De acordo com Schroth e Becker (1990) citado por Peixoto (1997), a metodologia de aplicação de rizobactérias e bactérias residentes do filoplano, ou seja

inoculação no sistema radicular e na parte aérea, pode afetar significativamente a distribuição e a população destes micro-organismos na planta, sendo considerados como os meios de aplicação mais eficientes os métodos de irrigação, como foi observado no presente trabalho, e o método de incorporação do inóculo ao solo ou substrato do vegetal.

Na saída da casa de vegetação não houve diferença significativa entre a sobrevivência das três espécies de *Eucalyptus* spp. testadas. Isto possivelmente está relacionado ao adequado controle e manejo encontrados no interior da casa de vegetação, a qual permitiu que todas as plantas recebessem as mesmas condições de temperatura e umidade. De modo similar Borges (2011), observou ao final de 30 dias em casa de vegetação que, as miniestacas de todos os clones avaliados apresentaram alto percentual de sobrevivência, não diferindo estatisticamente entre si, evidenciando desta forma um bom controle das condições ambientais dentro da casa de vegetação.

**Tabela 57.** Área abaixo da curva de progresso da sobrevivência de miniestacas de *Eucalyptus* spp. na saída da casa de vegetação (AAPSCV), em função dos isolados utilizados e a forma como os mesmos foram aplicados.

Fatores	AAPSCV	
Aplicação	I	6,8688 b
	P	7,3167 a
	IP	6,8250 b
Isolado	RFE05	6,6007 b
	RFE32	6,9167 ab
	RFE42	6,9479 ab
	UBK12	7,2708 a
	Testemunha	7,2812 a

Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. I= imersão; p = pulverização; IP = imersão + pulverização.

Os resultados encontrados na saída da casa de sombra em área coberta com sombrite a 50% demonstraram que as miniestacas de *E. grandis* apresentaram maior sobrevivência quando comparado as miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminalis* durante o período avaliado (Tabela 58).

A diferença observada para a sobrevivência das miniestacas de *Eucalyptus* spp. na saída da casa de sombra pode estar relacionado a capacidade de formação de raiz adventícia das espécies avaliadas. Segundo Klerk (2002), existem espécies que

apresentam recalcitrância ao enraizamento adventício, o que pode se tornar um obstáculo na propagação vegetativa destas espécies.

Neste contexto, a diferença observada na sobrevivência das miniestacas das três espécies de *Eucalyptus* spp. testadas na saída da casa de sombra, possivelmente está relacionada à recalcitrância das espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis* ao enraizamento. As miniestacas destas duas espécies provavelmente não foram capazes de formar raízes na saída da casa de vegetação ou tiveram o sistema radicular mal formado, devido o estresse ocorrido no ambiente adverso daquele encontrado dentro da casa de vegetação (BRONDANI *et al.*, 2010), ocasionando assim a morte das miniestacas e diferenças quanto a sobrevivência das mesmas quando estas foram transferidas para a casa de sombra.

Embora não tenha ocorrido efeito dos isolados, os métodos de aplicação apresentaram diferenças estatísticas quando comparados entre si, sendo observado o mesmo efeito que na casa de vegetação onde a utilização do método de pulverização foi estatisticamente superior a utilização dos outros dois métodos para as miniestacas dentro da casa de sombra (Tabela 58).

Diversos fatores podem explicar o fato do método de Kijima e da utilização de ambos os métodos não apresentarem igual eficiência quando comparado ao método de pulverização.

O método de Kijima foi proposto com objetivo de introduzir bactérias endofíticas em plantas olerícolas através de aberturas naturais do filoplano e ferimentos nas raízes, com o intuito de que as bactérias tivessem oportunidade de penetrar e colonizar nos tecidos internos afim de promover benefícios as plantas de tomate. Assim, para esta finalidade, o método realmente funciona, sendo relatado por Kijima *et al.*, (1995) resultados próximos a 100% de enraizamento para plantas de tomate. Contudo, em estudo realizado por Silva *et al.* (2003) os autores demonstraram que a PGPR's não se adequam ao método devido a falta do sistema radicular, ambiente natural a qual estes isolados são encontrados.

**Tabela 58.** Área abaixo da curva de progresso da sobrevivência de miniestacas na saída da casa de sombra (AACPSCS), em função das espécies de *Eucalyptus* spp. utilizadas e dos métodos utilizados para a aplicação dos isolados.

Fatores	AACPSCS	
	Espécie	<i>E. dunnii</i>
	<i>E. grandis</i>	6,1417 a
	<i>E. viminalis</i>	5,0500 b
Aplicação	I	5,3958 b
	P	5,8625 a
	IP	5,2771 b

Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. I= imersão; p = pulverização; IP = imersão + pulverização.

Na área de pleno sol observou-se que durante os meses de avaliação houve maior sobrevivência das miniestacas de *E. grandis* quando comparadas com as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis* (Tabela 59).

Nesta fase ocorreu ainda efeito significativo dos isolados, onde os isolados RFE05, RFE32 e UBK12 não diferiram da utilização da testemunha, contudo, o isolado RFE42 apresentou efeito estatisticamente inferior quando comparado a aplicação do isolado RFE32, não diferindo da aplicação da testemunha (Tabela 59).

Segundo Teixeira (2001) os efeitos negativos que um possível agente promotor de crescimento pode causar na planta não são de fácil percepção, pois o efeito prejudicial não ocorre na forma de infecção ou aparecimento de manchas como usualmente é visto quando esses sintomas são causados por micro-organismos fitopatogênicos. Observa-se em alguns estudos (SANTOS *et al.*, 2008; SCHLINDWEIN *et al.*, 2008; CARMO, 2012; que este efeito deletério está associado ao desenvolvimento da planta, podendo, este inibir a germinação da semente, o desenvolvimento do vegetal e até mesmo o enraizamento do propágulo vegetativo. Acredita-se que o efeito benéfico ou deletério que um micro-organismo pode causar em uma planta, está relacionado à especificidade que este agente possui em relação ao vegetal a qual ele está inserido.



**Tabela 59.** Área abaixo da curva de progresso da sobrevivência das miniestacas na saída da área de pleno sol (AACPSPL), em função das espécies de *Eucalyptus* spp. e dos isolados utilizados.

Fatores	AACPSPL	
	Espécie	<i>E. dunnii</i>
<i>E. grandis</i>		3,9625 a
<i>E. viminalis</i>		1,9271 b
Isolado	RFE05	2,4479 ab
	RFE32	2,9167 a
	RFE42	2,1562 b
	UBK12	2,7014 ab
	Testemunha	2,9722 ab

Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Para a avaliação de enraizamento, as miniestacas apresentaram durante os meses de avaliação final dos experimentos, interação significativa entre espécie de *Eucalyptus* spp. e isolado utilizado (Tabela 60).

Os isolados bacterianos apresentaram efeito distinto quando aplicados em espécies diferentes. As miniestacas de *E. dunnii* quando tratadas com os isolados RFE42 e UBK12 apresentaram efeito inferior quando comparado com a aplicação da testemunha, tendo estes isolados efeito deletério para o enraizamento desta espécie. Para as miniestacas de *E. grandis*, observou-se que o isolado RFE05 foi inferior a aplicação dos demais isolados e da aplicação da testemunha para a variável enraizamento, não tendo sido observado o efeito negativo deste isolado para a espécie de *E. dunnii*. Para *E. viminalis* em relação ao enraizamento, os isolados não diferiram da aplicação da testemunha (Tabela 60).

A aplicação dos isolados e da testemunha foi superior para o enraizamento de *E. grandis*, diferindo estatisticamente da utilização destes isolados e da testemunha em miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminalis*. O enraizamento superior das miniestacas de *E. grandis* esta possivelmente relacionado as características genéticas da própria espécie de *Eucalyptus* e não do isolado, pois observa-se que os mesmos não apresentaram efeito superior quando comparadas com a utilização da testemunha.

Segundo Borges *et al.* (2011), a variação no processo de formação de raiz de miniestacas de *Eucalyptus* está relacionado ao genótipo da própria planta, a qual pode influenciar na capacidade e no percentual de enraizamento das miniestacas de uma

mesma espécie ou até mesmo de um clone, caso este, observado em estudo realizado pelos próprios autores.

**Tabela 60.** Interação espécie de *Eucalyptus* spp. e isolados bacterianos utilizados, para a área abaixo da curva de progresso do enraizamento das miniestacas na saída da área de pleno sol (AACPSENK).

Espécie	Isolado				
	RFE05	RFE32	RFE42	UBK12	Testemunha
<i>E. dunnii</i>	1,36 a B	1,58 a B	0,98 b B	1,21 b B	2,16 a B
<i>E. grandis</i>	2,61 b A	3,56 a A	3,55 a A	3,80 a A	3,42 a A
<i>E. viminalis</i>	0,66 a B	0,60 a C	0,56 a B	0,56 a B	0,66 a C

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.9 Área abaixo da curva do progresso da altura, comprimento de raiz, peso seco e fresco de parte aérea e raiz de miniestacas de *Eucalyptus* spp.

Os resultados obtidos na análise de variância demonstraram que houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) em relação à área abaixo da curva de progresso de altura, comprimento de raiz, peso fresco e seco de parte aérea e raiz das miniestacas, expressa pelo modelo matemático de crescimento.

Para a variável altura, observou-se efeito significativo entre as espécies de *Eucalyptus* spp. e os isolados testados durante todo os meses de avaliação. Para o comprimento de raiz, ocorreu efeito significativo entre as três espécies de *Eucalyptus* spp. estudadas, sendo ainda observado interação significativa entre “espécie x isolado”. Os resultados do peso fresco e seco de parte aérea e raiz demonstram efeito significativo entre as espécies de *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. viminalis* ao longo dos meses avaliados (Tabela 61).

**Tabela 61.** Análise de variância sobre a área abaixo da curva de progresso da altura, comprimento de raiz, peso seco e fresco de parte aérea e raiz das miniestacas, em função dos diferentes isolados testados, da forma como os mesmos foram aplicados e das diferentes espécies de *Eucalyptus* spp. utilizadas.

FV	Variáveis					
	Alt	C raiz	PA fresca	R fresca	PA seco	R seco
Espécie	17415,2*	59693,0*	101,53*	139,75*	13,341*	2,545*
Isolado	301,87*	131,74	1,210	1,255	0,172	0,0291
Aplicação	300,10	680,53	0,969	2,484	0,171	0,0389
Esp*Isso	177,57	683,79*	0,825	0,951	0,111	0,0202
Aplic*Isso	106,44	366,02	0,792	1,314	0,123	0,0199
Esp*Aplic	98,01	552,88	1,077	2,648	0,187	0,0324
Es*Iso*Ap	165,22	329,28	0,595	1,063	0,105	0,0232

\* valor significativo ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. ns valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. FV = Fonte de variação.

Para as avaliações realizadas para a variável altura, nota-se pelos resultados da área abaixo da curva do progresso de altura (AACPH), que as miniestacas de *E. grandis* apresentaram melhor desenvolvimento, diferindo das miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminalis* independente do período do ano avaliado. Ainda, observa-se que as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis* diferiram estatisticamente entre si, tendo as miniestacas de *E. dunnii* apresentando melhor desenvolvimento em altura durante o período avaliado quando comparado com as miniestacas de *E. viminalis* (Tabela 62).

Em relação à utilização do isolados, observou-se que nenhum isolado foi capaz de promover o crescimento em altura das miniestacas de *Eucalyptus* spp. quando comparado com a testemunha. Verificou-se ainda, que o isolado RFE42 apresentou resultados estatisticamente inferiores quando comparados com a utilização da testemunha, causando uma possível estagnação de crescimento em altura das miniestacas tratadas com este isolado (Tabela 62).

De acordo com Atkinson e Watson (2000), a grande dificuldade no uso de bactérias na promoção de crescimento e desenvolvimento das plantas está relacionada à complexidade destes micro-organismos de se estabelecerem e se desenvolver em campo. Muitos autores (CARVALHO *et al.* 2005; MAFIA *et al.* 2009;) relatam ainda a variabilidade nos resultados encontrados em testes *in vitro* e *in vivo*, utilizando estes micro-organismos tanto como promotores de crescimento como agentes de controle biológico, tendo como possível causa destas variações os fatores ambientais e genéticos da planta e do isolado bacteriano utilizado.

**Tabela 62.** Área abaixo da curva de progresso da altura das miniestacas (AACPH), em função das espécies de *Eucalyptus* spp. e dos isolados utilizados.

Fatores	AACPH	
	Espécie	<i>E. dunnii</i>
<i>E. grandis</i>		43,7029 a
<i>E. viminalis</i>		11,7612 c
Isolado	RFE05	22,5062 ab
	RFE32	27,9684 a
	RFE42	20,5347 b
	UBK12	25,9090 ab
	Testemunha	24,6184 ab

Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Pelos resultados da área abaixo da curva de progresso de comprimento de raiz (AACPCR) apresentados na Tabela 63, observa-se que para a *E. grandis* os isolados RFE32, RFE42 e UBK12 foram estatisticamente superiores a aplicação da testemunha, indicando um efeito favorável ao desenvolvimento da raiz quando utilizados estes isolados em miniestacas desta espécie. Para as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis* a aplicação dos isolados bacterianos não diferiu estatisticamente da aplicação da testemunha, demonstrando que nenhum dos isolados teve efeito promotor sobre as miniestacas destas espécies.

Esses resultados corroboram com os autores Kuklinsky-Sobral *et al.*, (2004) e Compant *et al.*, (2010), a qual relatam que o processo de interação benéfica ou deletéria entre bactéria-planta é variável, e este é influenciado pelos aspectos genéticos da planta hospedeira e da bactéria associada, pelas mudanças sazonais e especificidade das plantas, podendo ocorrer efeitos distintos entre bactérias e plantas do mesmo gênero ou até mesmo pertencentes a uma mesma espécie.

As miniestacas de *E. grandis* apresentaram melhor desenvolvimento em relação ao comprimento de raiz quando comparado com as miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminalis* independente do isolado utilizado ou da aplicação da água (Tabela 63). Esta diferença pode estar relacionada às características que a espécie de *E. grandis* possui, a qual apresenta facilidade ao enraizamento e desenvolvimento da muda em condições adequadas quando comparado com outras espécies de *Eucalyptus* spp. , como *E. dunnii* e *E. viminalis*.

**Tabela 63.** Interação espécie de *Eucalyptus* spp. e isolados bacterianos utilizados, para a área abaixo da curva de progresso de comprimento de raiz das miniestacas.

Espécie	Isolado				
	RFE05	RFE32	RFE42	UBK12	Testemunha
<i>E. dunnii</i>	22,86 a B	28,26 a B	14,33 a B	18,37 a B	20,96 a B
<i>E. grandis</i>	54,48 b A	62,72 a A	71,97 a A	75,95 a A	55,94 b A
<i>E. viminalis</i>	3,57 a C	1,52 a C	1,41 a B	0,44 a C	7,16 a B

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Atráves dos resultados da análise da área abaixo da curva de progresso de peso fresco e seco de parte aérea e raiz das miniestacas nota-se, que as miniestacas de *Eucalyptus* spp. diferiram estatisticamente em relação as estas variáveis. As miniestacas de *E. grandis* apresentaram desenvolvimento superior em relação ao peso de massa fresca e seca das mudas quando comparadas as miniestacas de *E. dunnii* e *E. viminalis*. Observa-se ainda, que para a área abaixo da curva de progresso de massa fresca e seca de parte aérea e massa seca de raiz, as miniestacas de *E. dunnii* embora tenham sido estatisticamente inferior as miniestacas de *E. grandis*, estas foram superiores em relação a estas variáveis quando comparada com as miniestacas de *E. viminalis* (Tabela 64).

As diferentes respostas encontradas entre as espécies de *Eucalyptus* para as características avaliadas ao final do período de formação da muda possivelmente estão relacionadas às características genéticas de cada uma das espécies estudadas. Em trabalho realizado por Dias *et al.* (2012) os autores atribuíram o fator genético como possível causa entre as diferenças observadas entre progênies de angico-vermelho na saída da casa de vegetação e saída da casa de sombra. Segundo Mankessi *et al.* (2009) podem ocorrer diferenças nas características entre genótipos estreitamente aparentados de acordo com a capacidade rizogênica do material vegetal.

**Tabela 64.** Área abaixo da curva de progresso de peso fresco de parte aérea (AACPPUA) e de raiz (AACPPUR), e peso seco de parte aérea (AACPPSA) e raiz (AACPPSR) das miniestacas, em função das espécies de *Eucalyptus* spp. utilizadas.

Espécie	Variáveis			
	AACPPUA	AACPPUR	AACPPSA	AACPPSR
<i>E. dunnii</i>	0,8567 b	0,4771 b	0,3124 b	0,0963 b
<i>E. grandis</i>	2,7297 a	2,8754 a	0,9888 a	0,4013 a
<i>E. viminalis</i>	0,2284 c	0,0412 b	0,814 c	0,0090 c

Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

## 5. CONCLUSÕES

Os isolados bacterianos testados apresentaram alta variabilidade na resposta de promoção de crescimento e enraizamento das miniestacas de *E. grandis*, *E. dunnii* e *E. viminalis* possivelmente em função da época do ano e as condições climáticas e assim não foram capazes de promover o crescimento das mudas das espécies avaliadas.

O modo de aplicação não teve efeito pronunciado devido à ausência de efeito promotor dos isolados testados.

A propagação por miniestaquia da espécie de *E. grandis* se sobressaiu em relação as espécies de *E. dunnii* e *E. viminalis*, mesmo em condições menos propícias ao seu desenvolvimento.

A espécie de *E. viminalis* possui alta recalcitrância ao enraizamento.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, J. I. M. **Método de melhoramento, assistido por marcadores moleculares, visando à obtenção de híbridos de *Eucalyptus* spp.** Viçosa, MG: UFV, 2000. 77 p. Tese (Mestrado em genética e melhoramento) Universidade Federal de Viçosa, 2000.

ABRAF – **Associação Brasileira de produtores de florestas plantadas.** Ano base 2012. ABRAF: Brasília, 2013. Disponível em: <file:///D:/Documentos/Downloads/anuario-ABRAF-2013.pdf> Acesso em: 16/09/2013

ABRAF – **Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas.** Ano Base 2011. ABRAF: Brasília, 2012. Disponível em: [http://www.abraflor.org.br/documentos/folder\\_Abraf.pdf](http://www.abraflor.org.br/documentos/folder_Abraf.pdf) Acesso em: 24/04/2012

ABRAF – **Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas.** Ano Base 2004. ABRAF: Brasília, 2005. Disponível em: [http://www.abraflor.org.br/documentos/folder\\_Abraf.pdf](http://www.abraflor.org.br/documentos/folder_Abraf.pdf) Acesso em: 23/04/2012

AGRIOS, G. N. **Plant pathology.** Burlington: Elsevier Academic, 2005. 922p.

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do Eucalipto.** Viçosa: UFV, 2009. 500p.

ALMEIDA, F. D.; XAVIER, A.; DIAS, J. M. M.; PAIVA, H. N. Eficiência das auxinas (AIB e ANA) no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell<sup>l</sup>. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n.3, p. 455- 463, 2007

ANDREWS, J. H.; HIRANO, S. S. **Microbial Ecology of Leaves.** New York: Springer-Verlag, 1991. 481p.

ANTOUN, H; PRÉVOST, D. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: SIDDIQUI, Z.A. (ed.), **PGPR: Biocontrol and biofertilization**, Netherlands, Springer, p.1-38, 2005

ASSIS, T.F. Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por microestaquia. **I Conferência sobre silvicultura e melhoramento de eucaliptos**, Salvador: BA. p. 300 – 304. 1997.

ASSIS, T. F.; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: Borém, A. (Ed.). **Biotecnologia Florestal.** Viçosa: Suprema, p. 93 – 121, 2007

ATKINSON, D.; WATSON, C. A. The beneficial rhizosphere: a dynamic entity. **Applied Soil Ecology**, v.15, p 99 – 104, 2000.

BAKER, C.J.; STAVELY, J.R.; MOCK, N. Biocontrol of bean rust by *bacillus subtilis* under field conditions. **Plant Disease**, v. 69, n. 9, p. 770 - 772, 1985.

BATISTA, V.B.; NOBRE, S.A. M.; NOBRE, P.M; FERNANDES, B.M.A.; GOMES, H.A.R.; AGUIAR, R.M.; MELO, G.A.; PEREIRA, G.V.N. Avaliação de actinomicetos com potencial para promoção de crescimento em plântulas de tomateiro (*Lycopersicon*



*esculentum*) de diferentes cultivares. **Unimontes Científica**, Montes Claros, v. 12, n. 1/2, 2010

BEATTIE, G.A.; LINDOW, S.E. Bacterial colonization of leaves: A spectrum of strategies. **Phytopathology**, v. 89, n. 5, p. 353 - 359, 1999.

BLAKEMAN, J.P. Ecological succession of leaf surface microorganisms in relation to biological control. **Biological control on the phylloplane**, n. 3, p. 6 - 30, 1985.

BRITO, M. F.; DIAS, L. K. A.; GUIMARÃES, F.; SANTANA, J. G.; MOTA, C. S.; MONTEIRO-HARA, A. C. B. A. **Enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus* spp.** I Congresso de pesquisa e pós-graduação do campus Rio Verde do IF Goiano. 3p. 2012

BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; MELO, L. A.; ROSADO, A. M. Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 425 – 434, 2011.

BRONDANI, G. E. **Miniestaquia e micropropagação de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden.** 2008. 118p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; GROSSI, F.; DUTRA, L. F.; ARAUJO, M. A. Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*: (II) sobrevivência e enraizamento de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.20, n. 3, p. 453-465, jul.-set. 2010

BRUNETTA, J. M. F. C. **Isolamento e seleção de rizobactérias para a produção de mudas de *Pinus* spp.** 2006. 70p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

BRUNETTA, J. M. F. C.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; GOMES, J. M.; BINOTI, D. B.; FONSECA, E. P. Avaliação da especificidade de rizobactérias isoladas de diferentes espécies de *Pinus* sp. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 1027 – 1033, 2007.

CAMPOS, D.T.S. da; STIEVEN, A.C; RAMOS, F.T. Associação micorrízica em plantios de eucalipto no Brasil e no estado do Mato Grosso. **Revista Biodiversidade**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 56 – 58, 2009.

CARMO, M. A. L. **Prospecção de isolados de rizobactérias e filoplano na promoção de crescimento de mudas de *Eucalyptus benthamii*.** 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Estadual do Centro-Oeste.

CARRER FILHO, R.; ROMEIRO, R.S.; GARCIA, F.A.O. Biocontrole de doenças de parte aérea do tomateiro por *Nocardioides thermophilacinus*. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 457-460, 2008.

CATTELAN, A. J.; HARTEL, P. G.; FUHRMANN, J. J. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. **Soil Science Society of America Journal**, v. 63, p. 1670-1680, 1999.

CARVALHO, G. A.; ABREU, M. S.; OLIVEIRA, D. F.; RESENDE, M. L.; ABREU, M. F. E. Efeito *in vitro* e *in vivo* de filtrados de rizobactérias sobre colletotrichum gloeosporioides Penz. do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 553 – 561, 2006.

COELHO, L. F. **Interação de *Pseudomonas* spp. e de *Bacillus* spp. com diferentes rizosferas**. 2006. 71p. Dissertação (Mestrado em agricultura tropical e subtropical) Instituto agrônomo, 2006.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology e Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669 – 678, 2010.

CUNHA, J.F.; PICOLI, E.A.T.; ALFENAS, A.C.; GONÇALVES, R.C. Efeito “*in vitro*” de antibióticos e rizobactérias no controle de bactérias fitopatogênicas ao *Eucalyptus* spp. **Revista árvore**, Viçosa, v. 30, n. 6, p. 871 – 876, 2006.

CHANWAY, C. P.; HOLL, F. B. Ecotypic specificity of spruce emergence-stimulating *Pseudomonas putida*. **Forest Science**, Bethesda, v. 39, p. 520-527, 1993.

DIAS, P. C.; PEREIRA, M. S. F.; MEGUMIKASUYA, M. C.; PAIVA, H. N.; OLIVEIRA, L. S.; XAVIER, A. Micorriza arbuscular e rizóbios no enraizamento e nutrição de mudas de angico-vermelho. **Revista árvore**, Viçosa, v.36, n.6, p. 1027-1037, 2012.

ENEBAK, S. A. Rhizobacteria isolated from loblolly pine seedlings mediate growth-promotion of greenhouse-grown loblolly, slash, and longleaf pine seedlings. **Forest Science**, Bethesda, v. 51, n. 6, p. 139- 144, 2005.

FERRAZ, H.G.M. **Dispensa e dinâmica populacional do agente de biocontrole *Pseudomonas putida* no filopano de tomateiro**. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa: MG, 2008.

FERREIRA, M. Escolha de espécies de Eucalipto. **Circular Técnica**, n. 47, p. 17, 1979

FERREIRA, F.A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: SIF. 1989. 570p.

FERREIRA, E. M.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; LEITE, H. G.; SARTORIO, R. C.; PENCHEL FILHO, R. M. Determinação do tempo ótimo do enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus* spp. **Revista árvore**, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 183 – 187, 2004.

FREITAS S.S; MELO A. M. T; DONZELI V. P. Promoção de crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, n.1 p. 61-70, 2003.

FREITAS, T. A. S.; BARROSO, D. G.; MENDONÇA, A. V. R.; CARNEIRO, J. G. A.; PENCHEL, R. M. Manejo de miniestacas de eucalipto no setor de enraizamento para a produção em sistemas de blocos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.37, n.84, p. 483 – 490, 2009.

GARCIA, F. A. O. **Biocaracterização de procariotas como agentes de biocontrole de enfermidades e como promotores de crescimento em feijoeiro**. 2008. 131p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade federal de Viçosa. Viçosa.

GARCIA, F.A.O.; ROMEIRO, R.S. Biocontrole da mancha-angular do feijoeiro por antagonistas bacterianos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.46, n.12, p. 1603 – 1608, 2011.

GYENIS, L.; ANDERSON, N.A.; OSTRY, M.E. Biological control of septoria leaf spot disease of hybrid poplar in the field. **Plant Disease**, v. 87, p. 809 - 813, 2003.

HAAS, D; DÉFAGO, G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. **Nature reviews microbiology**, v. 3, 1 - 13 p, 2005.

HIGA, R.C.V. **Avaliação e recuperação de *Eucalyptus dunni* Maiden atingidos por geadas em Campo do Tenente, PR**. Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Engenharia Florestal – Universidade Federal do Paraná. Curitiba: PR, 1998.

HIRANO, S.S.; UPPER, C.D. Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* – a pathogen, ice nucleus and epiphyte. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.64, n.3, pag. 624 – 653, 2000.

IPEF – Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. Pesquisa com essências florestais para regiões frias do sul do Brasil. **Boletim informativo**. São Paulo, v. 4, n. 11, p. 4-24, 1976.

KLERK, G. J. Rooting of microcuttings: theory and practice. In vitro Cellular **Developmental Bioogy – Plant**, Wallingford, v. 38, n.5, p. 415 – 422, 2002.

KIJIMA, T.; YONAI, S.; OOHASHI, K.; AMAGAI, M. **Process for biologically preventing dicotyledoneous plant diseases using symbiotic bacteria**. USA Patent No. 5.401.655. 1995

KLOEPPER J.W.; SCHROTH M. N. **Plant growth promoting rhizobacteria on radishes**. In: Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. p. 879 - 882, 1978

KUKLINSKY-SOBRAL, J.; ARAÚJO, W. A.; MENDES, R. GERALDI, I. O.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A.; AZEVEDO, J. L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environmental Microbiology**, v. 6, n. 12, p. 1244 – 1251, 2004.

KURZE, S.; BAHL, H.; DAHL, R.; BERG, G. Biological control of fungal strawberry diseases by *Serratia plymuthica* HRO-C48. **Plant Disease**, v. 85, n. 5, p. 529 - 534, 2001

LADEIRA, M.C.G. **Biocontrole de *Quambalaria eucalypti* por meio de rizobactérias**. Universidade Federal de Viçosa - Departamento de Fitopatologia, p. 46, 2004.

LIMA, E.D.; SILVA, H.D.; MAGALHÃES, W.L.E.; LOVARANTI, O.J. Caracterização individual de árvores de *Eucalyptus benthamii* para uso energético. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** – Colombo: Embrapa Florestas, 2007.

LINDOW, S.E.; LEVEAU, J.H.J. Phyllosphere microbiology. **Current Opinion in biotechnology**, v. 13, p. 238 – 243, 2002.

LINDOW, S.E.; BRANDL, M.T. Microbiology of the Phyllosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 1875 – 1883, 2003.

LOPES, J. L. W. **Qualidade de mudas clonais do híbrido de *Eucalyptus grandis* vs. *Eucalyptus urophylla*, submetidas a diferentes regimes hídricos**. Botucatu, SP: UNESP, 2008. 171p. Tese (Doutorado em agronomia) Universidade Estadual Paulista, 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, v. 29, n. 6, p.843-851, 2005

MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C.; MAFFIA, L.A.; FERREIRA, E.C.; SIQUEIRA, L. Compatibilidade e efeito da mistura de isolados de rizobactérias na indução do enraizamento e crescimento de clones de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 004, p. 635 – 643, 2007a.

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

MAFIA, R.G.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, E.M.; BINOTI, D. H. B.; MAFIA, G. M.V.; MOUNTEER, A.M. Root colonization and interaction among growth promoting rhizobacteria isolates and eucalypts species. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 1, 2009.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 1, p. 89 -111, 2004.

MARTINI, A.J. **O plantador de eucaliptos: A questão da preservação florestal no Brasil e o resgate documental do legado de Edmundo Navarro de Andrade**. Dissertação (Pós-graduação) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

MATTOS, F. G.; GARCIA, F. A. O.; **Avaliação do potencial tecnológico de bactérias residentes de filoplano na indução de enraizamento de mudas de eucalipto**. 21º Encontro anual de iniciação científica e 2º Encontro anual de iniciação Tecnológica e Inovação. 4p. 2012.

MANKESSI, F.; SAYA, A.; BAPTISTE, C.; NOURISSIER, S. MONTEUUIS, O. In vitro rooting of genetically related *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* clones in relation to the time spent in culture. **Tress**, v. 23, n.5, p. 931-340, 2009

MELO, I.S. Rizobactérias promotoras de crescimento: descrição e potencial de seu uso na agricultura. *Ecologia microbiana*. Jaguariúna: **Embrapa meio Ambiente**, Cap. 3, p. 87 – 116, 1998.

MELO, L. A.; XAVIER, A.; PAIVA, H. N.; BORGES, S. R. Otimização do tempo necessário para o enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 759 – 767, 2011

MELO, L. C.; OLIVEIRA, C. V.; MANFREDI, C. BALDANI, V. L. D.; FERREIRA, J. S. Efeito de bactérias na promoção do enraizamento em clone de eucalipto. **Revista Enciclopédia biosfera**, centro científico conhecer, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 737 - 747, 2012

MILLER, H. J.; HENKEN, G.; VAN VEEN, J. A. Variation and composition of bacterial population in the rhizosphere of maize, wheat, and grass cultivars. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 656-660, 1989.

MISAGHI, I.J. Screening bacteria for root colonizing ability by a rapid method. **Soil Biol. Biochem**, 22, p. 1085-1088, 1990

MORA, A. L.; GARCIA, C. H. **A cultura do eucalipto no Brasil**. Sociedade Brasileira de Silvicultura. Ficha Catalográfica, São Paulo, 112p, 2000.

MOURA, V. P. G.; GUIMARÃES, D. P. Produção de mudas de *Eucalyptus* para o estabelecimento de plantios florestais. **Comunicado Técnico**, Embrapa: Brasília – DF, n. 85, p. 09, 2003.

NAVROSKI, M. C. **Multiplicação *in vitro* de genótipos de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2012. 103 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) Universidade federal de Santa Maria, 2012.

OLIVEIRA, M. C.; RIBEIRO, J. F.; RIOS, M. N. S.; REZENDE, M. E. Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria. **Recomendação técnica – Embrapa Serrados**, Brasília, DF, p. 1 – 4, 2001.

PAL, K.K.; GARDENER, B.M. **Biological control of plant pathogens**. 2006. Disponível em: <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Pages/BiologicalControl.aspx> Acesso em: 03/05/2012

PALUDZYSZYN FILHO, F. Cultivo do eucalipto: indicações de espécies. Colombo, PR: **Embrapa Florestas**, 2003. Disponível em: [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto/02\\_indicacao\\_de\\_especies.htm#topo](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto/02_indicacao_de_especies.htm#topo). Acesso em: 27/04/2012

PALUDZYSZYN FILHO, E.; SANTOS, P. E. T.; FERREIRA, C. A. Eucaliptos indicados para plantio no Estado do Paraná. Colombo: **Embrapa Florestas – CNPF**, 2006. 45 p. (Documentos, 129).

PALUDZYSZYN FILHO, F. Cultivo do eucalipto: indicação de espécies e clones. Colombo, PR: **Embrapa Florestas**, 2010. Disponível em: [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto\\_2ed/Indicacao\\_Especies.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto_2ed/Indicacao_Especies.htm) Acesso em: 27/04/2012

POWELL, R.G.; TEPASKE, M.R.; PLATTNER, R.D.; WHITE, J.F.; CLEMENT, S.L. Isolation of resveratrol from *festuca versuta* and evidence for the widespread occurrence of this stilbene in the Poaceae. **Phytochemistry**, v. 35, n. 2, p. 335 – 338, 1994.

QUIQUI, E.M.D; MARTINS, S.S; SHIMIZU, J.Y. **Avaliação de espécies e procedências de *Eucalyptus* para o Noroeste do Estado do Paraná**. Maringá, v. 23, n. 5, p. 1173-1177, 2001

ROCHA, M. P.; TOMASELLI, I. Efeito do modelo de desdobro na qualidade da madeira serrada de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus dunnii*. **Cerne**, Lavras, v. 8, n. 2, p. 70-83, 2002

ROMEIRO, R. S.; GARCIA, F. A. O. Controle biológico de enfermidades de plantas incitadas por bactérias. **Revisão anual de patologia de plantas**, v. 11, p. 195-228, 2003.

ROMEIRO, R.S. Controle biológico de doenças de plantas: fundamentos. Viçosa: **Editora UFV**, 26p, 2007.

ROMEIRO, S.D. Organismos procariotas e promoção de crescimento em plantas. **FertBio**, p. 1 – 9, 2008.

ROSA, L. S. **Adubação nitrogenada e substratos na miniestaquia de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 89 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SANTOS MHL; MARIANO RLR; CAMARA TR; ANDRADE AG; WILLADINO L; LIMA GP P. Bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento de *Heliconia psittacorum* L.F. **Hoehnea**, São Paulo, v.32, n.2, 2005

SANTOS, M. M.; CARVALHO, F. C. Q.; FRANÇA, F. S.; DOURADO, D. L.; GUIMARÃES, L.; KARASAWA, M.; PAZ, C. D. Características fenotípicas de rizobactérias obtidas de cucurbitáceas com potencial de promover crescimento em plantas de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 1539 -1543, 2008.

SELLE, G.L.; VUADEN, E. Efeitos da geada sobre plantações de *Eucalyptus grandis*. **Caderno de pesquisa série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 20, n. 1, p. 36 – 45, 2007.

SCHLINDWEIN, G.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; AZAMBUJA, A. C.; GRANADA, C. E.; GABIATTI, N. C.; PRATES, F.; STUMPF, R. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 658 – 664, 2008.

SHISHIDO, M.; LOEB, B. M.; CHANWAY, C. P. Rhizosphere and internal root colonization of lodgepole pine by two seedling growth-promoting *Bacillus* strains

originating from different root microsites. **Canadian Journal of Microbiology**, v.41, p. 701-713, 1995.

SHISHIDO, M.; CHANWAY, C. P. Colonization and growth promotion of outplanted spruce seedlings pré-inoculated with plant growth-promoting rhizobacteria in the greenhouse. **Canadian Journal Forest Research**, v. 30, p. 845 – 854, 2000.

SILVA, H.D. **Biomassa e aspectos nutricionais de cinco espécies de *Eucalyptus*, plantadas em solo de baixa fertilidade**. Dissertação (Mestrado) – Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; MOUNTEER, A. Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potencial biocontrol agents. **Journal Phytopathology**, v. 151, p. 42 – 46, 2003.

SILVA, A.L.L.; OLIVEIRA, Y.; ALCANTARA, G.B.; SANTOS, M.; QUOIRIN, M. Tolerância ao resfriamento e congelamento de folhas de eucalipto. **Biociências**, Porto Alegre, v. 17, n.1, p. 86- 90, 2009.

SIMEPAR - **Sistema Meteorológico do Paraná**. Paraná, 2013.

SMITH, K. P.; HANDELSMAN, J.; GOODMAN, R. M. Modeling dose – response relationships in biological control. Partitioning host responses to the pathogen and biocontrol agent. **Phytopathology**, v. 87, n. 7, p. 720 – 729, 1997

SOTTERO, A. N.; FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; TRANI, P. E. Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de ciência do solo**, Viçosa, n.30, p. 225-234, 2006.

SOUZA JUNIOR, L.; WENDLING, I.; HIGA, R. C. V. Resgate de indivíduos adultos selecionados de *Eucalyptus viminalis* por estaquia. **I evento de iniciação científica da Embrapa Florestas**, Colombo: PR, p. 19, dez. 2002

SOUZA, C. R.; ROSSI, L. M. B.; AZEVEDO, C. P.; LIMA, R. M. B. Comportamento da *Acacia mangium* e de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* em plantios experimentais na Amazônia Central. *Scientia Forestalis*, n. 65, p. 95 - 101, 2004.

SOUZA, C. C.; XAVIER, A.; LEITE, F. P.; SANTANA, R. C.; LEITE, H. G. Padrões de miniestacas e sazonalidade na produção de mudas clonais de *Eucalyptus grandis* Hill x *E. urophylla* S. T. Black. **Revista árvore**, Viçosa, v. 37, n. 1, Jan/Feb. 2013

STAHL, J. Silvicultura de *Eucalyptus* em áreas de ocorrência de geadas no Sul do Brasil. **IPEF**. 42p, 2010. Disponível em: [http://www.ipef.br/eventos/2010/melhoramento\\_e\\_manejo/james\\_klabin.pdf](http://www.ipef.br/eventos/2010/melhoramento_e_manejo/james_klabin.pdf) Acesso em: 03/05/2012

SUSLOW, T. V.; SCHROTH, M. N. Rhizobacteria of sugar beets: effects of seed application and root colonization on yield. **Phytopathology**, v. 72, n. 2, p. 199 - 206, 1982.

PEIXOTO, A. R. Controle biológico da murcha bacteriana do tomateiro, por *Pseudomonas* spp. fluorescentes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 153 – 160, 1997

TEIXEIRA, D. A. **Promoção de enraizamento e indução de resistência sistêmica à ferrugem e à macha-de-cylindrocladium, mediadas por rizobactérias em clones de *Eucalyptus* spp.** 2001. Tese (doutorado em fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, p. 67, 2001.

TEIXEIRA, D.A.; ALFENAS, A.C.; MÁFIA, R.G.; FERREIRA, E.M.; SIQUEIRA, L.; MAFFIA, L.A.; MOUNTEER, A. H. Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth. **Brazilian journal of Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 118 - 123, 2007

TITON, M. **Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia.** 2001. Dissertação (Mestrado em Ciências florestais) – Universidade federal de Viçosa, Viçosa – MG, 65p, 2001

VIANA, M.B.O. **Eucalipto e os efeitos ambientais do seu plantio em escala.** Biblioteca digital da câmara dos deputados. 2004.

WENDLING, I.; XAVIER, A.; GOMES, J. M.; PIRES, I. E.; ANDRADE, H. B. Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 181–186, 2000b.

WENDLING, I. Propagação de Erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): estado da arte e tendências futuras. **Embrapa Florestas**. Documentos 91. 46p. 2004. Acessado em: 01 de fevereiro de 2014. Disponível em: <http://www.cnpf.embrapa.br/publica/seriedoc/edicoes/doc91.pdf>.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 921-930, 2005

WILCKEN, C.F.; LIMA, A.C.V.; DIAS, T.K.R.; MASSON, M.V.; FERREIRA FILHO, P. J.; PGOGETTO, M. H. F. A. D. do. **Guia prático de manejo de plantações de eucalipto.** Botucatu: SP, p. 1 – 19, 2008.

WILSON, M.; HIRANO, S.S.; LINDOW, S.E. Location and survival of leaf-associated bacteria in relation to pathogenicity and potencial for growth within the leaf. **Applied and environmental microbiology**, v.65, n. 4, p. 1435 - 1443, 1999.