

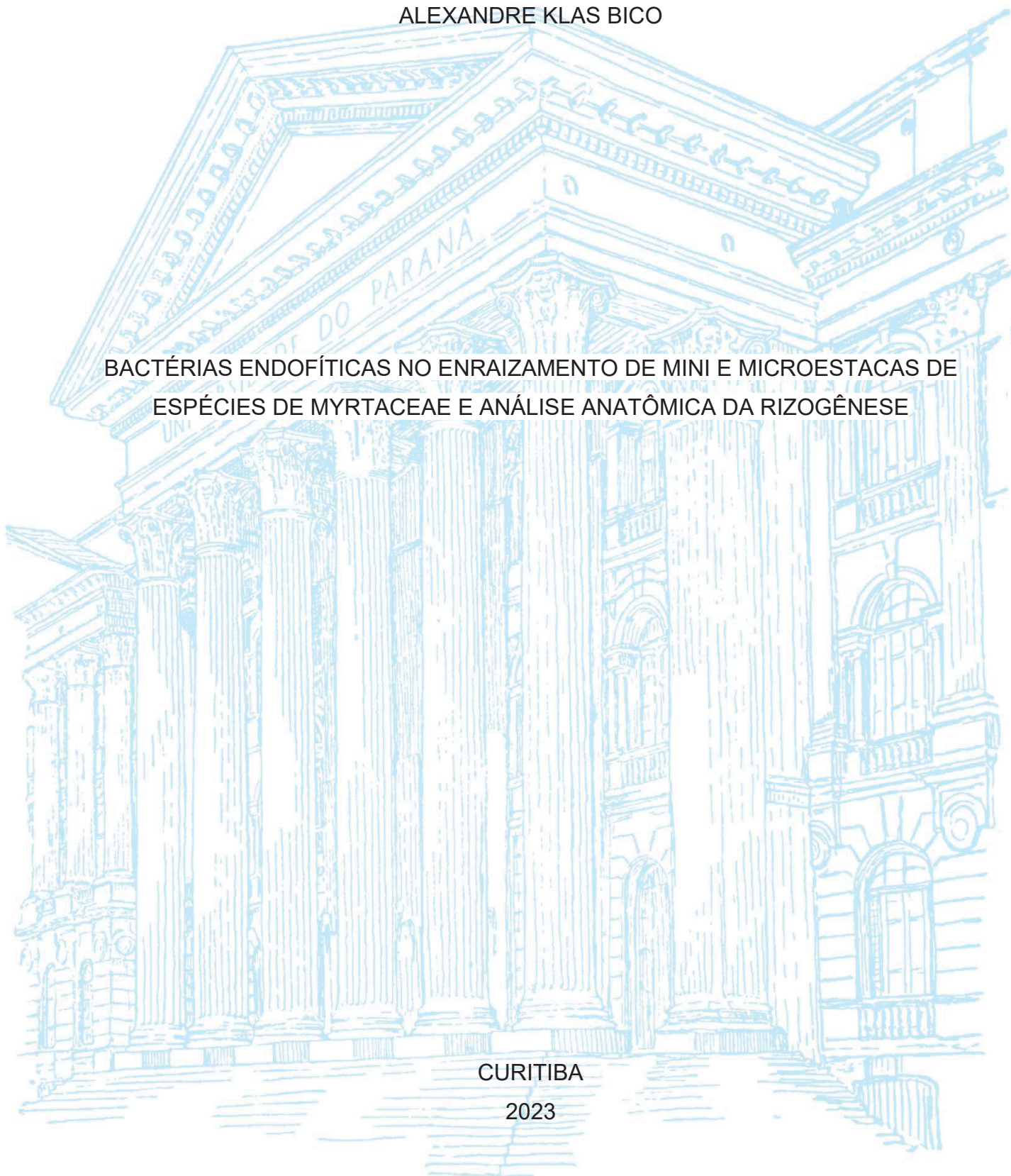
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALEXANDRE KLAS BICO

BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS NO ENRAIZAMENTO DE MINI E MICROESTACAS DE
ESPÉCIES DE MYRTACEAE E ANÁLISE ANATÔMICA DA RIZOGÊNESE

CURITIBA

2023



ALEXANDRE KLAS BICO

BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS NO ENRAIZAMENTO DE MINI E MICROESTACAS DE
ESPÉCIES DE MYRTACEAE E ANÁLISE ANATÔMICA DA RIZOGÊNESE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Francisco Sant'Anna dos Santos

Coorientadoras: Prof^a. Dr^a. Marguerite Quoirin, Dr^a. Juliana Degenhardt

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Bico, Alexandre Klas

Bactérias endofíticas no enraizamento de mini e microestacas de espécies de Myrtaceae e análise anatômica da Rizogênese / Alexandre Klas Bico. – Curitiba, 2023.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal).

Orientador: Prof. Dr. Bruno Francisco Sant'Anna dos Santos

Coorientadoras: Prof^a. Dr^a. Marguerite Quoirin e Dr^a. Juliana Degenhardt

1. Myrtaceae. 2. Plantas - Anatomia. 3. Eucalipto. 4. Guabirola.

I. Santos, Bruno Francisco Sant'Anna dos. II. Quoirin, Marguerite.

III. Degenhardt, Juliana. IV. Universidade Federal do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal). V. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **ALEXANDRE KLAS BICO** intitulada: **BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS NO ENRAIZAMENTO DE MINI E MICROESTACAS DE ESPÉCIES DE MYRTACEAE E ANÁLISE ANATÔMICA DA RIZOGÊNESE**, sob orientação do Prof. Dr. BRUNO FRANCISCO SANT'ANNA DOS SANTOS, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 05 de Maio de 2023.

BRUNO FRANCISCO SANT'ANNA DOS SANTOS

Presidente da Banca Examinadora

JULIANA DEGENHARDT GOLDBACH

Coorientador(a)

KRISLE DA SILVA

Avaliador Externo (EMBRAPA)

Dedico este trabalho, primeiramente, a Deus, que me deu forças para vencer os diversos obstáculos ao longo do caminho. Aos meus pais, pilares da minha vida. Também dedico ao meu orientador Bruno, e às minhas coorientadoras Marguerite e Juliana sem sua ajuda, esta dissertação não seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que me guiou e me iluminou durante toda a minha vida, bem como durante todo o decorrer de meu mestrado.

Agradeço a toda minha família, especialmente aos meus pais, avós e irmãos, pelo amparo dado durante toda esta jornada.

Agradeço a minha namorada, Mariana, por estar sempre me apoiando no que eu precisasse e ficando ao meu lado nos momentos mais difíceis.

Agradeço a todos os funcionários da Universidade Federal do Paraná por proporcionarem a infraestrutura e seu funcionamento para o desenvolvimento deste trabalho de mestrado.

Agradeço a todos os professores e coordenadores do PGAPV, que, com suas aulas, contribuíram para minha formação e aprimoramento pessoal. Destaco a professora Luciana que contribuiu na pesquisa, não somente com as aulas, e sempre muito acessível para o que fosse preciso.

Agradeço aos amigos de mestrado João, Johny, Daniela, Luiz e Paulo, pelas conversas, risadas e auxílios nos experimentos.

Agradeço ao Gabriel pelo auxílio e paciência com a parte de estatística.

Agradeço à professora Dra. Sandra, da PUCPR, por ter me incentivado a ingressar no mestrado e estar sempre torcendo pelo meu sucesso.

Agradeço às pesquisadoras Dras. Cristiane, Krisle e Regina, às laboratoristas Jana e Simone e aos estagiários Vitor, Annaliz, Bruna, Ana, Lorena e Hanna, por me ensinarem e/ou auxiliarem em tudo o que precisei na Embrapa Florestas.

Agradeço às minhas coorientadoras Dra. Juliana e Dra. Marguerite, pelo auxílio que me deram no direcionamento e andamento da pesquisa, sempre com muito profissionalismo e compreensão.

Meu agradecimento especial é para o Dr. Bruno Francisco Sant'Anna dos Santos, meu orientador, que me estimulou a caminhar com minhas próprias pernas ao longo do processo ao mesmo tempo que me deu o suporte necessário para a concretização deste trabalho.

Muito obrigado a todos. Espero vos honrar com esta dissertação de mestrado.

“Um pingo de chuva levanta o mar”

- James Gurney, 1992

RESUMO

A família Myrtaceae possui destaque no Brasil devido ao amplo cultivo florestal de *Eucalyptus* spp., espécies exóticas, mas também pela grande diversidade de árvores frutíferas nativas, como *Campomanesia xanthocarpa* (guabirobeira). Visando produção comercial, as técnicas mais promissoras para a propagação vegetativa dessas plantas são miniestaquia e micropropagação, no caso de *Eucalyptus* e *C. xanthocarpa*, respectivamente. A formação de raízes adventícias é fundamental para o sucesso de ambas as técnicas, o que normalmente é induzido com o uso de auxinas sintéticas. Bactérias endofíticas são microrganismos que vivem em plantas, e muitas delas produzem hormônios vegetais, como auxinas, o que faria seu uso como bioinoculantes uma alternativa interessante para induzir formação de raízes em estacas. Portanto, os objetivos dessa pesquisa foram avaliar o efeito de diferentes estirpes de bactérias endofíticas na indução de enraizamento de microestacas de guabirobeira e miniestacas de *Eucalyptus*, investigar a origem anatômica das raízes adventícias no caso da guabirobeira e identificar os isolados promissores para o enraizamento via sequenciamento genético. Estirpes de bactérias endofíticas potencialmente promotoras de crescimento, isoladas de tecidos de jabuticabeira (*Plinia peruviana*) (CNPFs 1, 2, 3, 4, 10, 11, 12, 14, 22, 23, 25, 33 e 51) foram inoculadas em microestacas de guabirobeira e miniestacas de *Eucalyptus*. Instalou-se três ensaios com a guabirobeira, testando diferentes isolados em cada ensaio. No experimento com *Eucalyptus*, testou-se dois isolados de bactérias endofíticas (CNPFs 23 e 179) em dois clones comerciais: AEC-0144 (*E. urophylla*) e SUZA0217 (*E. urograndis*). Os experimentos foram avaliados após 42 dias em sala de crescimento, no caso da guabirobeira, e 35 dias em casa de vegetação, no caso dos *Eucalyptus*. Após a seleção das melhores estirpes, dois isolados foram identificados a partir do sequenciamento genético do 16S rRNA. Foi ainda realizado o estudo anatômico das microestacas de *C. xanthocarpa*, investigando a dificuldade de enraizamento adventício dessa espécie. Os ensaios em microestacas de guabirobeira demonstraram efeito positivo das estirpes de bactérias endofíticas CNPF 23 e CNPF 33 sobre a taxa de enraizamento (56,7% e 43,3%, respectivamente). O sequenciamento dos isolados CNPF 23 e CNPF 33 revelou tratar-se do gênero *Pantoea*. No ensaio em miniestacas de *Eucalyptus*, o clone SUZA0217 apresentou taxa de enraizamento (97,9%), comprimento médio de raiz (13,5 cm) e massas fresca (221,30 mg) e seca de raízes (61,43 mg) superiores aos encontrados no clone AEC-0144. A inoculação com a bactéria CNPF 23 induziu a maior taxa de enraizamento (99,0%) e a menor ocorrência de calos (4,0%). Destaca-se que a inoculação das microestacas de guabirobeira e miniestacas de *Eucalyptus* com a bactéria CNPF 23 proporcionou as maiores taxas de enraizamento em ambos os casos, portanto, seu uso como bioinoculante é aconselhado para elevar a taxa de enraizamento nestas espécies, podendo substituir o uso de auxina sintética no meio de cultura, no caso da guabirobeira. O estudo anatômico de *C. xanthocarpa* revelou a presença de felogênio nas microestacas de alguns indivíduos, o que indica crescimento secundário precoce. Este tecido era ausente nos indivíduos que emitiram raízes adventícias. Com base nisso, recomenda-se a seleção dos genótipos onde o felogênio se diferencia mais tardiamente para a domesticação dessa espécie.

Palavras-chave: Anatomia vegetal, bactéria promotora de crescimento vegetal, *Campomanesia xanthocarpa*, *Eucalyptus*.

ABSTRACT

The Myrtaceae family stands out in Brazil due to the broad forestry cultivation of *Eucalyptus* spp., exotic species, but also for the great diversity of native fruit trees, such as *Campomanesia xanthocarpa* (guabirobeira). Aiming at commercial production, the most promising techniques for the vegetative propagation of these plants are minicuttings and micropropagation, in the case of *Eucalyptus* and *C. xanthocarpa*, respectively. The formation of adventitious roots is fundamental for the success of both techniques, which is normally induced with the use of synthetic auxins. Endophytic bacteria are microorganisms that live in plants, and many of them produce plant hormones, such as auxins, which would make their use as bioinoculants an interesting alternative to induce root formation in cuttings. Therefore, the aims of this research were to evaluate the effect of different strains of endophytic bacteria on the induction of rooting of guabirobeira microcuttings and *Eucalyptus* minicuttings, to investigate the anatomical origin of adventitious roots in the case of guabirobeira and to identify promising isolates for rooting via genetic sequencing. Potentially growth-promoting endophytic bacteria strains isolated from tissues of jaboticabeira (*Plinia peruviana*) (CNPFs 1, 2, 3, 4, 10, 11, 12, 14, 22, 23, 25, 33 and 51) were inoculated in microcuttings of guabirobeira and mini-cuttings of *Eucalyptus*. Three experiments were set up with guabirobeira, testing different isolates in each trial. In the experiment with *Eucalyptus*, two isolates of endophytic bacteria (CNPFs 23 and 179) were tested on two commercial clones: AEC-0144 (*E. urophylla*) and SUZA0217 (*E. urograndis*). The experiments were evaluated after 42 days in a growth room, in the case of guabirobeira, and 35 days in a greenhouse, in the case of *Eucalyptus*. After selecting the best strains, two isolates were identified from the genetic sequencing of the 16S rRNA. An anatomical study of microcuttings of *C. xanthocarpa* was also carried out, investigating the difficulty of adventitious rooting for this species. Experiments on guabirobeira microcuttings showed a positive effect of the endophytic bacteria strains CNPF 23 and CNPF 33 on the rooting rate (56.7% and 43.3%, respectively). The sequencing of isolates CNPF 23 and CNPF 33 revealed that they are the same genus: *Pantoea*. In the test on minicuttings of *Eucalyptus*, the clone SUZA0217 showed rooting rate (97.9%), average root length (13.5 cm) and fresh (221.3 mg) and dry root mass (61.43 mg) higher than those found in the clone AEC-0144. Inoculation with the CNPF 23 bacteria provided the highest rooting rate (99.0%) and the lowest occurrence of calluses (4.0%). It is emphasized that the inoculation of guabirobeira microcuttings and *Eucalyptus* minicuttings with the bacteria CNPF 23 induced the highest rates of rooting in both cases, therefore, the use of this endophytic bacteria as bioinoculant is recommended to increase the rooting rate in these species, which can replace the use of synthetic auxin in the culture medium, in the case of guabirobeira. The anatomical study of *C. xanthocarpa* revealed the presence of phellogen in the microcuttings of some individuals, which indicates early secondary growth. This tissue was absent in individuals that emitted adventitious roots. Based on this, it is recommended the selection of genotypes where the phellogen differentiates belatedly for the domestication of this species.

Keywords: Plant anatomy, plant growth promoting bacteria, *Campomanesia xanthocarpa*, *Eucalyptus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Frutos e tronco de <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	24
Figura 2 - Processo de inoculação de bactérias endofíticas em microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	52
Figura 3 - Taxa média de enraizamento de microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de da inoculação com várias bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 1.....	56
Figura 4 - Taxa média de enraizamento de microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 2.....	57
Figura 5 - Número médio de raízes de microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 2.	59
Figura 6 - Comprimento médio da raiz mais longa formada em microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 1.....	60
Figura 7 - Comprimento médio da raiz mais longa formada em microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 3.....	61
Figura 8 - Número médio de folhas em microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 1.	62
Figura 9 - Número médio de folhas em microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 2.	62
Figura 10 - Comprimento médio da parte aérea de microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 1.....	63
Figura 11 - Comprimento médio da parte aérea de microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 2.....	64

Figura 12 - Comprimento médio da parte aérea de microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 3.....	64
Figura 13 - Taxa média de enraizamento de miniestacas dos clones de <i>Eucalyptus</i> AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.	65
Figura 14 - Comprimento médio de raiz de miniestacas dos clones de <i>Eucalyptus</i> AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.	66
Figura 15 - Massa seca de raiz de miniestacas dos clones de <i>Eucalyptus</i> AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.	67
Figura 16 - Ocorrência de calos em miniestacas dos clones de <i>Eucalyptus</i> AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.	68
Figura 17 - Aspectos de miniestacas de clones de <i>Eucalyptus</i> AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.....	69
Figura 18 - Isolados CNPF 33 (A) e CNPF 23 (B) cultivados em meio de cultura DYGS em placas de Petri.....	70
Figura 19 - Aspecto geral da microestaca de <i>C. xanthocarpa</i>	72
Figura 20 - Detalhes morfológicos da microestaca de <i>C. xanthocarpa</i>	73
Figura 21 - Processo de enraizamento de microestaca de <i>C. xanthocarpa</i> submetida a tratamento com AIB no meio de cultura (1 mgL^{-1}).	74
Figura 22 - Processo de enraizamento de microestaca de <i>C. xanthocarpa</i> submetida a tratamento com a bactéria endofítica CNPF 23 inoculada na base.....	75
Figura 23 - Ilustração de arte botânica representando a guabirobeira (<i>Campomanesia xanthocarpa</i>) (aquarela sobre papel).	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

½ MS	Meio de cultura de Murashige e Skoog (1962) com metade da concentração de sais e compostos orgânicos
2,4-D	2,4-Diclorofenoxiacético
AIA	Ácido indolacético
AIB	Ácido indol-3-butírico
AIP	Ácido indol-3-pirúvico
ANA	ácido 1-naftalenoacético
ANOVA	Análise de Variância
BAP	6-benzilaminopurina
BOD	Incubadora BOD
CNPQ	Centro Nacional de Pesquisas Florestais
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
E1	Ensaio 1
E2	Ensaio 2
E3	Ensaio 3
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
FAA50	Solução de formaldeído, ácido acético e álcool etílico 50%
Fig. / Figs.	Figura / Figuras
IAM	Indol-3-acetamida
IAN	Indol-3-acetonitrila
IMA	Incremento médio anual
Juss.	Antoine Laurent de Jussieu
L.	Carl Linnaeus
L'Hér.	Charles Louis L'Héritier de Brutelle
Mart.	Carl Friedrich Philipp von Martius
MLG	Modelo linear generalizado
MS	Meio de cultura de Murashige e Skoog (1962)
NCBI	National Center for Biotechnology Information
O.Berg	Otto Karl Berg

PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
Poir.	Jean Louis Marie Poiret
PR	Paraná
rRNA	RNA ribossomal
SP	São Paulo
sp. / spp.	Espécie / espécies
TAM	Triptamina
TDZ	Thidiazuron
UFPR	Universidade Federal do Paraná
WPM	Woody Plant Medium

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
R\$	Real
ha	Hectare
° C	Grau Celsius
m ³ /ha/ano	Metro cúbico por hectare por ano
β	Beta
mg L ⁻¹	Miligrama por litro
mg	Miligrama
μM	Micromolar
pH	Potencial Hidrogeniônico
cm	Centímetro
-	Negativo
mm	Milímetro
g L ⁻¹	Grama por litro
®	Marca Registrada
±	Mais ou menos
NaClO	Hipoclorito de sódio
v/v	Volume de soluto pelo volume da solução
mL	Mililitro
μL	Microlitro
min	Minuto
h	Hora
rpm	Rotações por minuto
nm	Nanômetro
DO ₆₀₀	Densidade ótica a 600 nm
μmol m ⁻² s ⁻¹	Micromol por metro quadrado por segundo
x	Veze
dNTP	Desoxirribonucleotídeo Fosfatado
Da	Dalton
s	Segundo
χ ²	Qui-quadrado

$V(x)$	Função de variância
=	Igual
μ	Média
ϕ	Parâmetro de dispersão
/	Divisão / sobre
α	nível de significância
p	probabilidade de significância

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	17
1.1 HIPÓTESES.....	20
1.2 OBJETIVOS.....	21
1.2.1 Objetivo geral.....	21
1.2.2 Objetivos específicos	21
2. REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 MYRTACEAE Juss.	22
2.2 CARACTERIZAÇÃO DA GUABIROBEIRA E EUCALIPTO	23
2.2.1 <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (Mart.) O.Berg	23
2.2.2 <i>Eucalyptus</i> L'Hér.....	25
2.3 MICROPROPAGAÇÃO.....	26
2.3.1 Auxinas na micropropagação	27
2.4 PROPAGAÇÃO DE <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	28
2.5 MICROPROPAGAÇÃO DE ESPÉCIES DE <i>Campomanesia</i>	30
2.6 PROPAGAÇÃO DE <i>Eucalyptus</i> POR MINIESTAQUIA.....	32
2.7 BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS.....	32
2.8 ANATOMIA VEGETAL COMO FERRAMENTA PARA ESTUDOS DE ENRAIZAMENTO.....	35
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS NO ENRAIZAMENTO DE MINI E MICROESTACAS DE ESPÉCIES DE MYRTACEAE E ANÁLISE ANATÔMICA DA RIZOGÊNESE.....	46
1. Introdução	48
2. Material e métodos.....	50
2.1 Local de estudo.....	50
2.2 Origem das bactérias endofíticas.....	50
2.3 Experimentos com <i>Campomanesia xanthocarpa</i> micropropagada <i>in vitro</i>	50
2.4 Experimento com <i>Eucalyptus</i> propagado por miniestaquia	53
2.5 Sequenciamento parcial do gene 16S rRNA das estirpes CNPF 23 e CNPF 33.....	53
2.6 Processamento de amostras e análises anatômicas em microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	54

2.7 Ilustração de arte botânica de <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	54
2.8 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	55
3. Resultados e discussão.....	56
3.1 Efeito de diferentes estirpes de bactérias endofíticas no enraizamento e desenvolvimento de microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	56
3.1.1 Taxa de enraizamento	56
3.1.2 Número de raízes	58
3.1.3 Comprimento da raiz mais longa	59
3.1.4 Número de folhas.....	61
3.1.5 Comprimento da parte aérea	63
3.2 Efeito de bactérias endofíticas no enraizamento de miniestacas de <i>Eucalyptus urophylla</i> e <i>E. urograndis</i>	65
3.3 Sequenciamento genético das estirpes CNPF 23 e CNPF 33	69
3.4 Processamento de amostras e análises anatômicas em microestacas de <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	71
3.5 Ilustração de arte botânica de <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	76
4. Conclusões.....	78
5. Referências	79
4. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
5. REFERÊNCIAS GERAIS	87
APÊNDICES.....	100

1. INTRODUÇÃO GERAL

A agropecuária e a silvicultura possuem a grande responsabilidade de produzir todo o alimento e matérias primas de origem vegetal e animal do mundo, e sua produção precisará dobrar até o ano de 2050 para atender às necessidades de cerca de 9,77 bilhões de pessoas (UN ENVIRONMENT, 2019). Constantemente, novas tecnologias e práticas são desenvolvidas com o intuito de elevar o rendimento, reduzir os custos e atender demandas socioambientais (ANDREOLI *et al.*, 2021). Nesse contexto, o Brasil, país tradicionalmente agrícola, possui protagonismo decisivo (ANDREOLI *et al.*, 2021). Nas últimas décadas, pesquisas visando o uso de organismos vivos para potencializar a produção vegetal têm se tornado cada vez mais frequentes e promissoras, visto que o uso destes é eficiente e representa menor risco de contaminação ambiental e aos organismos não alvo em comparação com produtos químicos (BURALLI e RIBEIRO, 2021; SOUZA *et al.*, 2022). Denomina-se bioinsumo qualquer produto, processo ou tecnologia baseado em organismos ou seus compostos que são de origem animal, vegetal, fúngica ou microbiana, utilizados para promover o crescimento e desenvolvimento de outros organismos, geralmente aqueles de interesse agropecuário (DE MARCHESE e FILIPPONE, 2018; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA, 2020). Biopesticidas, bioinoculantes, bioestimuladores e biofertilizantes são os tipos de produtos que se enquadram dentro da categoria de bioinsumos (DE MARCHESE e FILIPPONE, 2018). A inoculação de sementes com bactérias promotoras de crescimento vegetal, em especial as do gênero *Bradyrhizobium*, utilizadas como bioinoculante para a fixação biológica de nitrogênio em leguminosas, é um dos exemplos mais difundidos desse tipo de tecnologia, que tem se mostrado de grande valia e quase indispensável para as lavouras de soja (MENDES *et al.*, 2010).

Bactérias endofíticas são microrganismos que vivem no interior de plantas sem lhes causar malefício; do contrário, estudos indicam que elas beneficiam as plantas, auxiliando na produção de hormônios vegetais (SANTOYO *et al.*, 2016; SINGH *et al.*, 2017). Dentre estes, destacam-se as auxinas. (SANTOYO *et al.*, 2016; SINGH *et al.*, 2017; BURRAGONI e JEON, 2021). Na propagação vegetativa de plantas, auxinas sintéticas são utilizadas para induzir o enraizamento das estacas, o que constitui um dos principais custos dessa técnica (HARTMANN *et al.*, 2018). Todavia, pesquisas indicam que as auxinas produzidas pelas bactérias poderiam reduzir ou substituir o uso desse tipo de insumo, de custos econômico e ambiental maiores (SUZUKI *et al.*,

2003; SANTOYO *et al.*, 2016; BURRAGONI e JEON, 2021; NADAL *et al.*, 2022). Espécies dos gêneros *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, dentre outros, são reconhecidas como endofíticas promotoras de crescimento em plantas, por exemplo (FENG *et al.*, 2006; MISHRA *et al.*, 2011; RASHID *et al.*, 2012; SANTOYO *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2017; BURRAGONI e JEON, 2021).

Myrtaceae Juss. é uma das famílias botânicas de angiospermas que apresenta maior quantidade de espécies nativas do Brasil (PROENÇA *et al.*, 2023). Contudo, o cultivo de espécies exóticas, principalmente do gênero *Eucalyptus* L'Hér., tem mais destaque na silvicultura brasileira (MESSIER *et al.*, 2022; SENG HUA *et al.*, 2022). No Brasil, a cultura do eucalipto corresponde a 22% da área total plantada no mundo (MESSIER *et al.*, 2022; SENG HUA *et al.*, 2022). Apesar disso, existe vasta diversidade de espécies nativas de Myrtaceae com grande potencial para a produção de frutos, como a guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O.Berg) (KINUPP, 2011). Os frutos dessa espécie têm consumo limitado ao extrativismo feito em seu centro de origem pelas populações locais, mesmo com seu grande potencial de mercado (RASEIRA *et al.*, 2004; KINUPP, 2011). Dessa forma, pesquisas visando a melhoria na propagação dessa espécie pode gerar uma alternativa mais eficiente em comparação ao sistema extrativista, possibilitando o surgimento de plantios comerciais e uma cadeia produtiva, gerando renda para produtores rurais e outros envolvidos nessa cadeia, diversificando a alimentação dos consumidores e auxiliando na preservação dessa espécie (RASEIRA *et al.*, 2004; KINUPP, 2011; LORENZI *et al.*, 2015).

Barreiras anatômicas, especialmente anéis contínuos de esclerênquima entre floema e córtex, estão dentre os fatores que mais dificultam o sucesso da propagação de plantas via estaquia (DIAS *et al.*, 2012; HARTMANN *et al.*, 2018; XAVIER *et al.*, 2021). A baixa ou inexistente taxa de enraizamento de espécies lenhosas pode estar relacionada com a presença dessas barreiras anatômicas (AYOUB e QRUNFLEH, 2006; WENDLING *et al.*, 2015; OPEÑA *et al.*, 2020). Isso já foi constatado em espécies de Myrtaceae de difícil enraizamento (ZHANG *et al.*, 2009; GOULART *et al.*, 2014; BRYANT e TRUEMAN, 2015; SANTORO *et al.*, 2022). Porém, outros fatores podem afetar a rizogênese em espécies lenhosas, como fisiológicos (por exemplo a juvenildade) e bioquímicos (por exemplo a presença de compostos fenólicos) (STUEPP *et al.*, 2017; MAGGIONI *et al.*, 2020; ROSS *et al.*, 2021; MARTINS *et al.*,

2022; SÁ *et al.*, 2022). O estudo anatômico é um aliado promissor das técnicas de propagação vegetativa, pois pode explicar diferentes taxas de enraizamento observadas em cultivares ou genótipos de uma mesma espécie, auxiliando na seleção dos mais promissores para a propagação vegetativa (AYOUB e QRUNFLEH, 2006; WENDLING *et al.*, 2015; OPEÑA *et al.*, 2020; ROSS *et al.*, 2021). Em *A. sellowiana* (Myrtaceae), por exemplo, descobriu-se diferenças anatômicas entre genótipos com potencial contrastante de enraizamento, pois havia um desenvolvimento precoce de periderme no genótipo de difícil enraizamento (ROSS *et al.*, 2021).

Além das técnicas tradicionais de propagação vegetativa, a micropropagação surgiu como uma alternativa promissora para a propagação *in vitro* de espécies com baixas taxas de enraizamento, sementes recalcitrantes ou dormentes, dentre outros impeditivos (SINGH, 2015). Caracteres, esses, mais pronunciados em espécies lenhosas e encontrados em espécies frutíferas cultivadas (HARTMANN *et al.*, 2018; LAL *et al.*, 2023). A proliferação por gemas axilares é o sistema de micropropagação mais amplamente utilizado em espécies lenhosas nativas do Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Ainda existe grande carência de pesquisas sobre a propagação *in vitro* de espécies florestais, sendo essas majoritariamente focadas no desenvolvimento de protocolos de micropropagação (OLIVEIRA *et al.*, 2013; PHILLIPS e GARDA, 2019). No caso da *C. xanthocarpa*, um protocolo de micropropagação já foi desenvolvido para a espécie, mas a etapa de enraizamento ainda é um dos principais obstáculos (MACHADO *et al.*, 2020).

Neste contexto, o presente trabalho se propõe a testar a possibilidade de uso de bactérias endofíticas no enraizamento de estacas, em substituição às auxinas sintéticas. A presente dissertação discorre a respeito do potencial uso de bactérias endofíticas, identificadas como produtoras de auxinas, como bioinoculantes para induzir o enraizamento de mini e microestacas de espécies de Myrtaceae: *C. xanthocarpa* e dois clones comerciais de *Eucalyptus* spp. Além disso, será abordado o sequenciamento genético para a identificação das bactérias mais promissoras e o estudo anatômico da rizogênese nas microestacas de *C. xanthocarpa*.

1.1 HIPÓTESES

- Como várias bactérias endofíticas são produtoras de auxinas, seu uso como bioinoculantes é uma alternativa eficiente para induzir a formação de raízes em estacas de dois clones comerciais de *Eucalyptus* (*E. urophylla* e o híbrido *E. urograndis*), e plantas de *C. xanthocarpa*;
- É possível que bactérias endofíticas isoladas de *Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts produzam efeitos benéficos em outras espécies da mesma família, *Eucalyptus* e *C. xanthocarpa*;
- Por meio de análises anatômicas da base das microestacas de *C. xanthocarpa*, é possível estabelecer uma correlação das baixas taxas de enraizamento com a presença de barreiras anatômicas;
- A rizogênese em microestacas de *C. xanthocarpa*, induzida por bactérias endofíticas ou auxina exógena, ocorre a partir dos mesmos tecidos;

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito de diferentes estirpes de bactérias endofíticas no enraizamento de miniestacas de dois clones comerciais de eucalipto e no enraizamento e desenvolvimento de microestacas de guabirobeira, investigando a origem anatômica das raízes formadas nesta última espécie.

1.2.2 Objetivos específicos

- Determinar o efeito das estirpes de bactérias endofíticas, previamente isoladas de tecidos de jabuticabeira, no enraizamento e desenvolvimento de parte aérea em microestacas de guabirobeira;
- Identificar as estirpes que apresentarem melhores resultados de enraizamento através do sequenciamento genético;
- Caracterizar anatomicamente microestacas de guabirobeira e determinar a origem anatômica das raízes adventícias, o tempo de formação e as barreiras anatômicas;
- Determinar o efeito de estirpes de bactérias endofíticas, previamente isoladas de tecidos de jabuticabeira e pupunheira, no enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MYRTACEAE Juss.

Myrtaceae é uma das famílias botânicas mais importantes, sendo a oitava maior família em número de espécies (SABER *et al.* 2023). No Brasil, existem 29 gêneros e 1.200 espécies, sendo 794 endêmicas (PROENÇA *et al.*, 2023). O cultivo em larga escala de espécies exóticas de Myrtaceae é comum no Brasil, principalmente do gênero *Eucalyptus*, que tem papel de destaque na silvicultura (MESSIER *et al.*, 2022; SENG HUA *et al.*, 2022). Além disso, existe uma grande variedade de espécies nativas do Brasil pertencentes a esta família, especialmente frutíferas, como, por exemplo, a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O.Berg), araçazeiro (*Psidium* spp. L.), feijoa (*Acca sellowiana* (O.Berg) Burret) e jabuticabeira (*Plinia* spp. L.) (RASEIRA *et al.*, 2004). Novas espécies de Myrtaceae frutíferas são descobertas até hoje, como é o caso da recém descrita *Eugenia paranapanemensis* (Mattos) Mattos, indicando que o tamanho da família ainda está subestimado (VALDEMARIN *et al.*, 2022).

Apesar da grande diversidade de árvores frutíferas da família Myrtaceae nativas do Brasil, a goiabeira (*Psidium guajava* L.) é a única representante que possui alta expressividade econômica, com valor de produção total no país de R\$ 973.137.000 e produção total de 552.393 toneladas de frutos na safra de 2021 (IBGE, 2021). A maior parte dessas frutíferas têm pouco ou nenhum mercado, limitando-se, normalmente, ao consumo extrativista feito em seu centro de origem pela população local (RASEIRA *et al.*, 2004; KINUPP, 2011).

A maioria dessas espécies frutíferas são selvagens ou semi-domesticadas, mesmo com o seu grande potencial (KINUPP, 2011). Mas algumas delas já contam com programas de melhoramento genético desenvolvidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) e Universidades públicas e privadas (LORENZI *et al.*, 2015). Estes estudos visam criar tecnologias voltadas para o desenvolvimento de sistemas de produção ou de manejo de populações nativas, sustentáveis dos pontos de vista agrônomo, econômico, social e ambiental (KINUPP, 2011; LORENZI *et al.*, 2015). Os conhecimentos e as tecnologias gerados por meio dessas pesquisas poderão acarretar em alternativas ao sistema extrativista praticado atualmente, possibilitando a obtenção de frutos com maior uniformidade e qualidade, para atender

aos padrões exigidos pelos mercados interno e externo, o que não ocorre atualmente (RASEIRA *et al.*, 2004; KINUPP, 2011).

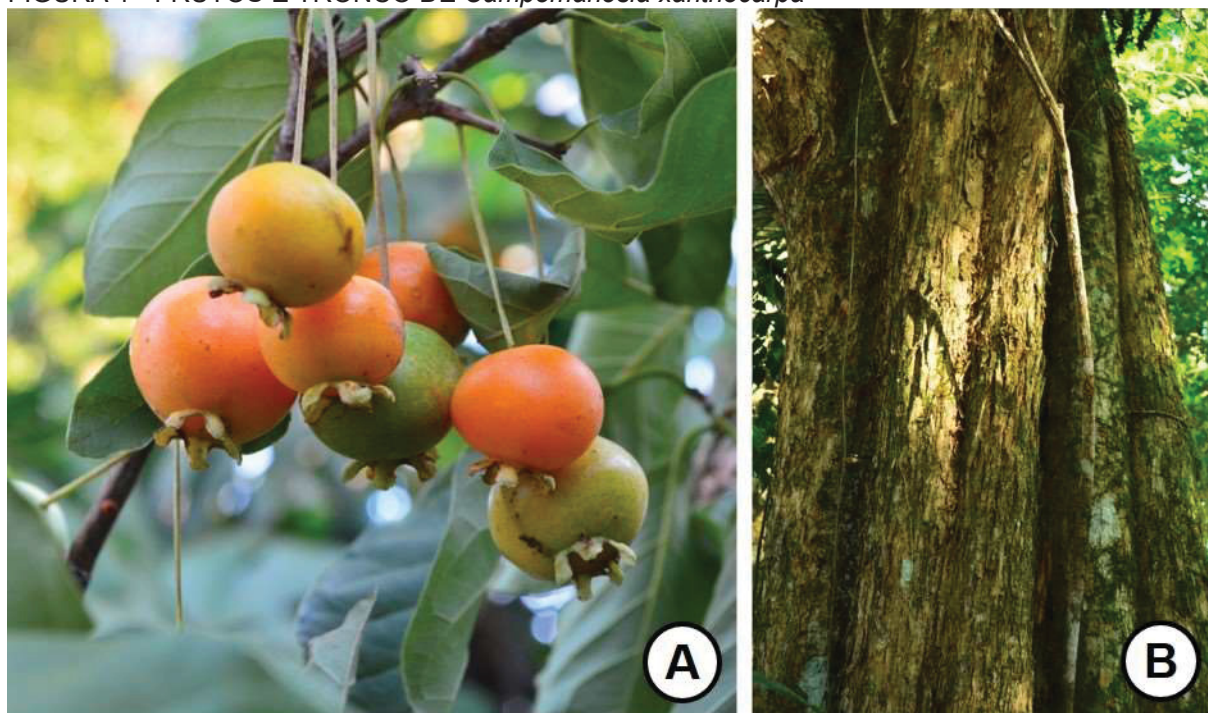
Devido à amplitude de clima e relevo, a Região Sul do Brasil possui uma ampla diversidade de espécies vegetais produtoras de frutos próprios para o consumo (KINUPP, 2011). Porém, pela falta de pesquisas e informação sobre essas espécies, elas acabam sendo subutilizadas (KINUPP, 2011). Muitas delas poderiam ser plantadas comercialmente, gerando renda para produtores rurais, diversificando a alimentação dos consumidores e auxiliando na sua preservação (KINUPP, 2011).

2.2 CARACTERIZAÇÃO DA GUABIROBEIRA E EUCALIPTO

2.2.1 *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O.Berg

A guabirobeira é uma árvore frutífera nativa do Brasil, presente nos biomas Mata Atlântica e Pampa, com ocorrência confirmada nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (OLIVEIRA *et al.*, 2023). Existem muitas espécies de guabirobeira pertencentes ao gênero *Campomanesia*, porém, a mais conhecida, apreciada e estudada é *C. xanthocarpa* (LORENZI *et al.*, 2015). No Brasil, ocorre nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Mato Grosso do Sul (OLIVEIRA *et al.*, 2023). Ela também é encontrada no norte do Uruguai e na província de Corrientes, na Argentina (RASEIRA *et al.*, 2004). Habita matas virgens e capoeiras, se adaptando em diferentes tipos de solos (LISBÔA *et al.*, 2011).

Mede de 4 a 15 metros de altura, e possui copa densa e alongada (LORENZI *et al.*, 2015). É uma espécie monoica com flores solitárias e brancas, formadas de setembro a novembro, e que duram de 10 a 15 dias (RASEIRA *et al.*, 2004; CARVALHO, 2006; LISBÔA *et al.*, 2011; LORENZI *et al.*, 2015). O fruto, a guabiroba (Figura 1A), madura em cerca de 15 a 20 dias, entre novembro e janeiro (RASEIRA *et al.*, 2004; LISBÔA *et al.*, 2011). A guabiroba é uma baga globosa, de coloração amarela ou alaranjada, epicarpo liso e fino, e endocarpo suculento, firme, aromático, acidulado e doce, com uma a seis sementes, em média (CARVALHO, 2006; LISBÔA *et al.*, 2011; LORENZI *et al.*, 2015). O consumo pode ser *in natura* ou processada sob a forma de geleias, sucos, mousses, licores, sorvetes, entre outros (LISBÔA *et al.*, 2011; LORENZI *et al.*, 2015).

FIGURA 1 - FRUTOS E TRONCO DE *Campomanesia xanthocarpa*

FONTE: O autor, 2023.

A. Frutos de *C. xanthocarpa* em diferentes estágios de maturação. **B.** Aspecto externo do tronco de *C. xanthocarpa*.

Os teores de alguns minerais nos frutos, como potássio e cálcio, foram superiores aos encontrados em frutos popularmente consumidos no país, como a banana e a maçã (ANDRADE *et al.*, 2012). As folhas e cascas da guabirobeira podem ser utilizadas na medicina popular contra diarreia, problemas do trato urinário e leucorreia (CARRARA, 1997). Pesquisas indicam seu potencial para redução de peso e tem sido indicada por seu efeito no controle de certas condições associadas com a obesidade (BIAVATTI *et al.*, 2004; KLAFKE, 2009).

As sementes são amareladas, moles e apresentam glândulas de óleo essencial (SANCHOTENE, 1989). A germinação se dá tanto na presença como na ausência de luz (SANTOS *et al.*, 2004). Atualmente, a propagação da espécie ocorre especialmente por sementes (LISBÔA *et al.*, 2011), mas a micropropagação se mostrou uma forma de propagação vegetativa eficiente (MACHADO *et al.*, 2020).

Sua madeira pode ser utilizada na construção civil, tornearia, confecção de instrumentos musicais e como lenha e carvão (CAMPOS FILHO e SARTONELLI, 2015). Pode ser empregada em consorciação com outras espécies em sistemas agroflorestais, ou para repovoamento de áreas de proteção ambiental, por se tratar de uma espécie nativa (LISBÔA *et al.*, 2011). Seu tronco é canelado com casca que se desprende em tiras ou ripas fibrosas e finas, portanto, é descamante (Figura 1B)

(CARVALHO, 2006; LORENZI *et al.*, 2015). Com base nisso, sabe-se que a guabirobeira é uma espécie com crescimento secundário, o que indica que ela possui formação de periderme e ritidoma, este último se destaca conforme a planta vai realizando seu crescimento secundário (TAIZ *et al.*, 2017). Os meristemas responsáveis pelo crescimento secundário são o câmbio vascular e o felogênio, que dá origem à periderme, conjunto de felogênio, feloderme e felema (TAIZ *et al.*, 2017).

A exploração da guabirobeira advém do extrativismo, não havendo cultivos comerciais dessa espécie, portanto, sua conservação depende da preservação de seu habitat natural (LISBÔA *et al.*, 2011; LORENZI *et al.*, 2015). Desta forma, não existe um abastecimento adequado nem uma cadeia produtiva formal para os frutos da guabirobeira e seus derivados (LISBÔA *et al.*, 2011). Isso abre um nicho de mercado para produtores e empresas que se proponham a cultivar a espécie e beneficiar e/ou processar seus frutos após a colheita, criando uma demanda por essa fruteira (LISBÔA *et al.*, 2011). O aroma e sabor são promissores para os mercados de bebidas e doces, o que confere boa perspectiva para sua exploração econômica (LISBÔA *et al.*, 2011; LORENZI *et al.*, 2015).

2.2.2 *Eucalyptus* L'Hér.

O gênero *Eucalyptus* (Myrtaceae) compreende mais de 700 espécies, nativas da Austrália e ilhas da Oceania (POKE *et al.*, 2005; HAYAT *et al.*, 2015). São árvores muito visadas para a produtividade devido ao seu rápido crescimento, alta adaptabilidade e elevada demanda pelos produtos oriundos, dos quais se destacam o carvão vegetal, a lenha e a celulose, esta última usada na produção de papel (ALVES *et al.*, 2018; SENG HUA *et al.*, 2022). É o gênero de árvores mais usual em plantios florestais nos trópicos e subtropicais, o que inclui o Brasil, que ocupa posição de destaque, pois possui a maior área plantada desse gênero no mundo, com 22% do total (MESSIER *et al.*, 2022; SENG HUA *et al.*, 2022). O gênero *Eucalyptus* é o mais plantado no setor florestal do país: no ano de 2021, a área total dedicada à silvicultura no Brasil foi de 9.930.000 ha, e, destes, 7.530.000 ha são de espécies de *Eucalyptus*, o que corresponde a 75,8% (IBÁ, 2022). Os estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Rio Grande do Sul são os com as maiores áreas de florestas plantadas dentre os estados brasileiros (IBÁ, 2022). Atualmente, 90% das plantações de *Eucalyptus* no mundo são constituídas de nove

espécies e seus híbridos: *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. tereticornis*, *E. globulus*, *E. nitens*, *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. dunnii*, e *E. pellita* (STANTURF *et al.*, 2013).

2.3 MICROPROPAGAÇÃO

Dentre as técnicas de cultura de tecidos, a micropropagação é a que vem ganhando maior destaque nos últimos tempos, pois permite produzir milhares de clones de um indivíduo superior, reduz drasticamente custos de produção de mudas, pode ser realizada ao longo de todo o ano e gera plantas livres de patógenos, tudo em um espaço físico reduzido e protegido de pragas, doenças e intempéries (SINGH, 2015). Pode ser resumida como a propagação massal de plantas geneticamente idênticas, cultivadas *in vitro* em um meio de cultura e condições controladas, consistindo em um microjardim de microcepas. Existem vários tipos de micropropagação, dentre eles, a proliferação de gemas axilares é bastante utilizada para propagar plantas em larga escala (PHILLIPS e GARDA, 2019). As principais etapas desse processo são: estabelecimento das culturas *in vitro*, indução de brotações múltiplas, alongamento (se os brotos forem pequenos), enraizamento, transplântio *ex vitro* e aclimatização (SINGH, 2015). A micropropagação é particularmente interessante ao facilitar a produção de novos indivíduos em espécies de plantas com sementes recalcitrantes, como é o caso da guabirobeira (MELCHIOR *et al.*, 2006; VIEIRA, 2019).

O modo mais fácil e direto de regenerar plantas a partir de culturas de tecidos é promovendo a brotação de gemas axilares, esta é a base de grande parte dos protocolos de micropropagação em espécies lenhosas, que partem tanto de explantes de material adulto como de plântulas (OLIVEIRA *et al.*, 2013). A falta de resposta morfogênica às demais técnicas de propagação vegetativa das espécies lenhosas e a necessidade de conservação de seu germoplasma estão entre as principais justificativas para o estudo de seu cultivo *in vitro*. A micropropagação a partir de gemas axilares minimiza possíveis mutações espontâneas e possibilita obter milhares de clones a partir de um único explante. Nas biofábricas, normalmente, parte deles é enraizado e aclimatizado para a geração de plantas adultas, enquanto outra parcela é usada para manter o estoque de proliferação de gemas (PHILLIPS e GARDA, 2019). Além disso, o uso de gemas axilares apresenta maior simplicidade em comparação com a organogênese e a embriogênese somática, além de reduzir os riscos de variação somaclonal (OLIVEIRA *et al.*, 2013; PHILLIPS e GARDA, 2019).

Dentre os principais limitantes para o cultivo *in vitro* de diversas espécies nativas do Brasil, destacam-se a contaminação por microrganismos e a ocorrência de recalitrância das culturas (XAVIER *et al.*, 2021). Mesmo com o número elevado de espécies florestais nativas, a maioria das pesquisas com a micropropagação dessas árvores ainda foca no desenvolvimento de protocolos, o que revela grande carência de estudos mais aprofundados sobre a sua propagação *in vitro* (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

2.3.1 Auxinas na micropropagação

Na micropropagação por organogênese, a etapa de enraizamento é a última que antecede a aclimatização das plantas regeneradas (KUMAR e REDDY, 2011). Porém, a etapa de enraizamento é normalmente problemática (DE KLERK, 2002). Dentre os efeitos fisiológicos desempenhados pelas auxinas, destacam-se a divisão celular, crescimento da raiz e indução da rizogênese (TAIZ *et al.*, 2017). Dessa forma, as auxinas são o principal grupo hormonal envolvido na formação de raízes adventícias (TAIZ *et al.*, 2017; HARTMANN *et al.*, 2018; GONIN *et al.*, 2019). O balanço entre auxina e citocinina rege diversas funções no crescimento vegetal (TAIZ *et al.*, 2017; HARTMANN *et al.*, 2018). Quando os níveis de citocinina estão baixos e os de auxina elevados, a formação raízes é favorecida (HARTMANN *et al.*, 2018). Da mesma maneira na micropropagação, o balanço entre auxina e citocinina presentes no meio de cultura regem a formação de raízes adventícias (KUMAR e REDDY, 2011). Tendo isso em vista, o enraizamento de microestacas *in vitro* normalmente é feito transferindo-as para um meio de cultura com balanço de reguladores do crescimento favorecendo a concentração de auxina em relação aos demais (se houver outro) (HARTMANN *et al.*, 2018). Também vale ressaltar que o etileno pode aumentar a competência celular para receber sinais de auxinas, portanto, pode promover o enraizamento adventício induzido por auxinas, mas este efeito é menos pronunciado em plantas lenhosas (HARTMANN *et al.*, 2018). O processo de formação da raiz adventícia pode ser simplificado em uma transição de células competentes para células formadoras da raiz (LONG *et al.*, 2022).

As auxinas sintéticas ácido 1-naftalenoacético (ANA) e ácido indol-3-butírico (AIB) são as mais comumente empregadas para a indução de enraizamento na micropropagação, visto que são mais estáveis quimicamente em comparação com a auxina natural ácido indolacético (AIA), que se degrada mais facilmente (PHILLIPS e

GARDA, 2019). Espécies lenhosas tendem a ter dificuldade de enraizamento *in vitro*, o que torna importante a escolha da auxina a ser empregada (ABDALLA *et al.*, 2022). O AIB se mostra como a auxina mais eficaz para a indução de enraizamento adventício nessas espécies (ABDALLA *et al.*, 2022). Em *C. xanthocarpa*, observou-se concordância com isso, uma vez que as taxas de enraizamento com AIB foram superiores as obtidas com ANA em todas as concentrações testadas (MACHADO *et al.*, 2020).

2.4 PROPAGAÇÃO DE *Campomanesia xanthocarpa*

Para viabilizar a criação de uma cadeia produtiva para a guabirobeira, existem quatro principais desafios a serem superados. O primeiro deles, e o mais crucial, é o fato da semente da guabirobeira ser recalcitrante, ou seja, sofre pouca desidratação durante a maturação, apresentando elevado nível de umidade, o que a torna sensível ao dessecamento e a baixas temperaturas, inviabilizando sua conservação por métodos convencionais (MELCHIOR *et al.*, 2006; VIEIRA, 2019). Sementes recalcitrantes não têm ou não expressam mecanismos fisiológicos para tolerar a dessecação sem que a viabilidade seja comprometida de forma irreversível. No caso da guabirobeira, as sementes perdem 93,9% de seu conteúdo de água após 24 horas (VIEIRA, 2019). Melchior *et al.* (2006) propuseram, buscando mitigar esses efeitos, armazenar sementes do gênero *Campomanesia* em um frasco de vidro fechado em temperatura de 25° C, condição em que elas mantêm sua germinação em 60% pelo período de até um mês. Portanto, após a coleta das sementes, é necessário plantá-las logo em seguida para se obter alta taxa de germinação. O segundo desafio a ser superado é seu crescimento lento, uma vez que a espécie possui incremento médio anual (IMA) de 1,55 m³/ha/ano, começa a produzir frutos de forma regular apenas a partir de 10 anos de idade e pode ter sua madeira colhida a partir de 20 anos de idade (CAMPOS FILHO e SARTONELLI, 2015). O terceiro desafio é a falta de domesticação, por isso, ainda apresenta alta variabilidade genética (LISBÔA *et al.*, 2011; MACHADO *et al.*, 2020). Por fim, o quarto desafio é o fato de técnicas mais usuais de propagação vegetativa não apresentarem bons resultados para essa espécie (TELEGINSKI, 2016; PRIMAK *et al.*, 2017; TELEGINSKI *et al.*, 2018).

A estaquia é a primeira alternativa a se considerar para a propagação vegetativa de uma espécie vegetal, pois possibilita a obtenção de clones a partir de estacas e é uma técnica de fácil execução, sem a necessidade de mão de obra

altamente qualificada ou de infraestrutura complexa (BLYTHE *et al.*, 2007). Essa técnica é particularmente interessante para a propagação de espécies com sementes recalcitrantes, como é o caso das espécies do gênero *Campomanesia* (VIEIRA, 2019). As auxinas são comumente utilizadas para induzir o enraizamento de estacas, com destaque para o AIB (BLYTHE *et al.*, 2007). O AIB promove o enraizamento de estacas devido a sua conversão em ácido indolacético por β -oxidação no peroxissomo (TAIZ *et al.*, 2017).

Em experimento de estaquia com estacas semilenhosas conduzido com *Campomanesia aurea*, obteve-se 36,25% de enraizamento para o melhor tratamento, com 2.000 mg L⁻¹ de AIB, mas sem diferença estatística entre os demais tratamentos (EMER *et al.*, 2016). A estaquia também já foi testada em *C. xanthocarpa* em três experimentos, utilizando reguladores do crescimento vegetal (AIB ou AIA) para promover o enraizamento. No primeiro, foram testadas diferentes concentrações de AIB e dois tempos de imersão em estacas semi-lenhosas e herbáceas da espécie, mas não houve enraizamento em nenhum dos tratamentos testados (SCUTTI e ZANETTE, 2000). No segundo deles, as estacas ficaram imersas durante um dia em água ou soluções com diferentes concentrações de ácido indolacético (AIA) ou ácido indolbutírico (AIB), porém, nas condições deste ensaio não se obteve enraizamento com nenhuma das soluções testadas (PRIMAK *et al.*, 2017). No terceiro experimento, de Teleginski (2016), foram coletados dois tipos de estaquia caulinar: brotações do ano, nas quatro estações, e brotações epicórmicas (anelamento, brotações de poda, envergamento, decepa, fragmentos de tronco/inverno e fragmentos de tronco/primavera) (TELEGINSKI, 2016). A mortalidade foi de 100% para todos os tratamentos com brotações do ano (TELEGINSKI, 2016). Já no caso das estacas oriundas de brotações epicórmicas, as técnicas de decepa e fragmentos de tronco/inverno propiciaram os melhores resultados, com enraizamento de 25,5% e 44,4%, respectivamente, sendo que as outras não enraizaram (TELEGINSKI, 2016). Apesar das melhores taxas de enraizamento deste estudo serem baixas, elas mostram que o rejuvenescimento do material vegetal antes da produção de estacas traz maior viabilidade para as mesmas (TELEGINSKI, 2016).

Outra técnica é a miniestaquia, que visa a obtenção de estacas oriundas de material altamente juvenil, por meio da poda dos ápices das matrizes para promover a emissão de brotações, as quais são coletadas e estaqueadas em casa de vegetação, dando origem às mudas (WENDLING e DUTRA, 2008). Em *Eugenia*

uniflora, espécie de Myrtaceae, a técnica de miniestaquia foi a mais eficiente dentre as testadas, atingindo 48,33% de enraizamento para miniestacas coletadas no verão e sem aplicação de AIB (CIPRIANO *et al.*, 2022). Estacas não revigoradas não apresentaram enraizamento, independentemente dos outros fatores avaliados (CIPRIANO *et al.*, 2022). Não há relatos na literatura da utilização da técnica de miniestaquia para *C. xanthocarpa*, mas existe um relato de seu uso na espécie próxima *C. aurea*, no qual a maior taxa de enraizamento e massa seca das raízes foi encontrada na primavera (59,01% e 23,93 mg, respectivamente) (EMER *et al.*, 2019).

A alporquia foi testada para o resgate vegetativo de *C. xanthocarpa*, utilizando ramos jovens e diferentes concentrações de AIB, mas não se obteve sucesso com essa técnica (TELEGINSKI *et al.*, 2018). Também existe um relato de enxertia em *C. xanthocarpa*, no qual foram constatadas porcentagens de brotações de 47,5% e 82,5%, para enxertos feitos com canivete e tesoura, respectivamente, além de não haver mortalidade em ambos os tratamentos 45 dias após a enxertia (ALBUQUERQUE, 2016). Segundo essa pesquisa, a enxertia por garfagem em fenda cheia é uma alternativa viável para a propagação vegetativa dessa espécie (ALBUQUERQUE, 2016).

2.5 MICROPROPAGAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Campomanesia*

Além de técnicas de macropropagação, a micropropagação já foi testada em *C. xanthocarpa* em duas pesquisas (SCUTTI e ZANETTE, 2000; MACHADO *et al.*, 2020). Na primeira delas foram utilizadas plantas germinadas a partir de sementes introduzidas *in vitro*, não sendo possível a desinfestação de microestacas para introdução *in vitro* (SCUTTI e ZANETTE, 2000). Para a etapa de multiplicação, no meio suplementado com 2,2 μ M de 6-benzilaminopurina (BAP) houve o maior número de brotações por microestaca (3,13) (SCUTTI e ZANETTE, 2000). Para o enraizamento, o meio sem reguladores proporcionou taxa de enraizamento de 20% (SCUTTI e ZANETTE, 2000).

Machado *et al.* (2020) também obtiveram sucesso para desenvolver um protocolo de micropropagação para a guabirobeira, possivelmente o maior avanço até o presente momento no âmbito da propagação vegetativa dessa espécie nativa. Neste protocolo, foi utilizado o Woody Plant Medium (WPM) (LLOYD e McCOWN, 1980), empregado comumente para espécies lenhosas com sensibilidade aos sais (MACHADO *et al.*, 2020). Os explantes iniciais foram obtidos de plantas formadas a

partir de sementes introduzidas *in vitro* (MACHADO *et al.*, 2020). Para a etapa de indução de brotações, o meio de cultura suplementado com 2,2 μM de BAP, assim como na pesquisa mencionada anteriormente, induziu maior número de novas brotações por explante (3 a 3,5 por mês) durante três subcultivos (MACHADO *et al.*, 2020). Para a etapa de enraizamento, os melhores resultados após 60 dias foram de 52 e 53% com meio WPM suplementado com 14,7 e 24,5 μM de AIB, respectivamente, mas estes não diferiram significativamente das demais concentrações de AIB testadas, o que justifica a recomendação dos autores de utilizar a concentração mais baixa de AIB (4,9 μM) para o enraizamento dos explantes (MACHADO *et al.*, 2020). Além disso, quando diferentes meios de cultura foram testados sem auxina, o melhor resultado para o enraizamento foi de 49% para o WPM sem reguladores, percentagem muito próxima da melhor encontrada nos testes com AIB. Para a aclimação das mudas, uma taxa de sobrevivência de 52% após dois meses foi atingida (MACHADO *et al.*, 2020).

Também vale ressaltar avanços na micropropagação de outras espécies do gênero *Campomanesia*, pois estes podem servir como base para o aperfeiçoamento da micropropagação de *C. xanthocarpa*. Esta tecnologia de propagação vegetativa também mostrou sucesso nas espécies *Campomanesia phaea* (DEMÉTRIO *et al.*, 2021), *Campomanesia adamantium* (GOELZER *et al.*, 2019) e *Campomanesia rufa* (SANT'ANA *et al.*, 2018). Em *C. phaea*, assim como para a *C. xanthocarpa*, o WPM foi o meio de cultura com os melhores resultados, sendo que, para a indução de brotos, o meio WPM suplementado com 1,0 mg L⁻¹ BAP, 3% de sacarose, 0,2% de Phytigel®, pH ajustado em 4,5, induziu a maior formação de brotos (2,96) (DEMÉTRIO *et al.*, 2021). Este estudo com *C. phaea* revelou que a espécie se desenvolve melhor em pH mais ácido (4,5) (DEMÉTRIO *et al.*, 2021). O pH do meio de cultura é um fator que ainda não foi estudado na micropropagação da *C. xanthocarpa*, e pode ser um agente que melhore seu desenvolvimento *in vitro*. Em meio de cultura WPM com pH 4,5 e sem reguladores de crescimento, houve 75% de enraizamento após 42 dias (DEMÉTRIO *et al.*, 2021). Diferentemente, as outras duas pesquisas com espécies desse gênero revelaram resultados positivos de formação de brotações e alongamento no meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) (SANT'ANA *et al.*, 2018; GOELZER *et al.*, 2019). No caso da *Campomanesia adamantium*, o meio MS suplementado com BAP aumentou o número de brotações de forma diretamente proporcional ao aumento da concentração deste regulador,

porém, o comprimento das brotações também foi reduzido (GOELZER *et al.*, 2019). O thidiazuron (TDZ) em concentração 5,0 μM aumentou o comprimento das brotações, o número de folhas e a taxa de multiplicação (GOELZER *et al.*, 2019). Na espécie *Campomanesia rufa*, o meio MS suplementado com BAP em concentração de 4,5 μM induziu maior número médio de brotações por explante, tendo seu pico aos 90 dias de cultivo, em que a média foi de 4,08 brotos (SANT'ANA *et al.*, 2018).

Por fim, também já foi relatada a embriogênese somática na guabirobeira. A técnica se mostrou eficaz no estudo de Scutti e Zanette (2000), onde os meios com 0,5 a 1 mg L^{-1} de 2,4-D foram os que induziram a formação de embriões somáticos. Houve sucesso na conversão dos embriões somáticos em plântulas (SCUTTI e ZANETTE, 2000). Outro estudo obteve embriões somáticos assincrônicos, especialmente nos estádios torpedo e cotiledonar, que surgiram após 180 dias de cultivo em meio WPM adicionado de 7,5 μM de 2,4-D (MACHADO, 2018).

2.6 PROPAGAÇÃO DE *Eucalyptus* POR MINIESTAQUIA

Uma técnica dentro da estaquia é a miniestaquia, que visa a obtenção de estacas oriundas de material altamente juvenil, normalmente de menor dimensão em relação às estacas convencionais. Na miniestaquia, as matrizes, ou minicepas, têm seus ápices podados para promover a emissão de brotações, as quais são coletadas e estaqueadas em casa de vegetação, dando origem às mudas. Minijardim clonal é a denominação do conjunto de minicepas (WENDLING e DUTRA, 2008). A maioria dos viveiros de mudas clonais de eucalipto no Brasil trabalham com a propagação via miniestaquia (AZEVEDO *et al.*, 2022). Em espécies de *Eucalyptus*, a miniestaquia seriada já foi capaz de revigorar clones com baixo potencial de enraizamento (WENDLING e XAVIER, 2005a; 2005b). A hibridização entre espécies do gênero também pode melhorar características de enraizamento (porcentagem de enraizamento, área e volume de raiz) em comparação com seus pais, de espécies puras (MUTHULAKSHMI *et al.*, 2021).

2.7 BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS

Uma imensa quantidade de organismos, como bactérias, protozoários, fungos e animais, divide o ambiente natural e interage com as plantas (TAIZ *et al.*, 2017). Dentre eles, inúmeras espécies de bactérias desenvolveram as mais variadas relações com os vegetais (TAIZ *et al.*, 2017). Existem bactérias fitopatogênicas, que

podem levar à morte da planta hospedeira. Mas também existem bactérias que interagem com a planta hospedeira e podem auxiliar na produção de fitohormônios promotores do crescimento vegetal, ou otimizar a absorção de nutrientes pelas raízes, ou ajudar a planta a resistir estresses ambientais, dentre outros benefícios (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Algumas bactérias, por exemplo, produzem a enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase, a qual propicia o crescimento vegetal e a proteção contra estresses ambientais, pois reduz os níveis de etileno na planta (GLICK, 2005; FERREIRA *et al.*, 2020).

São denominadas bactérias endofíticas os microrganismos bacterianos que vivem no interior de plantas sem lhes causar malefício, colonizando os espaços intra ou intercelulares do tecido vegetal durante parte ou todo o seu ciclo de vida (WILSON, 1995; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Além de não causar malefício aos seus hospedeiros, estudos indicam que esse grupo de bactérias beneficiam as plantas de diversas maneiras, e podem auxiliar na produção de hormônios vegetais, especialmente as auxinas (SANTOYO *et al.*, 2016; SINGH *et al.*, 2017). Alguns exemplos de produtoras de auxinas são espécies dos gêneros *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, dentre outros (FENG *et al.*, 2006; MISHRA *et al.*, 2011; RASHID *et al.*, 2012; SANTOYO *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2017; BURRAGONI e JEON, 2021).

O aminoácido triptofano é o precursor para a biossíntese de AIA, principal auxina produzida pelas plantas (TAIZ *et al.*, 2017). Existem quatro rotas utilizadas para a conversão de triptofano em AIA, são elas: ácido indol-3-pirúvico (AIP), indol-3-acetonitrila (IAN), indol-3-acetamida (IAM) e triptamina (TAM) (TAIZ *et al.*, 2017). Sabe-se que, em função das condições ambientais e da disponibilidade nutricional da planta, as bactérias endofíticas podem sintetizar auxinas por estas quatro rotas, sendo a AIP a preferida (TIAN *et al.*, 2015). Uma rota independente do triptofano já foi observada em algumas plantas, mas os processos enzimáticos desta rota e a sua importância ainda não foram elucidados (TAIZ *et al.*, 2017). A produção de compostos indólicos (auxinas) na ausência de triptofano já foi observada em bactérias dos gêneros *Azospirillum* (PRINSEN *et al.*, 1993; COSTACURTA e VANDERLEYDEN, 1995) e, mais recentemente, *Micrococcus* (AHMAD *et al.*, 2020), por exemplo.

Diferentes genótipos de *Prunus avium* L. foram comparados, e descobriu-se que as comunidades de bactérias endofíticas eram muito diferentes nesses genótipos, sendo que aqueles que possuíam maior facilidade de enraizamento possuíam

bactérias endofíticas de gêneros previamente reportados como promotores de crescimento em plantas (QUAMBUSCH *et al.*, 2014). O benefício do uso de bactérias endofíticas também já foi comprovado em bananeira (*Musa* spp. L.), onde isolados do gênero *Bacillus*, caracterizados como fixadores biológicos de nitrogênio, solubilizadores de fosfato inorgânico e sintetizadores de auxina, promoveram efeitos positivos em mudas micropropagadas de bananeira 'Prata Anã', aumentando o comprimento e diâmetro do pseudocaule e as massas seca e fresca (SOUZA *et al.*, 2017). Estes são apenas dois dos muitos estudos que indicam que as bactérias endofíticas podem ter impacto positivo na propagação *in vitro* de plantas, como já foi revisado por Soumare *et al.* (2021).

Bactérias endofíticas já foram isoladas de tecidos de *Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts, uma espécie de árvore frutífera da mesma família da *C. xanthocarpa*, e algumas tiveram produção confirmada de compostos indólicos (auxinas) (QUEIROZ *et al.*, 2020). Nesta mesma pesquisa, ainda foi constatado que as bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Stenotrophomonas* foram as maiores produtoras de compostos indólicos e, quando inoculadas em sementes de *P. peruviana*, melhoraram as taxas e a velocidade de germinação, além do tamanho médio de raízes das plântulas (QUEIROZ *et al.*, 2020).

Visto que auxinas sintéticas são empregadas para induzir a rizogênese em estacas tanto *in vitro* como *ex vitro*, bactérias endofíticas produtoras de auxinas poderiam baratear custos para a propagação de espécies vegetais que necessitam desse grupo hormonal para enraizar, uma vez que podem reduzir ou, até mesmo, substituir a aplicação de auxina exógena (SUZUKI *et al.*, 2003; SANTOYO *et al.*, 2016; HARTMANN *et al.*, 2018; BURRAGONI e JEON, 2021; NADAL *et al.*, 2022). O uso de bactérias endofíticas é um dos caminhos para melhorar as práticas agrícolas, pois muitas espécies já foram comprovadas como promotoras do crescimento de plantas, ou melhoram a absorção de nutrientes ou ainda induzem a tolerância ao estresse ambiental (SANTOYO *et al.*, 2016; SINGH *et al.*, 2017; BURRAGONI e JEON, 2021). Essas bactérias são recursos biológicos valiosos que devem trazer efeitos positivos na produção agrícola (KHAN *et al.*, 2020; BURRAGONI e JEON, 2021).

2.8 ANATOMIA VEGETAL COMO FERRAMENTA PARA ESTUDOS DE ENRAIZAMENTO

Na literatura, existem diversos relatos que relacionam (ou não) a baixa ou inexistente taxa de enraizamento de espécies lenhosas a barreiras anatômicas (AYOUB e QRUNFLEH, 2006; WENDLING *et al.*, 2015; OPEÑA *et al.*, 2020; CIPRIANO *et al.* 2022; SÁ *et al.*, 2022; SOUSA *et al.*, 2023). Além das causas anatômicas, outros fatores podem afetar a rizogênese em espécies lenhosas, em especial os fisiológicos (como a juvenilidade) e bioquímicos, estes últimos geralmente associados à presença de compostos fenólicos (STUEPP *et al.*, 2017; MAGGIONI *et al.*, 2020; ROSS *et al.*, 2021; MARTINS *et al.*, 2022; SÁ *et al.*, 2022).

Raízes adventícias podem se originar a partir de qualquer tecido com parede primária, como, por exemplo: parênquima do floema, raio vascular, câmbio, córtex e calo (EVERT, 2006). Em diversas espécies de plantas de difícil enraizamento por estaquia, primeiramente as lenhosas, pode haver barreiras anatômicas, em especial, a presença de anéis contínuos de esclerênquima entre o floema e córtex, o que forma uma camada externa de tecido fibroso e lignificado que dificulta a origem ou emissão de raízes (HARTMANN *et al.*, 2018; XAVIER *et al.*, 2021).

O estudo anatômico é um aliado promissor das técnicas de propagação vegetativa, pois pode explicar diferentes taxas de enraizamento observadas em cultivares ou genótipos de uma mesma espécie, auxiliando na seleção dos mais promissores à propagação vegetativa (AYOUB e QRUNFLEH, 2006; WENDLING *et al.*, 2015; OPEÑA *et al.*, 2020; ROSS *et al.*, 2021). Dias *et al.* (2012) citam que barreiras anatômicas estão dentre os fatores que mais influenciam o sucesso para a propagação de plantas via estaquia. Essas barreiras anatômicas podem explicar diferentes taxas de enraizamento em diferentes genótipos da mesma espécie (AYOUB e QRUNFLEH, 2006; OPEÑA *et al.*, 2020). Em cultivar de oliveira (*Olea europaea* L.) de difícil enraizamento, Ayoub e Qrunfleh (2006) observaram, por meio de análise anatômica, que havia um aumento na espessura do córtex durante o enraizamento dessa cultivar, o que constituía uma barreira para o desenvolvimento das raízes. Esse fenômeno também já foi observado em espécies da família Myrtaceae classificadas como de difícil enraizamento (ZHANG *et al.*, 2009; GOULART *et al.*, 2014; BRYANT e TRUEMAN, 2015; SANTORO *et al.*, 2022).

Em *Acca sellowiana* (Myrtaceae), estacas de diferentes genótipos se comportaram de maneira distinta quanto ao enraizamento (ROSS *et al.*, 2017; 2021).

Diferenças anatômicas foram observadas entre esses genótipos, pois havia um desenvolvimento precoce de periderme no genótipo de difícil enraizamento, o que explicou as diferenças na capacidade de enraizamento entre os genótipos (ROSS *et al.*, 2021). Ainda não foi investigado se as baixas taxas de enraizamento encontradas em *C. xanthocarpa* são decorrentes de barreiras anatômicas ou de outro fator. Portanto, a anatomia vegetal é uma ferramenta que pode ser utilizada para comprovar se existem barreiras anatômicas que dificultam o processo de rizogênese ou não nessa espécie.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, N.; EL-RAMADY, H.; SELIEM, M. K.; EL-MAHROUK, M. E.; TAHA, N.; BAYOUMI, Y.; SHALABY, T. A.; DOBRÁNSZKI, J. An academic and technical overview on plant micropropagation challenges. **Horticulturae**, v. 8, n. 8, p. 677, 2022.

AHMAD, E.; SHARMA, S. K.; SHARMA, P. K. Deciphering operation of tryptophan-independent pathway in high indole-3-acetic acid (IAA) producing *Micrococcus aloeverae* DCB-20. **FEMS Microbiology Letters**, v. 367, n. 24, 2020.

ALBUQUERQUE, J. S. **Propagação vegetativa de guabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) pelo método de enxertia**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2016.

ALVES R. S.; DE CARVALHO ROCHA, J. R. D. A. S.; TEODORO, P. E.; DE RESENDE, M. D. V.; HENRIQUES, E. P.; SILVA, L. A.; CARNEIRO, P. C. S.; BHERING, L. L. Multiple-trait BLUP: a suitable strategy for genetic selection of *Eucalyptus*. **Tree Genetics & Genomes**, v. 14, p. 1-8, 2018.

ANDRADE, D. R. M.; HELM, C. V.; MAZZA, C. A.; MAZZA, M. C. M. Caracterização por composição nutricional da guabioba. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Congresso Brasileiro De Fruticultura, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: SBF, 2012.

ANDREOLI, C. V.; PHILIPPI JR, A.; OLIVEIRA, R. K. de. Segurança alimentar na Quarta Revolução Industrial: uma questão de governança ambiental. In: ANDREOLI, C. V.; PHILIPPI JR, A. (Ed.). **Sustentabilidade no agronegócio**. Santana de Parnaíba (SP): Editora Manole, 2021, p.3-51

AYOUB, S. J.; QRUNFLEH, M. M. Anatomical aspects of rooting 'Nabali' and 'Raseei'olive semi-hardwood stem cuttings. **Jordan Journal of Agricultural Sciences**, v. 2, n. 1, p. 16-28, 2006.

AZEVEDO, G. T. de O. S.; SOUZA, A. M. de; AZEVEDO, G. B. de; TEODORO, P. E.; TEODORO, L. P. R.; SOUSA, J. R. L. de. Time of permanence and rooting quality of minicuttings of eucalypt clones. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**, v. 84, n. 1, p. 44-51, 2022.

BIAVATTI, M. W.; FARIAS, F. C.; CURTIUS, L.M. BRASIL; HORT, S.; SCHUSTER, L.; LEITE, S. N.; PRADO, S. R. T. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) JF Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2-3, p. 385-389, 2004.

BLYTHE, E. K.; SIBLEY, J. L.; TILT, K. M.; RUTER, J. M. Methods of auxin application in cutting propagation: A review of 70 years of scientific discovery and commercial practice. **Journal of Environmental Horticulture**, v. 25, n. 3, p. 166-185, 2007.

BRYANT, P. H.; TRUEMAN, S. J. Stem anatomy and adventitious root formation in cuttings of *Angophora*, *Corymbia* and *Eucalyptus*. **Forests**, v. 6, n. 4, p. 1227-1238,

2015.

BURRAGONI, S. G.; JEON, J. Applications of endophytic microbes in agriculture, biotechnology, medicine, and beyond. **Microbiological Research**, v. 245, 2021.

BURALLI, R. J.; RIBEIRO, H. Uso de pesticidas agrícolas e impactos ao meio ambiente e à saúde humana. In: ANDREOLI, C. V.; PHILIPPI JR, A. (Ed.). **Sustentabilidade no agronegócio**. Santana de Parnaíba (SP): Editora Manole, 2021, p.664-701

CAMPOS FILHO, E. M. C.; SARTONELLI, P. A. R. **Guia de Árvores com Valor Econômico**. São Paulo: Agroicone, 2015.

CARRARA, M. dos R. **Espécies de Campomanesia Ruiz & Pavon (Myrtinae, Myrtaceae) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro**. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (RJ), 1997.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília (DF): Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

CHEN, C.; XIN, K.; LIU, H.; CHENG, J.; SHEN, X.; WANG, Y.; ZHANG, L. *Pantoea alhagi*, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2017.

CIPRIANO, R. R.; TOMAZZOLI, M. M.; TOFANELLI, M. B. D.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; RIBAS, K. C. Z.; DESCHAMPS, C. Rooting of *Eugenia uniflora* cuttings: substrate, seasonality, auxine and reinvigoration methods. **Comunicata Scientiae**, v. 13, p. 1-9, 2022.

COSTACURTA, A.; VANDERLEYDEN, J. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. **Critical reviews in microbiology**, v. 21, n. 1, p. 1-18, 1995.

DEMÉTRIO, C. A.; JACOB, J. F. de O.; AMBROSANO, G. B.; OLIVEIRA, Ê. T. de; RODRIGUES, P. H. V. In vitro propagation of cambuci (*Campomanesia phaea*): An endangered exotic fruit and ornamental plant from Brazilian Atlantic Forest. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 145, n. 1, p. 203-208, 2021.

DIAS, P.C.; OLIVEIRA, L.S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012.

EMER, A. A.; AVRELLA, E. D.; FIOR, C. S.; SCHAFER, G. Nitrogen fertilization for minicuttings of *Campomanesia aurea* O. Berg and its influence on productivity and rooting of minicuttings at different seasons of the year. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 14, n. 2, p. 1-8, 2019.

EMER, A. A.; SCHAFER, G.; AVRELLA, E. D.; DELAZERI, M.; VEIT, P. A. FIOR, C. S. Influence of indolebutyric acid in the rooting of *Campomanesia aurea* semihardwood cuttings. **Ornamental Horticulture**, v. 22, n. 1, p. 94-100, 2016.

EVERT, R. F. Parenchyma and Collenchyma. In: EVERT, R. F. (Ed.) **Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development**. 3ª ed, Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2006. p. 175-190.

FENG, Y.; SHEN, D.; SONG, W. Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates. **Journal of applied microbiology**, v. 100, n. 5, p. 938-945, 2006.

FERREIRA, J. de P.; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I. **Método para detecção e quantificação da atividade de ACC deaminase em bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal**. Comunicado Técnico 148. Seropédica, RJ: Embrapa, 2020.

GLICK, B. R. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. **FEMS microbiology letters**, v. 251, n. 1, p. 1-7, 2005.

GOELZER, A.; DÉO, T. G.; LOPES, G. B.; DAMIANI, C. R. Reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae). **Brazilian Applied Science Review**, v. 3, n. 2, p. 1280-1291, 2019.

GONIN, M.; BERGOUGNOUX, V.; NGUYEN, T. D.; GANTET, P.; CHAMPION, A. What makes adventitious roots?. **Plants**, v. 8, n. 7, p. 240, 2019.

GOULART, P. B.; XAVIER, A.; IAREMA, L.; OTONI, W. C. Morfoanatomia da rizogênese adventícia em miniestacas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, v. 24, p. 521-532, 2014.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.; DAVIES, F. T.; GENEVE R. L.; WILSON S. B. **Hartmann & Kester's plant propagation: Principles and practices** (9ª ed.). Pearson Education Limited. Estados Unidos, Nova Iorque, 2018.

HAYAT, U.; JILANI, M. I.; REHMAN, R.; NADEEM, F. A Review on *Eucalyptus globulus*: A new perspective in therapeutics. **Int. J. Chem. Biochem. Sci**, v. 8, p. 85-91, 2015.

IBÁ. Relatório anual 2022. **IBÁ - Indústria Brasileira de Árvores**. 2022. Disponível em: <<https://www.iba.org/publicacoes/relatorios>>. Acesso em: 22 mai. 2023.

IBGE. Produção Agrícola – Lavoura Permanente. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/15/11954>>. Acesso em: 14 mar. 2023.

KHAN, S. S.; VERMA, V.; RASOOL, S. Diversity and the role of endophytic bacteria: a review. **Botanica Serbica**, v. 44, n. 2, p. 103-120, 2020.

KINUPP, V. F. Espécies Alimentícias Nativas da Região Sul do Brasil. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Ed.). **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor**

Econômico Atual ou Potencial: Plantas para o Futuro – Região Sul. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011. p. 107-110.

KLAFKE, J. Z. **Efeitos da *Campomanesia xanthocarpa* em parâmetros bioquímicos, hematológicos e de estresse oxidativo em pacientes hipercolesterolêmicos.** Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul, 2009.

DE KLERK, G. J. Rooting of microcuttings: theory and practice. ***In vitro cellular & developmental biology. Plant***, p. 415-422, 2002.

KUMAR, N.; REDDY, M. P. *In vitro* plant propagation: a review. **Journal of forest and environmental science**, v. 27, n. 2, p. 61-72, 2011.

LAL, M.; JAMWAL, M.; SOOD, Y.; BAKSHI, P.; SHARMA, N.; SHARMA, S.; KUMAR, S. Micropropagation of fruit crops: a review. **Plant Science Today**, v. 10, n. 1, p. 108-117, 2023.

LISBÔA, G. V.; KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. de. *Campomanesia xanthocarpa* Guabiroba. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Ed.). **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial:** Plantas para o Futuro – Região Sul. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011. p. 159-162.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**. USA., v. 30, p. 421-427, 1980.

LONG, Y.; YANG, Y.; PAN, G.; SHEN, Y. New insights into tissue culture plant-regeneration mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

LORENZI, H.; DE LACERDA, M. T. C.; BACHER, L. B. **Frutas no Brasil Nativas e Exóticas (de consumo *in natura*).** São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2015.

MACHADO, J. S. **Micropropagação de Guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg – Myrtaceae) por Multiplicação de Gemas Axilares e Embriogênese Somática.** Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2018.

MACHADO, J. S.; DEGENHARDT, J.; MAIA, R. F.; QUOIRIN, M. Micropropagation of *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae), a medicinal tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Trees**, p. 1-9, 2020.

MAGGIONI, R. D. A.; LATOH, L. P.; VIEIRA, L. M.; NETTO, E. R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. *Ginkgo biloba* L. mini-cuttings: indole butyric acid, substrates, and biochemical composition of the mother plants. **Agrochimica Colombiana**, v. 38, n. 3, p. 429-435, 2020.

MARTINS, M.; GOMES, A. F. G.; DA SILVA, É. M.; DA SILVA, D. F.; PECHE, P. M.; MAGALHÃES, T. A.; PIO, R. Effects of anatomical structures and phenolic compound deposition on the rooting of olive cuttings. **Rhizosphere**, v. 23, 2022.

DE MARCHESE, A. M.; FILIPPONE, M. P. Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible: Bio-products: key components of sustainable agriculture. **Revista Agronómica del Noroeste Argentino**, v. 38, n. 1, p. 9-21, 2018.

MELCHIOR, S. J.; CUSTÓDIO, C. C.; MARQUES, T. A.; MACHADO NETO, N. B. Colheita e armazenamento de sementes de gabioba (*Campomanesia adamantium* Camb. - Myrtaceae) e implicações na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 141-150, 2006.

MENDES, I. de C.; REIS JUNIOR, F. B.; DA CUNHA, M. H. 20 perguntas e respostas sobre fixação biológica de nitrogênio. **Embrapa Cerrados-Documents (INFOTEC-A-E)**, 2010. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/883833/1/doc281.pdf>>. Acesso em: 14 mar. 2023.

MESSIER, C.; BAUHUS, J.; SOUSA-SILVA, R. For the sake of resilience and multifunctionality, let's diversify planted forests!. **Conservation Letters**, v. 15, n. 1, 2022.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. Conceitos – Conheça a base conceitual do Programa Nacional de Bioinsumos. **Ministério da Agricultura e Pecuária**. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitos>>. Acesso em: 22 mar. 2023.

MISHRA, A.; CHAUHAN, P. S.; CHAUDHRY, V.; TRIPATHI, M.; NAUTIYAL, C. S. Rhizosphere competent *Pantoea agglomerans* enhances maize (*Zea mays*) and chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth, without altering the rhizosphere functional diversity. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 100, p. 405-413, 2011.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição. Editora UFLA, 2006.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

MUTHULAKSHMI, V.; VIJAYAM, C. V.; BACHPAI, V. K. W.; SIVAKUMAR, V.; MUTHULAKSHMI, E.; SHANMUGAVEL, S.; PARVEEN, A. B. M.; YASODHA, R.; RAJASUGUNASEKAR, D.; NAGARAJAN, B.; MAYAVEL, A.; DASGUPTA, M. G. Genetic control of adventitious rooting traits in bi-parental pedigree of *Eucalyptus tereticornis* × *E. camaldulensis*. **New Forests**, v. 52, p. 585-603, 2021.

NADAL, M. C.; FERREIRA, G. M. dos R.; ANDRADE, G. V. S.; BUTTRÓS, V. H.; RODRIGUES, F. A.; DA SILVA, C. M.; MARTINS, A. D.; RUFATO, L.; LUZ, J. M. Q.; DÓRIA, J.; PASQUAL, M. Endophytic Bacteria Can Replace the Need for Synthetic Auxin during *In Vitro* Rooting of *Pyrus communis*. **Agronomy**, v. 12, n. 5, 2022.

OLIVEIRA, L. S. de; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa florestal brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.

OLIVEIRA, M. I. U.; COSTA, I. R.; PROENÇA, C. E. B. *Campomanesia* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB10335>. Acesso em: 07 mar. 2023

OPEÑA, J. M.; SOTTO, R. C.; SALAZAR, B. M.; PROTACIO, C. M. Morpho-anatomical investigation on the adventitious rooting of hard-to-root Excelsa coffee (*Coffea excelsa* A. Chev.) stem cuttings. **Philippine Agricultural Scientist**, v. 103, n. 4, p. 303-310, 2020.

PHILLIPS, G. C.; GARDA, M. Plant tissue culture media and practices: an overview. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 55, n. 3, p. 242-257, 2019.

POKE, F. S.; VAILLANCOURT, R. E.; POTTS, B. M.; REID, J. B. Genomic research in Eucalyptus. **Genetica**, v. 125, p. 79-101, 2005.

PRIMAK, T. K.; LIMA, C. M.; CASSARINO, J. P. Ácido indolacético e ácido indolbutírico, na reprodução vegetativa da Guabirola (*Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg) via estaquia. In: **VII Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS**, v. 7 n. 1. Laranjeiras do Sul, 2017.

PRINSEN, E.; COSTACURTA, A.; MICHIELS, K.; VANDERLEYDEN, J.; VAN ONCKELEN, H. *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 6, p. 609-615, 1993.

PROENÇA, C. E. B.; AMORIM, B. S.; ANTONICELLI, M. C. ; BÜNGER, M.; BURTON, G. P.; CALDAS, D.K.D.; COSTA, I.R.; FARIA, J.E.Q.; FERNANDES, T.; GAEM, P.H.; GIARETTA, A.; LIMA, D.F.; LOURENÇO, A.R.L.; LUCAS, E.J.; MAZINE, F.F.; MEIRELES, L.D.; OLIVEIRA, M.I.U.; PIZZARDO, R.C.; ROSA, P.O.; SANTANA, K.C.; SANTOS, L.L.D.; SANTOS, M.F.; SOUZA, M.C.; SOUZA, M.A.D.; STADNIK, A.; STAGGEMEIER, V.G.; TULER, A.C.; VALDEMARIN, K.S.; VASCONCELOS, T.N.C.; VIEIRA, F.C.S.; WALTER, B.M.T.; SOBRAL, M. **Myrtaceae in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>. Acesso em: 07 mar. 2023.

QUAMBUSCH, M.; PIRTTILA, A. M.; TEJESVI, M. V.; WINKELMANN, T.; BARTSCH, M. Endophytic bacteria in plant tissue culture: differences between easy and difficult-to-propagate *Prunus avium* genotypes. **Tree Physiology**, v. 34, n. 5, p. 524-533, 2014.

QUEIROZ, E.G.; DEGENHARDT, J.; QUOIRIN, M.; DA SILVA, K. Endophytic bacteria associated with tissue culture and leaves of *Plinia peruviana*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55, 2020.

RASEIRA, M. C. B.; ANTUNES, L. E. C.; TREVISAN, R.; GONÇALVES, E. D. **Espécies frutíferas nativas do Sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004.

RASHID, S.; CHARLES, T. C.; GLICK, B. R. Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. **Applied soil ecology**, v. 61, p. 217-224, 2012.

ROSS, S.; PECHI, E.; SPERONI, G.; VIGNALE, B.; SPERANZA, P.; CASTILLO, A.; CABRERA, D. *In vitro* rooting of *Acca sellowiana* microshoots. **Acta Hortic.**, v. 1155, p. 537-542, 2017.

ROSS, S.; SPERONI, G.; SOUZA-PÉREZ, M.; ÁVILA, N.; PIETRO, F.; GONZÁLEA, A. M.; SPERANZA, P. Stem-cutting anatomy and biochemical responses associated with competence for adventitious root differentiation in *Acca sellowiana* (Myrtaceae). **Trees**, p. 1-12, 2021.

SABER, F. R.; MUNEKATA, P. E. S.; RIZWAN, K.; EL-NASHAR, H. A. S.; FAHMY, N. M.; ALY, S. H.; EL-SHAZLY M.; BOUYAHYA, A.; LORENZO, J. M. Family Myrtaceae: The treasure hidden in the complex/diverse composition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-19, 2023.

SÁ, F. P. de; GOMES, E. N.; MAGGIONI, R. DE A.; WENDLING, I.; HELM, C. V.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Biochemical and anatomical features of adventitious rhizogenesis in apical and basal mini-cuttings of *Ilex paraguariensis*. **New Forests**, p. 1-20, 2022.

SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre: Sagra, 1989. p. 306.

SANT'ANA, C. R. de O.; PAIVA, R.; REIS, M. V. dos; SILVA, D. P. C. da; SILVA, L. C. *In vitro* propagation of *Campomanesia rufa*: An endangered fruit species. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 4, p. 372-380, 2018.

SANTORO, M. B.; BROGIO, B. D. A.; TANAKA, F. A. O.; JACOMINO, A. P.; SILVA, R. M. P. Adventitious rooting and anatomical aspects of *Campomanesia phaea* stems. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 44, 2022.

SANTOS, C. M. R.; FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, E. A. Características de frutos e germinação de sementes de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 14, n. 2, p. 13-20, 2004.

SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. del C.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological research**, v. 183, p. 92-99, 2016.

SCUTTI, M. B.; ZANETTE, F. Propagação vegetativa da guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) *in vitro* e por estaquia. **Scientia Agraria**, v.1, n 12, p. 75-82, 2000.

SENG HUA, L.; WEI CHEN, L.; ANTOV, P.; KRISTAK, L.; MD TAHIR, P. Engineering wood products from *Eucalyptus* spp. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2022, p. 1-14, 2022.

SINGH, A. Micropropagation of plants. In: BAHADUR, B.; RAJAM, M. V.; SAHIJRAM, L.; KRISHNAMURTHY, K. (Ed.). **Plant Biology and Biotechnology**. New Delhi: Springer, 2015. p. 329-346.

SINGH, M.; KUMAR, A.; SINGH, R.; PANDE, K. D. Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. **3 Biotech**, v. 7, n. 5, p. 1-14, 2017.

SOUMARE, A.; DIÉDHIOU, A. G.; ARORA, N. K.; TAWFEEQ AL-ANI, L. K.; NGOM, M.; FALL, S.; HAFIDI, M.; OUHDOUCH, Y.; KOUISNI, L.; SY, M. O. Potential role and utilization of plant growth promoting microbes in plant tissue culture. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021.

SOUSA, C. E. de; OLIVEIRA, F. L. R.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Physiological and anatomical aspects of the rooting of *Brunfelsia pauciflora* cuttings. **Scientia Horticulturae**, v. 307, p. 111491, 2023.

SOUZA, F. P. de; CASTILHO, T. P. R.; MACEDO, L. O. B. An institutional framework for Bioinputs in Brazilian agriculture based on Ecological Economics. **Sustainability in Debate**, v. 13, n. 1, p. 247-247, 2022.

SOUZA, G. L. O. D. de; DA SILVA, D. F.; NIETSCHE, S.; XAVIER, A. A.; PEREIRA, M. C. T. Endophytic Bacteria Used As Bioinoculants In Micropropagated Banana Seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 2, 2017.

STANTURF, J. A.; VANCE, E. D.; FOX, T. R.; KIRST, M. Eucalyptus beyond its native range: environmental issues in exotic bioenergy plantations. **International Journal of Forestry Research**, v. 2013, 2013.

STUEPP, C. A.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Successive mini-cuttings collection in *Piptocarpha angustifolia* mini-stumps: effects on maturation, adventitious root induction and root vigor. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 39, p. 245-253, 2017.

SUZUKI, S.; HE, Y.; OYAIZU, H. Indole-3-acetic acid production in *Pseudomonas fluorescens* HP72 and its association with suppression of creeping bentgrass brown patch. **Current microbiology**, v. 47, p. 138-143, 2003.

TAIZ L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017.

TELEGINSKI, F. **Propagação vegetativa e germinação de sementes de Campomanesia xanthocarpa Mart. ex O. Berg**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2016.

TELEGINSKI, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S.; DEGENHARDT-GOLDBACH, J.; TELEGINSKI, E. Resgate Vegetativo de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg por Alporquia. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 2, p. 820-826, 2018.

TIAN, B. Y.; CAO, Y.; ZHANG, K. Q. Metagenomic insights into communities, functions of endophytes and their associates with infection by root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato roots. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, 2015.

UN ENVIRONMENT. Global Environment Outlook (GEO-6): Healthy Planet, Healthy People. Nairobi, Kenya: UNEP, 2019.

VALDEMARIN, K. S.; CAMARGO, P. H. S. A.; MORENO, D. J.; SOUZA, V. C.; LUCAS, E.; MAZINE, F. F. *Eugenia paranapanemensis* (Myrtaceae), the Pitanga-amarela, and a Key to *Eugenia* sect. *Eugenia* Species from São Paulo State, Brazil. **Systematic Botany**, v. 47, n. 2, p. 498-505, 2022.

VIEIRA, P. H. M. **Caracterização morfofisiológica e sensibilidade à dessecação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg (Myrtaceae).** Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (SC), 2019.

WENDLING, I.; BROOKS, P. R.; TRUEMAN, S. J. Topophysis in *Corymbia torelliana* × *C. citriodora* seedlings: adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. **New forests**, v. 46, p. 107-120, 2015.

WENDLING, I.; DUTRA, L.F. **Solução nutritiva para condução de minicepas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).** (Circular Técnica, 157). Paraná: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Florestas, 2008.

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, 2005a.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência da miniestaquia seriada no vigor radicular de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.5, p.681-689, 2005b.

WILSON, D. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. **Oikos**, p. 274-276, 1995.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; DA SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas.** 3 ed., Editora UFV, Viçosa (MG), 2021.

ZHANG, M.; TANG, H.; WANG, D.; REN, S.; LIU, R. A study of rooting characteristics and anatomical structure of feijoa cuttings. **Agricultural Journal**, v. 4, n. 2, p. 86-90, 2009.

BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS NO ENRAIZAMENTO DE MINI E MICROESTACAS DE
ESPÉCIES DE MYRTACEAE E ANÁLISE ANATÔMICA DA RIZOGÊNESE

CURITIBA

2023

Artigo formatado e redigido em conformidade com as normas da revista **Trees**.

Bactérias endofíticas no enraizamento de mini e microestacas de espécies de Myrtaceae e análise anatômica da rizogênese

Resumo

A família Myrtaceae possui destaque no Brasil no ramo da silvicultura com espécies exóticas de *Eucalyptus* spp., e também com diversas fruteiras nativas, como *Campomanesia xanthocarpa* (guabirobeira). Visando produção comercial, a formação de raízes adventícias, comumente induzida com auxinas sintéticas, é fundamental para o sucesso de técnicas de propagação vegetativa. Bactérias endofíticas são microrganismos que vivem em plantas, e muitas delas são produtoras de auxinas, o que poderia acarretar em seu uso como bioinoculante para induzir formação de raízes em estacas. Portanto, os objetivos dessa pesquisa foram avaliar o efeito de diferentes estirpes de bactérias endofíticas na indução de enraizamento de microestacas de guabirobeira e miniestacas de *Eucalyptus*, investigar a origem anatômica das raízes adventícias no caso da guabirobeira e identificar os isolados promissores para o enraizamento via sequenciamento genético. Estirpes de bactérias endofíticas, isoladas de tecidos de *Plinia peruviana* e potencialmente promotoras de crescimento, foram inoculadas em microestacas de guabirobeira e miniestacas de *Eucalyptus*. Instalou-se três ensaios com a guabirobeira, testando diferentes isolados de bactérias endofíticas (CNPFs 1, 2, 3, 4, 10, 11, 12, 14, 22, 23, 25, 33 e 51). No experimento com *Eucalyptus*, testou-se dois isolados (CNPFs 23 e 179) em dois clones comerciais: AEC-0144 (*E. urophylla*) e SUZA0217 (*E. urograndis*). Após a avaliação dos experimentos, selecionou-se os dois melhores isolados que foram identificados a partir do sequenciamento genético do 16S rRNA. Foi ainda realizado o estudo anatômico das microestacas de guabirobeira, investigando a dificuldade de enraizamento adventício dessa espécie. Os ensaios em microestacas de guabirobeira demonstraram efeito positivo das estirpes de bactérias endofíticas CNPF 23 e CNPF 33 sobre a taxa de enraizamento (56,7% e 43,3%, respectivamente). O sequenciamento dos isolados CNPF 23 e CNPF 33 revelou tratar-se do mesmo gênero: *Pantoea*. No ensaio em miniestacas de *Eucalyptus*, o clone SUZA0217 foi superior ao clone AEC-0144 para todas as variáveis de enraizamento avaliadas. A inoculação com a bactéria CNPF 23 proporcionou a maior taxa de enraizamento (99,0%) e a menor ocorrência de calos (4,0%). Destaca-se que a inoculação das microestacas de guabirobeira e miniestacas de *Eucalyptus* com a bactéria CNPF 23 (*Pantoea* sp.) proporcionou as maiores taxas de enraizamento em ambas as espécies, portanto, seu uso como bioinoculante é aconselhado para elevar o enraizamento nestas espécies, podendo substituir o uso de auxina sintética no meio de cultura, no caso da guabirobeira. O estudo anatômico das microestacas de guabirobeira revelou a presença de felogênio em alguns indivíduos, indicando crescimento secundário precoce, os quais foram justamente os que não formaram raízes adventícias. Portanto, recomenda-se a seleção dos genótipos onde o felogênio se diferencia mais tardiamente para a domesticação dessa espécie.

Palavras-chave: Anatomia vegetal, bactéria promotora de crescimento vegetal, *Campomanesia xanthocarpa*, *Eucalyptus*.

1. Introdução

Bactérias endofíticas são microrganismos que vivem no interior de plantas sem lhes causar prejuízo e algumas podem beneficiar as plantas hospedeiras de diversas maneiras, como, por exemplo, auxiliando na produção de hormônios vegetais, dentre os quais as auxinas (Wilson 1995; Santoyo et al. 2016; Singh et al. 2017). As principais pesquisas sobre a aplicação prática desses microrganismos visam o seu uso como bioinsumos (Santoyo et al. 2016; Singh et al. 2017; Burragoni e Jeon 2021). A aplicação comercial de microrganismos pode ser de grande valia tendo em vista uma eminente escassez de fertilizantes e alimentos no mundo, além de atender demandas socioambientais pelo uso de produtos com menor risco de contaminação ambiental e aos organismos não alvo em comparação com produtos químicos (Tenkorang e Lowenberg-DeBoer 2009; Alewell et al. 2020; Buralli e Ribeiro 2021; Dhayalan e Sudalaimuthu 2021). Um exemplo de aplicação prática deste tipo de bactéria se deu com isolados de tecidos de pupunheira (*Bactris gasipaes*) (Arecaceae), onde um deles (CNPq 179), identificado como *Stenotrophomonas* sp., promoveu maior massa seca de raízes em relação aos demais tratamentos, em experimento com a espécie da qual foi isolada (Silva et al. 2022).

Auxinas são hormônios vegetais capazes de promover formação de raízes adventícias em estacas (Raven et al. 2007; Taiz et al. 2017). Portanto, o uso de auxinas sintéticas é extremamente importante para o sucesso na propagação vegetativa de diversas espécies lenhosas em escala comercial, mas também constituem um de seus principais custos (Raven et al. 2007; Hartmann et al. 2018). O ácido indol-3-butírico (AIB) é a auxina sintética mais utilizada comercialmente para essa finalidade (Taiz et al. 2017). Esse composto se converte em ácido indolacético (AIA) no peroxissomo por β -oxidação (Taiz et al. 2017). AIA é a auxina mais abundante e fisiologicamente importante nos organismos vegetais (Taiz et al. 2017). Além das técnicas tradicionais de propagação, a micropropagação surgiu como uma alternativa promissora para a propagação de espécies particularmente difíceis, seja por diferentes fatores (Singh 2015). A multiplicação por gemas axilares é a base de grande parte dos protocolos de micropropagação em espécies lenhosas nativas do Brasil (Oliveira et al. 2013). Apesar do grande número de espécies florestais nativas, existe grande carência de pesquisas sobre a propagação *in vitro* delas, sendo que, presentemente, ainda se focam especialmente no desenvolvimento de protocolos de micropropagação (Oliveira et al. 2013; Phillips e Garda 2019). Em grande parte desses estudos, a etapa de enraizamento ainda é o principal gargalo da técnica (de Klerk 2002).

A família Myrtaceae Juss. possui grande expressividade na silvicultura devido às espécies do gênero *Eucalyptus* L'Hér., nativas da Austrália e ilhas da Oceania (Poke et al. 2005; Hayat et al. 2015). Estas árvores são muito visadas para a produtividade devido ao seu rápido crescimento, alta adaptabilidade e elevada demanda pelos produtos oriundos, dos quais se destacam o carvão vegetal, a lenha e a celulose, usada na produção de papel (Alves et al. 2018; Seng Hua et al. 2022). É o gênero mais usual em plantios florestais nos trópicos e subtrópicos, o que inclui o Brasil, que ocupa posição de destaque, pois possui a maior área plantada desse gênero no mundo, com 22% do total (Messier et al. 2022; Seng Hua et al. 2022). No ano de 2021, a área total dedicada à silvicultura no Brasil foi de 9.930.000 ha, e, destes, 7.530.000 ha são de espécies de *Eucalyptus*, o que corresponde à 75,8% (IBÁ, 2022). Os estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Rio Grande do Sul são os com as maiores áreas de florestas plantadas dentre os estados brasileiros (IBÁ, 2022). No entanto, vários clones comerciais, tanto de espécies puras como híbridos, ainda apresentam baixas taxas de enraizamento, sendo que técnicas de rejuvenescimento são a primeira alternativa considerada para a superação desses problemas (Mendonça et al. 2020; Vilasboa et al. 2022). A maioria dos viveiros contemporâneos de mudas de *Eucalyptus*

trabalham com a propagação via miniestaquia, técnica que aumenta o potencial de enraizamento adventício e capaz de revigorar clones com baixo potencial de enraizamento (Wendling e Xavier 2005a; 2005b). O clone de *Eucalyptus urophylla* AEC-0144, originalmente desenvolvido pela Aperam BioEnergia LTDA, mas que agora é de domínio público, é o mais amplamente cultivado no Brasil (Paludzyszyn Filho e Santos 2013; Santarosa et al. 2014). Isso se explica por este clone possuir tolerância ao estresse hídrico e boa resistência a diversas pragas e doenças, apesar de apresentar certa dificuldade para o enraizamento (Paludzyszyn Filho e Santos 2013; Queiroz 2014). Energia e carvão são as principais aptidões deste clone (Paludzyszyn Filho e Santos 2013; Santarosa et al. 2014). Também é expressivo no Brasil o plantio de clones do híbrido *Eucalyptus urograndis* (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis*), os quais tem mais aptidão para produtos serrados (Paludzyszyn Filho e Santos 2013; Santarosa et al. 2014). Um dos clones desse híbrido é o SUZA0217, desenvolvido pela Suzano S.A., relativamente novo no mercado, mas com boa adaptabilidade a diferentes climas e solos (Avam Flora 2023).

Também existe grande diversidade de árvores frutíferas da família Myrtaceae nativas do Brasil, das quais, pode-se destacar a guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O.Berg). Esta espécie possui grande potencial de mercado devido aos seus saborosos frutos, que podem ser consumidos de diversas formas e são ricos em minerais e vitamina C (Lisbôa et al. 2011; Andrade et al. 2012; Lorenzi et al. 2015). O consumo dessa espécie se limita, atualmente, ao extrativismo feito em seu centro de origem pela população local, mesmo com o seu grande potencial (Raseira et al. 2004; Lisbôa et al. 2011). Pesquisas visando sua propagação poderão acarretar alternativas ao sistema extrativista praticado atualmente, possibilitando o surgimento de plantios comerciais e uma cadeia produtiva, gerando renda para produtores rurais e outros envolvidos na cadeia produtiva, diversificando a alimentação dos consumidores e auxiliando na sua preservação (Raseira et al. 2004; Kinupp 2011; Lisbôa et al. 2011; Lorenzi et al. 2015). Porém, existem alguns fatores que limitam a propagação dessa espécie: sementes recalcitrantes (Vieira 2019), produção regular de frutos a partir de 10 anos (Campos Filho e Sartorelli 2015), falta de domesticação (Lisbôa et al. 2011; Machado et al. 2020) e propagação vegetativa ineficiente por estaquia (Scutti e Zanette 2000; Teleginski 2016; Primak et al. 2017) ou alporquia (Teleginski et al. 2018). Um protocolo de micropropagação foi desenvolvido para essa espécie, visando a superação desses fatores limitantes (Machado et al. 2020). Um dos principais gargalos desse protocolo está na etapa de enraizamento, onde os melhores resultados, após 60 dias, foram de 52 e 53%, utilizando Woody Plant Medium (WPM) (Lloyd e McCown 1980) suplementado com 14,7 e 24,5 μM de ácido indolbutírico (AIB), respectivamente, mas sem diferir significativamente das demais concentrações de AIB testadas (4,9; 9,8; e 34,3 μM), o que justifica a recomendação dos autores de utilizar a concentração mais baixa de AIB (4,9 μM) para o enraizamento dos explantes (Machado et al. 2020). No mesmo meio de cultura sem auxina, a taxa de enraizamento foi de 49%, percentagem muito próxima da melhor encontrada nos testes com AIB (Machado et al. 2020).

Em espécies lenhosas as raízes adventícias podem se originar a partir de diversos tecidos com parede primária, como, por exemplo: parênquima do floema, câmbio vascular e calo (Hartmann et al. 2018). Células com paredes primárias são totipotentes, ou seja, conseguem se desdiferenciar, dividir e rediferenciar (Evert 2006). Essa característica permite essas células formarem raízes adventícias e brotações (Evert 2006). Por meio de análises anatômicas, é possível determinar o tecido de onde as raízes adventícias se originam, bem como observar a existência de barreiras anatômicas que possam interferir na emergência delas (Lima et al. 2011; Opeña et al. 2020). A anatomia vegetal já foi utilizada como ferramenta para estudo da rizogênese adventícia em espécies frutíferas

de Myrtaceae nativas do Brasil, como *Acca sellowiana* (Zhang et al. 2009; Ross et al. 2021), *Eugenia uniflora* (Cipriano et al. 2022) e *Campomanesia phaea* (Santoro et al. 2022).

Portanto, os objetivos desse trabalho foram avaliar o efeito de diferentes estirpes de bactérias endofíticas no enraizamento e desenvolvimento de microestacas de guabirobeira e miniestacas de eucalipto, investigando a origem anatômica das raízes formadas no caso da guabirobeira, e realizando a identificação das estirpes mais promissoras via sequenciamento genético.

2. Material e métodos

2.1 Local de estudo

O cultivo de bactérias endofíticas, os experimentos com micropropagação, a preparação das bactérias, as pesagens de massas fresca e seca do experimento com *Eucalyptus* e a extração e amplificação do DNA para o sequenciamento genético, foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos e Transformação da Embrapa Florestas, localizada em Colombo (PR). A inoculação e o cultivo das miniestacas de *Eucalyptus*, bem como as avaliações de presença e comprimento de raízes, foram realizados no viveiro de mudas Avam Flora, localizado no município de Manduri (SP). O processamento de amostras e análises anatômicas das microestacas de *C. xanthocarpa* foram realizados no Laboratório de Anatomia e Biomecânica Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba (PR).

2.2 Origem das bactérias endofíticas

Todas as bactérias utilizadas neste estudo fazem parte da coleção de Microrganismos Multifuncionais Florestais da Embrapa Florestas (Colombo, PR), as quais são identificadas com a sigla CNPF seguida de um código numérico. Foram utilizadas as bactérias: CNPF 1, CNPF 2, CNPF 3, CNPF 4, CNPF 10, CNPF 11, CNPF 12, CNPF 14, CNPF 22, CNPF 23, CNPF 25, CNPF 33 e CNPF 51. Estas bactérias foram utilizadas devido a sua capacidade de produzir compostos indólicos (auxinas), e foram previamente isoladas de folhas e meristemas de uma espécie de jabuticabeira (*Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts) (Queiroz et al. 2020). Quatro destes isolados já foram identificados por sequenciamento genético: CNPF 1 (*Bacillus* sp.), CNPF 2 (*Stenotrophomonas* sp.), CNPF 3 (*Pseudomonas* sp.) e CNPF 4 (*Stenotrophomonas* sp.) (Queiroz et al. 2020). Os trabalhos de isolamento, caracterização quanto à capacidade de produção de compostos indólicos e sequenciamento genético, foram realizados previamente por Queiroz et al. (2020). Além destas bactérias, também foram incluídas a bactéria CNPF 179 (*Stenotrophomonas* sp.), que foi capaz de incrementar o enraizamento na sua planta de origem, *Bactris gasipaes* (Arecaceae) (Silva et al. 2022), e também a estirpe Ab-V5 (CNPF 66) de *Azospirillum brasilense*, isolada de tecidos de *Zea mays* (Poaceae) e utilizada comercialmente para a inoculação nas culturas do milho e trigo no Brasil.

2.3 Experimentos com *Campomanesia xanthocarpa* micropropagada *in vitro*

Frutos de guabirobeira foram colhidos de árvores matriz no município de Irati (PR), em dezembro de 2020. Após a colheita, foram encaminhados para a Embrapa Florestas (Colombo, PR), onde foram despolpados e as sementes desinfestadas por meio de banho com etanol 70% durante 1 minuto, seguido de lavagem durante 10 minutos em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) 5% (v/v) com duas gotas de Tween®20, e enxágue com três lavagens com água destilada esterilizada. Em seguida, as sementes foram introduzidas em tubos de ensaio (2 cm

de diâmetro, 10 cm de comprimento e tampa de polipropileno) contendo 10 mL de meio de cultura WPM (Lloyd e McCown 1980), acrescido de 7 g L⁻¹ de ágar (Reatec®).

Após a germinação e o desenvolvimento de alguns nós, as plântulas tiveram suas raízes cortadas e serviram como explantes iniciais para a micropropagação. Os explantes iniciais foram repicados em meio de cultura WPM suplementado com 2,2 µM de 6-benzilaminopurina (BAP), 30 g L⁻¹ de sacarose e pH ajustado para 5,8 antes de adicionar 7 g L⁻¹ de ágar (Reatec®), como foi proposto por Machado et al. (2020) para a multiplicação por gemas axilares dessa espécie. Mensalmente, realizaram-se repicagens, separando os brotos formados do explante inicial e subcultivando-os em novo meio de cultura, idêntico ao anterior. Dez subcultivos foram realizados até a obtenção de quantidade suficiente de explantes para o início dos experimentos

As bactérias foram cultivadas em meio sólido com dextrose, extrato de levedura e glutamato (DYGS) (Rodrigues Neto et al. 1986) por 48h. Além das bactérias endofíticas isoladas de *P. peruviana* da coleção da Embrapa Florestas, também foi utilizada, como controle, a bactéria *Azospirillum brasilense* (Ab-V5). Após o crescimento, as bactérias foram inoculadas em meio DYGS líquido (10 mL) por 24 h, a 150 rpm e 28° C. Para a inoculação, a densidade ótica das culturas bacterianas crescidas foi ajustada para a faixa entre 0,600 e 0,800 a 600 nm (DO₆₀₀), com o uso de um espectrofotômetro (Eppendorf® BioPhotometer 6131). O meio de cultura DYGS sem bactérias foi utilizado como “branco”.

O conteúdo das suspensões bacterianas foi despejado cada um em uma placa de Petri esterilizada. Explantes de guabirobeira (*C. xanthocarpa*) que estavam em meio de indução de brotos foram utilizados para a confecção de microestacas de 1,5 cm de comprimento, com pelo menos três nós, apicais, mantendo-se apenas o par de folhas mais jovem. Após, a base das microestacas foi mergulhada em solução bacteriana durante três segundos (tratamento pulso). A seguir, as microestacas foram introduzidas em frascos (9 cm de altura, 7 cm de diâmetro no fundo, 5 cm de diâmetro na boca e tampa de polipropileno) contendo 30 mL de meio de cultura WPM sólido sem reguladores do crescimento vegetal. Foram introduzidas cinco microestacas por frasco, e cada tratamento foi constituído de seis frascos, totalizando 30 explantes. Além da bactéria *A. brasilense*, foram feitos mais dois tratamentos testemunha: o controle (meio WPM sem reguladores e com explantes não inoculados) e o meio WPM suplementado com 4,9 µM de ácido indolbutírico (AIB) sem inoculação de bactérias, conforme recomendado por Machado et al. (2020). Os frascos foram mantidos em temperatura de 23 ± 2° C, sob luz fornecida por lâmpadas LED tubulares (Elgin® branca fria), com irradiância de 45 µmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 h. Os procedimentos para esse experimento estão ilustrados na Figura 2.



Figura 2 - Processo de inoculação de bactérias endofíticas em microestacas de *Campomanesia xanthocarpa*.

A Colônias de bactérias endofíticas cultivadas em meio de cultura DYGS sólido B Suspensão bacteriana em tubo de ensaio C Cubetas contendo alíquotas de suspensões bacterianas e meio de cultura DYGS puro D Espectrofotômetro medindo a DO_{600} de uma alíquota de suspensão bacteriana E Explantes de *Campomanesia xanthocarpa* retirados de meio de cultura para indução de brotações F Microestaca em contato com suspensão bacteriana G Cultivo de microestacas em sala de crescimento.

Foram instalados três ensaios com bactérias endofíticas inoculadas em microestacas de guabirobeira propagadas *in vitro*, e os procedimentos para a instalação foram os descritos acima, idênticos para todos. Estirpes diferentes de bactérias foram testadas em cada um deles. No primeiro (E1) utilizou-se as estirpes CNPF 25, CNPF 51, CNPF 14, CNPF 1, CNPF 12, CNPF 2, CNPF 11 e as testemunhas (controle, AIB e *Azospirillum brasilense* Ab-V5). No segundo (E2) foram CNPF 3, CNPF 22, CNPF 10, CNPF 23 e as mesmas testemunhas. Por fim, no terceiro ensaio (E3), as estirpes foram: CNPF 33, CNPF 4 e as três testemunhas. Os experimentos foram todos avaliados 42 dias após a instalação. Avaliou-se a taxa de enraizamento (porcentagem de microestacas apresentando raízes), o número de raízes formadas, comprimento da raiz mais longa, número de folhas e comprimento da parte aérea.

2.4 Experimento com *Eucalyptus* propagado por miniestaquia

A primeira etapa do experimento com miniestacas de *Eucalyptus* ocorreu na Embrapa Florestas, no município de Colombo (PR). Foram utilizadas as estirpes de bactéria *Azospirillum brasilense* (Ab-V5), CNPF 23 e CNPF 179, que estavam armazenadas em geladeira (4° C). As bactérias foram inoculadas em 30 mL de meio de cultura DYGS líquido, e incubadas por 16 h, a 150 rpm e 28° C. Em seguida, a densidade ótica das culturas bacterianas crescidas foi ajustada para a faixa entre 0,600 e 0,800 a 600 nm (DO₆₀₀), com o uso de um espectrofotômetro (Eppendorf® BioPhotometer 6131). O conteúdo dos frascos foi então vertido em tubos Falcon esterilizados e procedeu-se com o envio, em caixa de isopor sob refrigeração, para a instalação do experimento.

A instalação ocorreu no viveiro de mudas Avam Flora, localizado no município de Manduri (SP). Foram testados dois clones: AEC-0144 (*Eucalyptus urophylla*) e SUZA0217 (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* / *Eucalyptus urograndis*). A instalação ocorreu em 18 de outubro de 2022. As miniestacas foram confeccionadas a partir de mini-jardim clonal utilizando porções apicais com 12 ± 2 cm de comprimento, mantendo de dois a quatro pares de folhas mais jovens cortadas pela metade. As miniestacas foram então inoculadas, mergulhando a porção basal na suspensão bacteriana durante 10 segundos. Foram instalados quatro tratamentos para cada clone: controle (sem inoculação), *Azospirillum brasilense* (bactéria comercial), CNPF 23 (bactéria endofítica) e CNPF 179 (bactéria endofítica). Em seguida, foram plantadas, enterrando 1 cm da base em substrato composto de fibra de coco (70%), turfa (15%) e casca de arroz carbonizada (15%), contido em tubetes plásticos com 12,5 cm de altura e 3,2 cm de diâmetro.

As mudas ficaram durante 35 dias em ambiente controlado em casa de vegetação, com umidade mínima de 70%, temperatura máxima de 35° C e sob irrigação por aspersão semiautomatizada, que funcionava a cada meia hora durante quatro minutos. Após, foi realizada a avaliação das microestacas. Para isso, as mudas foram retiradas do substrato e suas raízes foram lavadas em água corrente. Avaliou-se a presença ou ausência de rizogênese e formação de calos e o comprimento da raiz principal (cm), utilizando, para este parâmetro, uma régua milimetrada. Com um alicate de poda, as raízes foram separadas da parte aérea da planta e, então, armazenadas em sacos de papel kraft, identificados e numerados. Foram então avaliadas as massas fresca e seca das raízes, medidas com o uso de balança analítica. A massa seca foi medida após secagem em estufa (Fabbe®) com circulação de ar à 70° C até atingir massa constante.

2.5 Sequenciamento parcial do gene 16S rRNA das estirpes CNPF 23 e CNPF 33

Após os testes com bactérias endofíticas, selecionou-se os isolados da coleção de jabuticabeira da Embrapa que apresentaram os melhores parâmetros para o enraizamento das microestacas, as quais foram as identificadas pelos códigos CNPF 23 e CNPF 33. Colônias das bactérias selecionadas foram cultivadas em placas de Petri plásticas (60 mm de diâmetro) contendo meio de cultura DYGS sólido. A extração ocorreu através do kit de extração (Invitrogen® PureLink Genomic DNA Mini Kit), conforme instruções do fabricante. Para a amplificação do gene 16S do rRNA foram utilizados os primers 27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) e 1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) e para o sequenciamento parcial foi utilizado o primer 27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG). Uma alíquota de 2,5 µL do DNA extraído foi utilizada na reação de PCR para um volume final de 50 µL por reação. Os reagentes utilizados em cada reação foram: primer 27F (0,2 µM); primer 1492R (0,2 µM); cloreto de magnésio (2,5 µM); tampão de PCR (1x); dNTP (0,2 µM); e Taq DNA polimerase (0,02 Da). As etapas e condições da amplificação foram: desnaturação inicial (94° C por 5 min), desnaturação (30

ciclos de 40 s a 94° C), anelamento (55° C por 40 s), extensão (72° C por 1,5 min) e extensão final (72° C por 7 min).

O sequenciamento foi feito na empresa GoGenetic, sediada na Pontifícia Universidade Católica do Paraná (Curitiba, PR). As amostras passaram pelas seguintes etapas: purificação de produto de PCR com Exo/Sap; marcação de DNA purificado com BigDye, purificação e análise em Genetic Analyser 3500xL (Thermo Fisher Scientific®), pop7, capilar 50 cm - reação de Sequenciamento Sanger e entrega de arquivos de sequência. Os reagentes de sequenciamento utilizados são da Thermo Fisher Scientific®. As sequências obtidas foram editadas, retirando extremidades com baixa qualidade, no software MEGA 11.0.13 (Tamura et al. 2021) e comparadas com as do banco de dados Genbank do National Center for Biotechnology Information (NCBI) pelo programa BLASTN (Zhang et al., 2000), a fim de determinar a semelhança entre sequências.

2.6 Processamento de amostras e análises anatômicas em microestacas de *Campomanesia xanthocarpa*

Foram coletados fragmentos de microestacas inoculadas com a bactéria endofítica de código CNPF 23 ou cultivadas em meio de cultura com AIB (4,9 µM), com a finalidade de comparar a rizogênese entre os tratamentos e determinar o tecido em que se originam as raízes. A bactéria CNPF 23 foi eleita por apresentar os melhores parâmetros para o enraizamento das microestacas de guabirobeira em experimento anterior. Realizaram-se quatro coletas em tempos diferentes desde a instalação do ensaio: 5, 10, 15 e 20 dias após. Coletaram-se oito microestacas para cada tratamento em cada um dos quatro tempos. Após retirá-las dos frascos onde estavam sendo cultivadas, as porções basais das microestacas foram cortadas em tamanho de aproximadamente 3 mm de comprimento, e somente estas porções passaram pelo processamento e análise anatômica, visto que são a porção da microestaca de onde emergem as raízes adventícias (conforme observação de ensaios preliminares).

As amostras foram fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e álcool etílico 50% (FAA50) e submetidas a vácuo por 24 horas, conforme Johansen (1940), imediatamente após a coleta da parte de interesse das microestacas. Após desidratação em série etanólica crescente, as amostras foram estocadas em etanol 70%. Para o processamento, as amostras estocadas foram desidratadas até etanol 95% e incluídas em metacrilato (Gerrits e Smid 1983) conforme instruções do fabricante (Leica® Historesin embedding kit).

As amostras foram seccionadas transversalmente em micrótomo rotativo (Olympus® CUT 4055) com espessura de 10 µm. Os cortes obtidos foram corados com azul de toluidina pH 4,0 (O'Brien et al. 1964) e lâminas permanentes foram montadas em verniz vitral (Acrilex®) seguindo protocolo de Paiva et al. (2006). As fotografias foram obtidas com uso do software Mosaic2.2.1 integrado com fotomicroscópio (Bioptika® B605). As análises foram realizadas no Laboratório de Anatomia e Biomecânica Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba (PR).

2.7 Ilustração de arte botânica de *Campomanesia xanthocarpa*

Devido à escassez de arte botânica representando *C. xanthocarpa*, o presente estudo também se propôs a produzir uma nova arte original dessa espécie nativa. A obra, denominada *Campomanesia xanthocarpa*, foi realizada por Cristina Maria Klas, ilustradora e membro do Centro de Ilustração Botânica do Paraná. O trabalho foi pintado na técnica de aquarela sobre papel Fabriano® 50% prensado à quente. Feita a coleta de vários galhos, flores e frutos da espécie, a primeira etapa foi a obtenção das cores de todos os elementos da planta. A seguir, foi feito um esboço à grafite em papel sulfureado (Canson®) da melhor composição do hábito com os frutos e flores.

Finalizada essa etapa, o desenho é transferido para o papel definitivo (Fabriano® 50% prensado à quente) e pintado em aquarela. A obra é em tamanho A3, no tamanho real da planta. O trabalho foi realizado sempre à luz do dia, para respeitar a fidelidade das cores e detalhes.

2.8 Delineamento experimental e análises estatísticas

Visto que as parcelas experimentais são homogêneas e os locais dos experimentos (sala de crescimento ou casa de vegetação e enraizamento) têm condições controladas, o delineamento experimental adotado para todos foi inteiramente casualizado. O teste de comparação de médias de Tukey foi utilizado para classificar os tratamentos que apresentam médias distintas estatisticamente, com valor de significância de 0.05. As análises estatísticas e gráficos foram feitos com o auxílio do software R, baseadas em Zuur et al. (2009), utilizando os seguintes pacotes: hnp (Moral et al. 2017), MASS (Venables e Ripley 2002), gamlss (Rigby e Stasinopoulos 2005), ggplot2 (Wickham 2016), emmeans (Lenth 2022), além das funções nativas da linguagem R® (R Core Team 2022).

No caso dos experimentos realizados com guabirobeira, analisou-se a variável “taxa de enraizamento” via modelo linear generalizado (MLG), utilizando a família binomial de distribuições com função de ligação logito no caso dos E1 e E2, e abordagem de quase-verossimilhança com função de ligação logito no caso do E3. Essa análise foi realizada pois tal variável é do tipo binária (ocorrência ou não ocorrência). A abordagem de quase-verossimilhança permite ajustar modelos que apresentam super ou subdispersão. Para os MLG's, a versão análoga da análise de variância (ANOVA) é a análise de deviance, que, ao invés do teste F, utiliza o teste qui-quadrado χ^2 , e os testes de comparação de médias podem ser feitos a partir da razão entre as médias (razão de chances) ou diferenças entre os logaritmos das razões entre elas, ao invés da diferença entre as médias (Agresti 2015; Faraway 2016). O “número de raízes” é uma variável do tipo contagem, portanto foi ajustada utilizando a distribuição de Poisson e função de ligação logarítmica no caso do E1. Nos E2 e E3, devido à falta de ajuste utilizando a distribuição de Poisson, a análise dessa variável foi feita via MLG, utilizando a abordagem de quase verossimilhança, adotando, para o E2, a função de ligação inversa, e a função de variância $V(x) = \mu$, e adotando, para o E3, a função de ligação logarítmica, e a função de variância $V(x) = \phi\mu$. A variável “comprimento da raiz mais longa” foi analisada via ANOVA. Para esta variável, todos os pressupostos foram atendidos nos E2 e E3, mas, no E1, necessitou-se de transformação box-cox para atendimento do pressuposto da normalidade de resíduos da análise de variância. A normalidade dos resíduos foi verificada utilizando o teste de normalidade de Shapiro-Wilk em todos os ensaios. “Número de folhas” é uma variável de contagem. Para o E1, esta variável foi analisada por MLG, utilizando a distribuição binomial negativa e função de ligação logarítmica para análise de deviance, com comparação múltipla realizada na escala logarítmica ao invés da escala real dos dados. Para o E2, foi modelada utilizando MLG com distribuição binomial negativa e função de ligação logarítmica. Foi escolhida a distribuição binomial negativa dada a superdispersão encontrada ao ajustar o modelo, condição recorrente em dados de contagem. E para o E3, foi modelada utilizando MLG com distribuição de Poisson e função de ligação logarítmica. Por fim, a variável “comprimento da parte aérea” foi analisada utilizando MLG. Para o E1, com a distribuição inversa gaussiana, função de ligação $1/\mu^2$, e comparação de médias por análise de deviance, utilizando as médias na escala do preditor linear $1/\mu^2$. Para o E2, com a família tweedie de distribuições, função de ligação $1/\mu^4$, e comparação de médias por análise de deviance, utilizando as médias na escala do preditor $1/\mu^4$. E para o E3, com a distribuição gama, função de ligação inversa, e comparação de médias por análise de deviance, utilizando as médias na escala inversa.

Para o experimento com os clones de *Eucalyptus*, as variáveis “taxa de enraizamento” e “ocorrência de calos” são do tipo binária, e, portanto, foram analisadas via MLG utilizando a família binomial de distribuições com função de ligação logito. Já as variáveis “comprimento de raiz”, “massa fresca” e “massa seca”, por sua vez, foram analisadas utilizando análise de variância. Porém, para a “massa fresca”, não houve distribuição normal dos resíduos, de forma que foi necessário refazer a análise aplicando uma raiz quadrada a fim de encontrar normalidade. Todos os testes foram feitos na escala de raiz quadrada, e as médias foram retransformadas para a escala original após a análise. Este experimento teve esquema experimental bifatorial 2 (clones: AEC-0144 e SUZA0217) x 4 (tratamentos: controle, *Azospirillum brasilense*, CNPF 23 e CNPF 179).

3. Resultados e discussão

3.1 Efeito de diferentes estirpes de bactérias endofíticas no enraizamento e desenvolvimento de microestacas de *Campomanesia xanthocarpa*

3.1.1 Taxa de enraizamento

No E1, a análise de deviance confirmou efeito de tratamento para a taxa de enraizamento. A maior média foi encontrada no tratamento com a bactéria *Azospirillum brasilense* (36,7%), porém o teste de comparações múltiplas de Tukey ($\alpha = 0.05$) revelou que este não difere estatisticamente dos tratamentos com CNPF 1, CNPF 14 e controle, os três com média de 20,0% (Fig. 3). Queiroz et al. (2020), que realizaram o isolamento e estudos com as mesmas bactérias, constataram que o isolado CNPF 1, identificado como *Bacillus sp.*, foi o maior produtor de compostos indólicos na ausência de triptofano, com nível quase três vezes maior que o da *A. brasilense*. No presente experimento, porém, isso parece não haver refletido na taxa de enraizamento para a guabirobeira, uma vez que a taxa de enraizamento do tratamento com *A. brasilense* foi superior à do tratamento com CNPF 1, embora as médias não tenham diferido estatisticamente. As microestacas dos tratamentos CNPF 51 e CNPF 11 não apresentaram enraizamento, portanto, não foram utilizadas para a análise estatística.

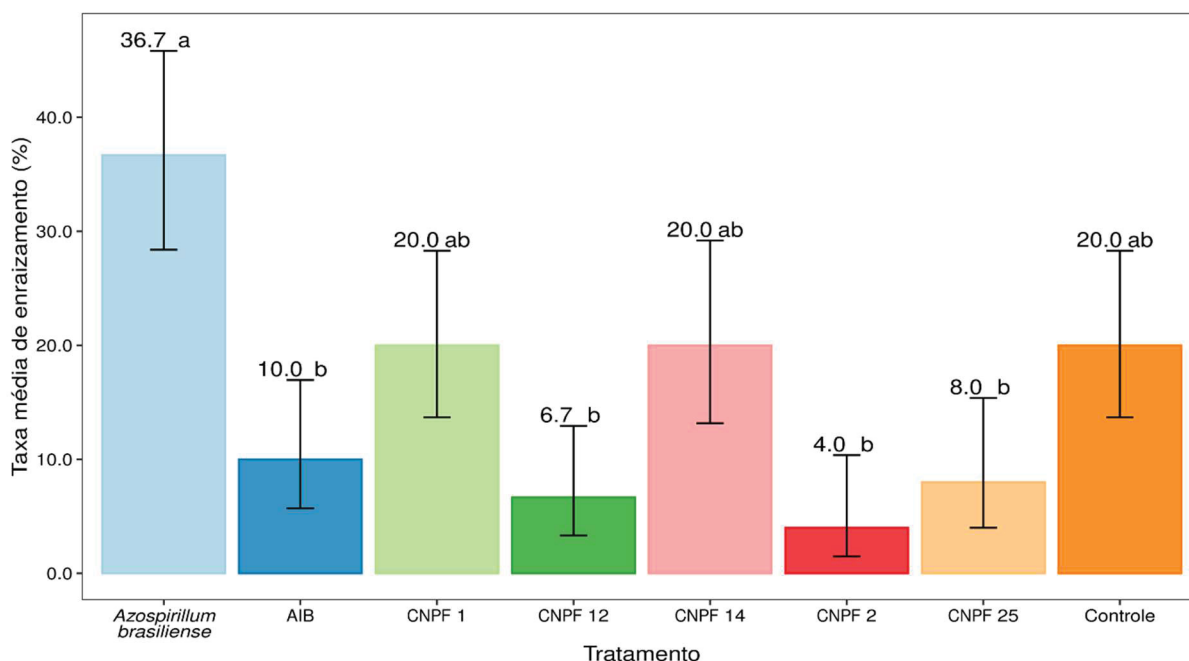


Figura 3 - Taxa média de enraizamento de microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função da inoculação com várias bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 1.

(Controle: meio de cultura WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μ M de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 1, CNPF 12, CNPF 14, CNPF 2, CNPF 25: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

A taxa de enraizamento também foi influenciada pelos tratamentos no E2. As microestacas inoculadas com a bactéria endofítica CNPF 23 apresentaram a maior média neste ensaio (56,7%), assim como foi a maior dentre os três ensaios (Fig. 4). Apesar disso, o teste de comparações múltiplas ($\alpha = 0.05$) mostrou que este tratamento não diferiu estatisticamente dos tratamentos com AIB e com a bactéria CNPF 22, com médias de 28,0% e 20,0%, respectivamente. Taxas de enraizamento semelhantes já foram encontradas na micropropagação de outras Myrtaceae: uma taxa de 60% foi observada em *Eugenia pyriformis* em meio de cultura WPM com 4,9 μ M de AIB (Nascimento et al. 2008). Em *Acca sellowiana*, após período de indução de 6 dias no meio WPM líquido acrescido de 20 μ M de AIB, houve as maiores taxa de enraizamento (68,9%) (Oltamari et al. 2000).

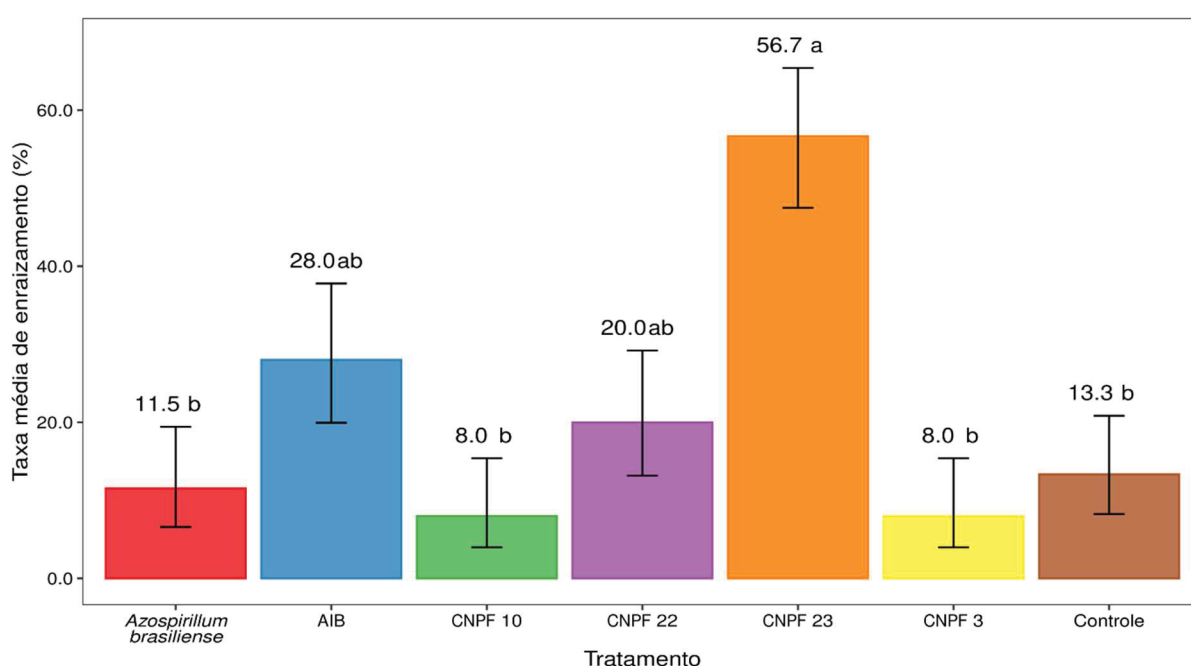


Figura 4 - Taxa média de enraizamento de microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 2.

(Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μ M de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 10, CNPF 22, CNPF 23, CNPF 3: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

Diferentemente do E1, as microestacas inoculadas com *A. brasilense* tiveram taxa de enraizamento de 11,5% no E2 (Fig. 4). Além disso, neste ensaio, no tratamento com AIB, a taxa de enraizamento foi 18% maior em relação a taxa obtida no E1, e foi a maior encontrada para esse tratamento nos três ensaios. Ainda assim, está distante do enraizamento próximo de 40% encontrado por Machado et al. (2020) após 60 dias, utilizando a mesma concentração dessa auxina no meio de cultura em testes com a mesma espécie, ou dos 53% encontrados utilizando 24,5 μ M.

No E3, os tratamentos não afetaram a taxa de enraizamento para um nível de significância $\alpha = 0.05$. A maior média nesse ensaio foi de 43,3%, encontrada no tratamento com a bactéria CNPF 33, mas sem diferença estatística dos demais tratamentos. O tratamento com AIB neste terceiro ensaio apresentou 23,3% de taxa de enraizamento, mais próxima da encontrada no E2 do que a do E1. O fato dos isolados CNPF 23 e CNPF 33 terem apresentado as maiores taxas de enraizamento no E2 e E3, respectivamente, ao menos numericamente, é

interessante, uma vez que o sequenciamento genético indicou que estes isolados são do mesmo gênero, como será visto a seguir. Já foi previamente constatado que o isolado CNPF 23 pode pouco mais que dobrar sua produção de compostos indólicos quando na presença de triptofano (Queiroz et al. 2020)

Em guabirobeira, Scutti e Zanette (2000) observaram 20% de enraizamento em meio de cultura $\frac{1}{2}$ MS (Murashige e Skoog, 1962) sem adição de auxina, e Machado et al. (2020) observaram mais de 40% de enraizamento em WPM com 4,9 μ M de AIB e 52 e 53% com 14,7 e 24,5 μ M de AIB, respectivamente. A taxa de enraizamento encontrada aqui com a bactéria endofítica CNPF 23 é similar aos trabalhos de micropropagação dessa espécie, mas apenas com o uso de certos isolados de bactérias endofíticas, uma vez que, nos ensaios aqui realizados, o meio de cultura WPM com 4,9 μ M de AIB resultou nas taxas de enraizamento de 10% (E1), 28% (E2) e 23,3% (E3), ou seja, nenhum deles com taxa similar a encontrada por Machado et al. (2020) utilizando o mesmo meio de cultura e concentração de AIB.

3.1.2 Número de raízes

Nos E1 e E3, os tratamentos não influenciaram o número de raízes para um nível de significância $\alpha = 0.05$. No E2, por outro lado, houve efeito significativo dos tratamentos, sendo o tratamento com AIB o de maior média (2,3 raízes por explante) (Fig.5), não diferindo, entretanto, de nenhum dos outros tratamentos, com exceção do com *A. brasilense*. Mesmo com média numericamente igual à do *A. brasilense*, os tratamentos CNPF 10 e CNPF 3 são agrupados por combinação diferente de letras após o teste de separação de médias, o que ocorre em decorrência desses tratamentos possuírem apenas duas observações, o que dá menor poder de separação estatística das médias. Oltramari et al. (2000) observaram número médio de 1,3 raízes por explante de *Acca sellowiana*, após indução com 20 μ M de AIB em WPM líquido, valor inferior ao encontrado para a maioria dos tratamentos do E2. Em *C. xanthocarpa*, Machado et al. (2020) observaram números médios de raízes próximos ao encontrado para o AIB no presente experimento: 2,6 raízes por explante em WPM com 4,9 μ M de AIB, ou seja, o mesmo meio de cultura e concentração de AIB dos ensaios aqui realizados, e 2,7 raízes por explante em WPM com 5,4 μ M de ácido 1-naftalenoacético (ANA).

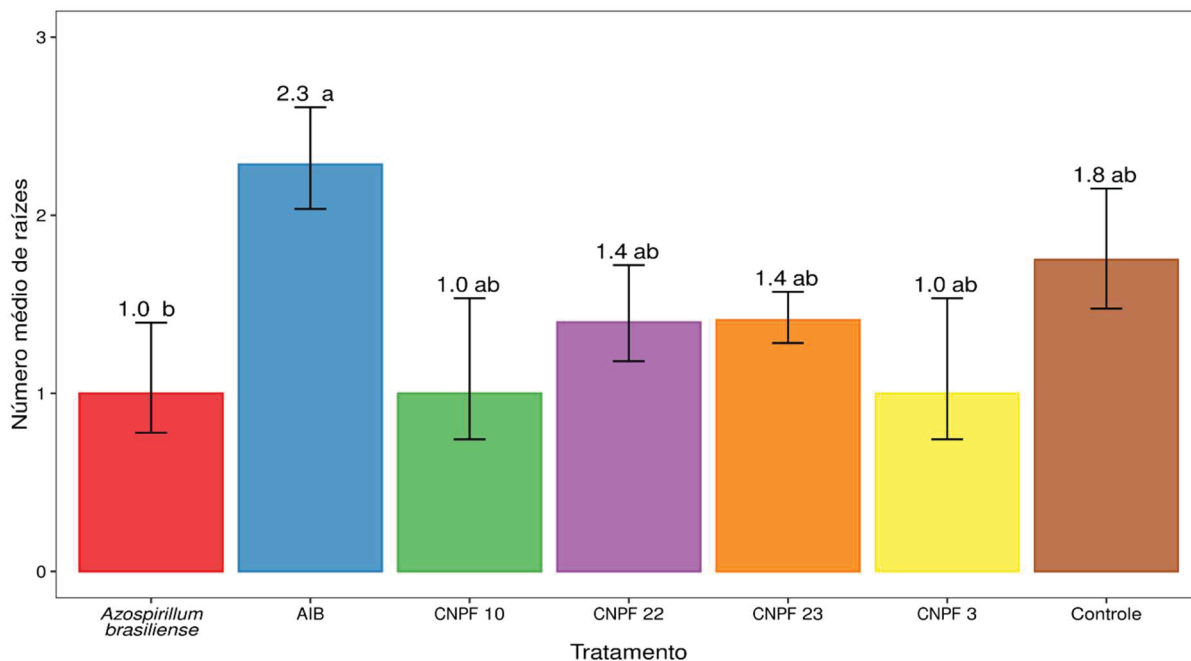


Figura 5 - Número médio de raízes de microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 2.

(Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μ M de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 10, CNPF 22, CNPF 23, CNPF 3: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

3.1.3 Comprimento da raiz mais longa

No tocante à variável “comprimento da raiz mais longa”, não houve influência dos tratamentos no E2 para um nível de significância $\alpha = 0.05$. Mas houve efeito do tratamento para esta variável nos outros dois ensaios. No E1, os tratamentos que se destacaram foram CNPF 1 e “controle”, com 1,8 cm e 1,9 cm, respectivamente (Fig. 6). Esses tratamentos, no entanto, não diferem dos tratamentos com *A. brasilense* e AIB. Vale lembrar que o CNPF 1 (*Bacillus* sp.) foi identificado como o maior produtor de compostos indólicos na ausência de triptofano dentre os isolados aqui testados, como foi comprovado por Queiroz et al. (2020). Os tratamentos CNPF 51 e CNPF 11 não possuíam observação, ou seja, não apresentaram enraizamento em nenhuma microestaca, portanto, não foram utilizados para fins de análise estatística. Além destes, o tratamento CNPF 2 também foi removido da análise por possuir somente uma observação, o que inviabiliza a construção de intervalos de confiança para a média.

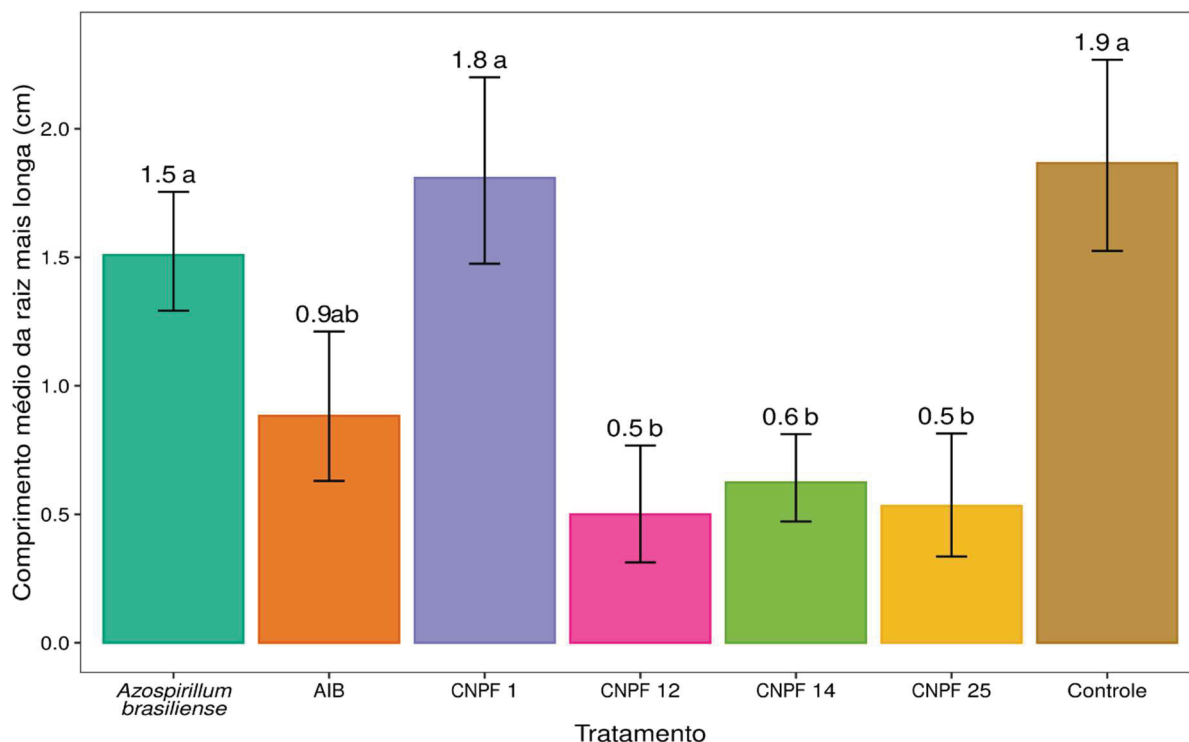


Figura 6 - Comprimento médio da raiz mais longa formada em microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 1. (Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μ M de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 1, CNPF 12, CNPF 14, CNPF 25: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

No E3, por sua vez, o tratamento que apresentou o maior valor de média foi o com *A. brasilense* (1,6 cm), mas os testes de comparação múltipla indicaram que este tratamento não diferiu dos demais, com exceção do AIB (0,6 cm) (Fig. 7). Comprimentos médios de raiz superiores aos encontrados nos ensaios em questão, de 5,6 cm, foram observados em microestacas de *Acca sellowiana* (Oltamari et al. 2000). Mas valores mais próximos foram encontrados em *Eugenia pyriformis* micropropagada, onde WPM suplementado com 9,8 μ M de AIB resultou no comprimento de raiz de 1,23 cm após 40 dias, o maior observado, mas sem diferença significativa para os demais tratamentos com outras concentrações de AIB (Nascimento et al. 2008).

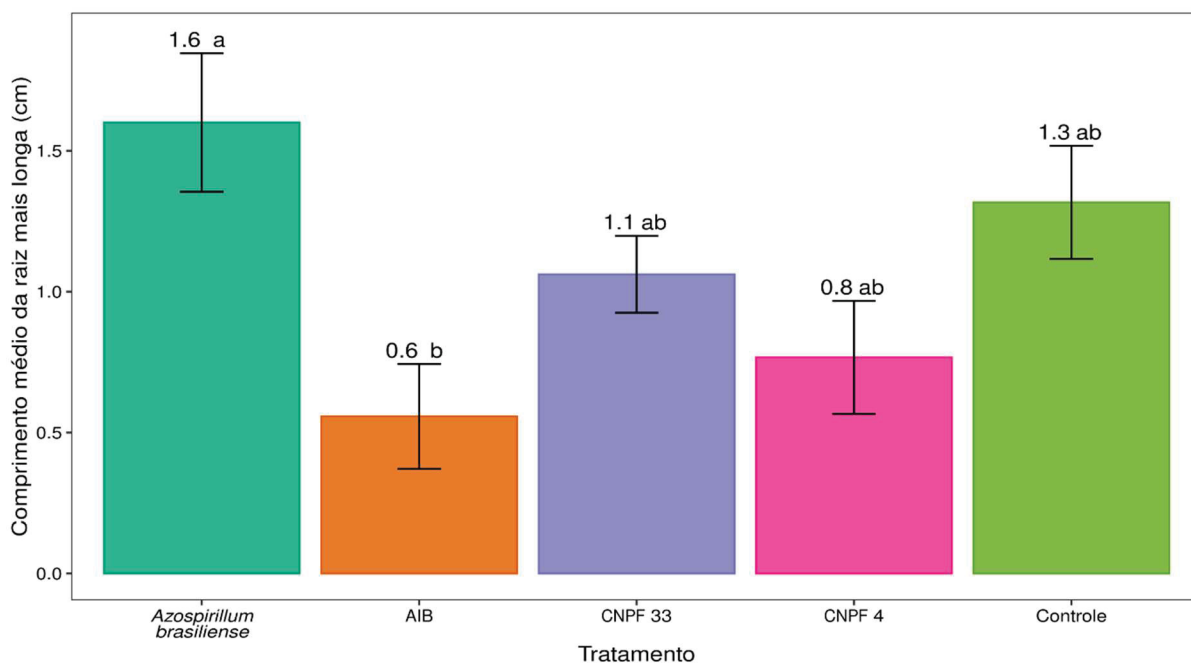


Figura 7 - Comprimento médio da raiz mais longa formada em microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 3.

(Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μ M de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 33, CNPF 4: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

3.1.4 Número de folhas

A respeito dos parâmetros de parte aérea avaliados, a variável “número de folhas” foi influenciada pelos tratamentos nos E1 e E2. No E3 não houve interferência dos tratamentos para esta variável em nível de significância $\alpha = 0.05$. No E1, formaram-se vários grupos diferentes entre si estatisticamente. Os melhores tratamentos para essa variável foram CNPF 1, *A. brasilense*, CNPF 14, AIB, controle e CNPF 12, e estes não diferem entre si. Os piores tratamentos nesse ensaio foram CNPF 11 e CNPF 51, visto que estas estirpes causaram desfolha nas microestacas, além de outros efeitos negativos, como o crescimento excessivo da bactéria no meio de cultura e a ausência de enraizamento, já comentada anteriormente (Fig. 8).

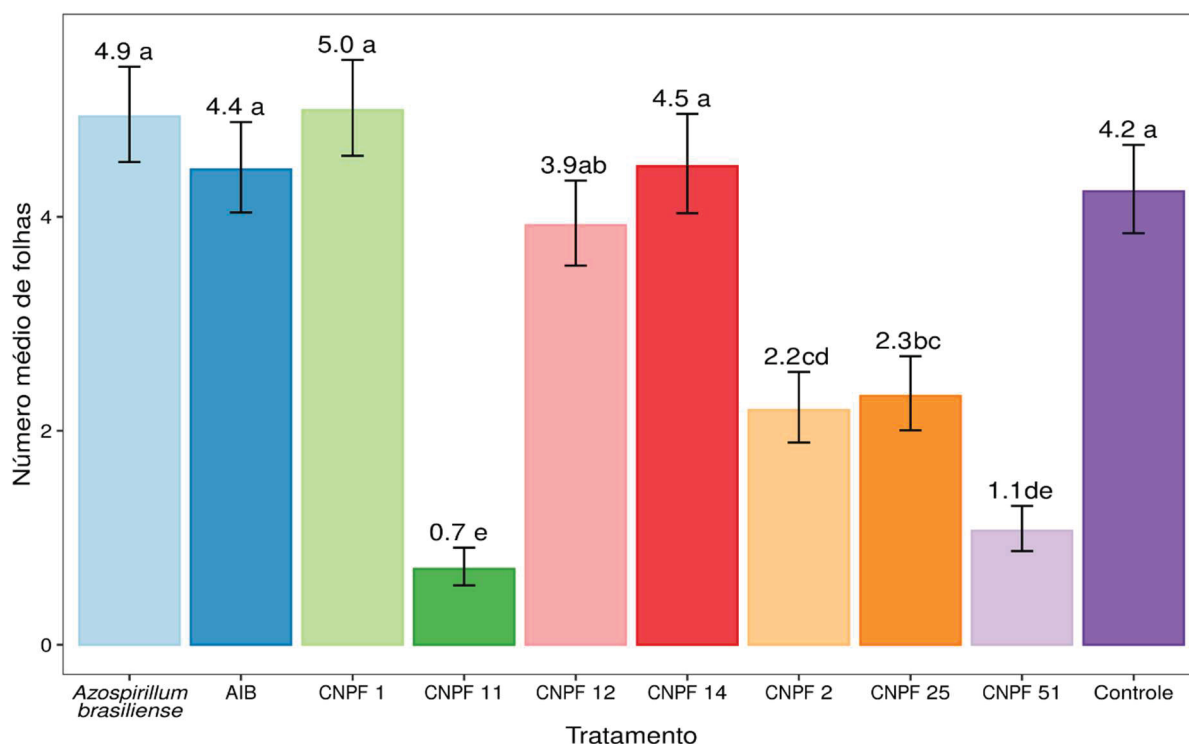


Figura 8 - Número médio de folhas em microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 1. (Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μ M de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 1, CNPF 11, CNPF 12, CNPF 14, CNPF 2, CNPF 25, CNPF 51: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

Já no E2, os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, com exceção do tratamento com CNPF 10, o qual apresentou também o menor valor para esta variável no ensaio, visto que esta estirpe causou desfolha nas microestacas. O maior valor de média encontrado neste ensaio foi observado no tratamento AIB (Fig. 9).

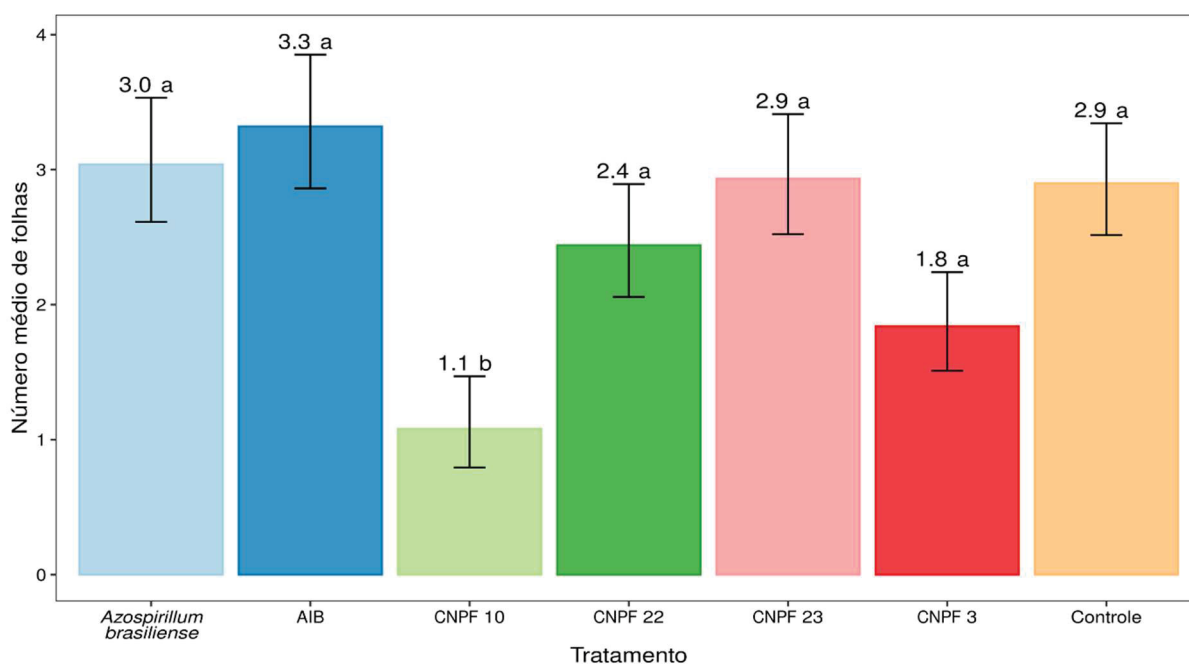


Figura 9 - Número médio de folhas em microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 2.

(Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μM de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 10, CNPF 22, CNPF 23, CNPF 3: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

3.1.5 Comprimento da parte aérea

Outro parâmetro de parte aérea avaliado foi o comprimento, que foi influenciado pelos tratamentos nos três ensaios realizados. Começando pelo E1, as maiores médias foram observadas com *A. brasilense*, “controle”, CNPF 1, CNPF 12, CNPF 14 e CNPF 25, sem diferença estatística entre elas. O maior valor de média (2,3 cm) foi observado com *A. brasilense* e “controle”, sendo também o maior observado para esta variável dentre os três ensaios realizados. Os menores comprimentos foram observados nos tratamentos com CNPF 11 e CNPF 51, já mencionadas como sendo bactérias que causaram efeitos prejudiciais às microestacas (Fig. 10).

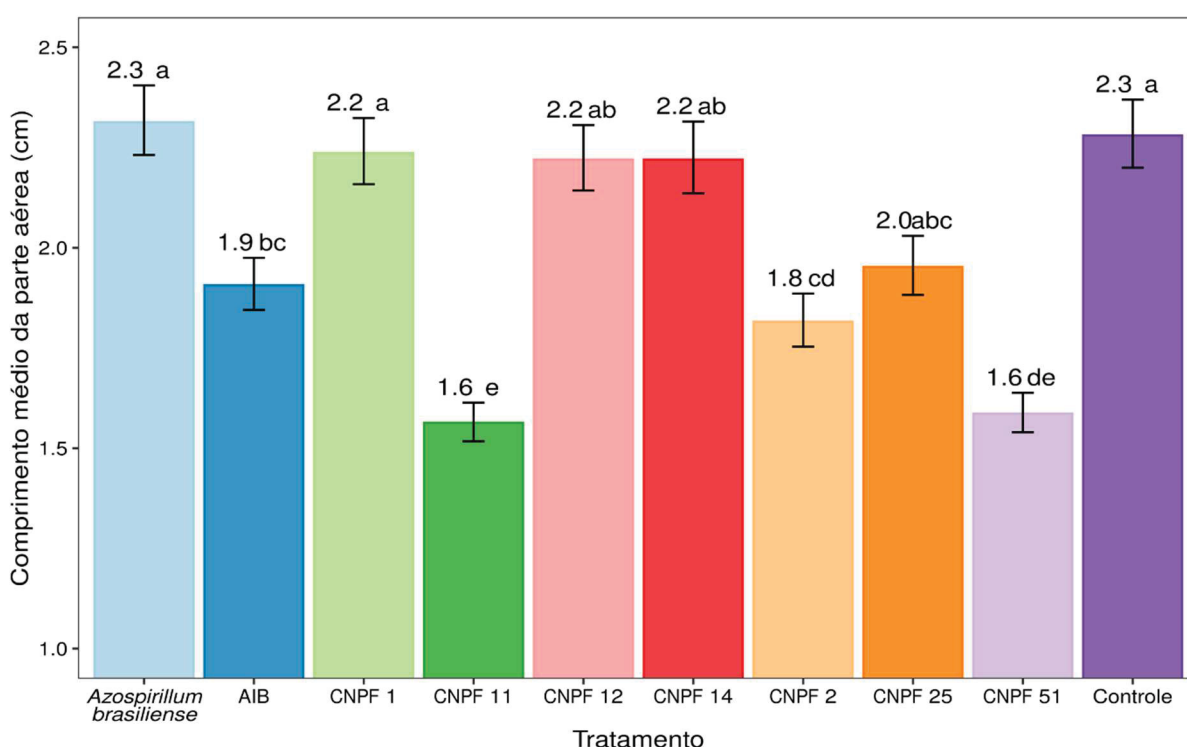


Figura 10 - Comprimento médio da parte aérea de microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 1.

(Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μM de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 1, CNPF 11, CNPF 12, CNPF 14, CNPF 2, CNPF 25, CNPF 51: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

No E2, o tratamento “controle” apresentou a maior média para o comprimento da parte aérea (2,0 cm), mas sem diferir dos tratamentos com AIB, *A. brasilense* e CNPF 10 (Fig. 11).

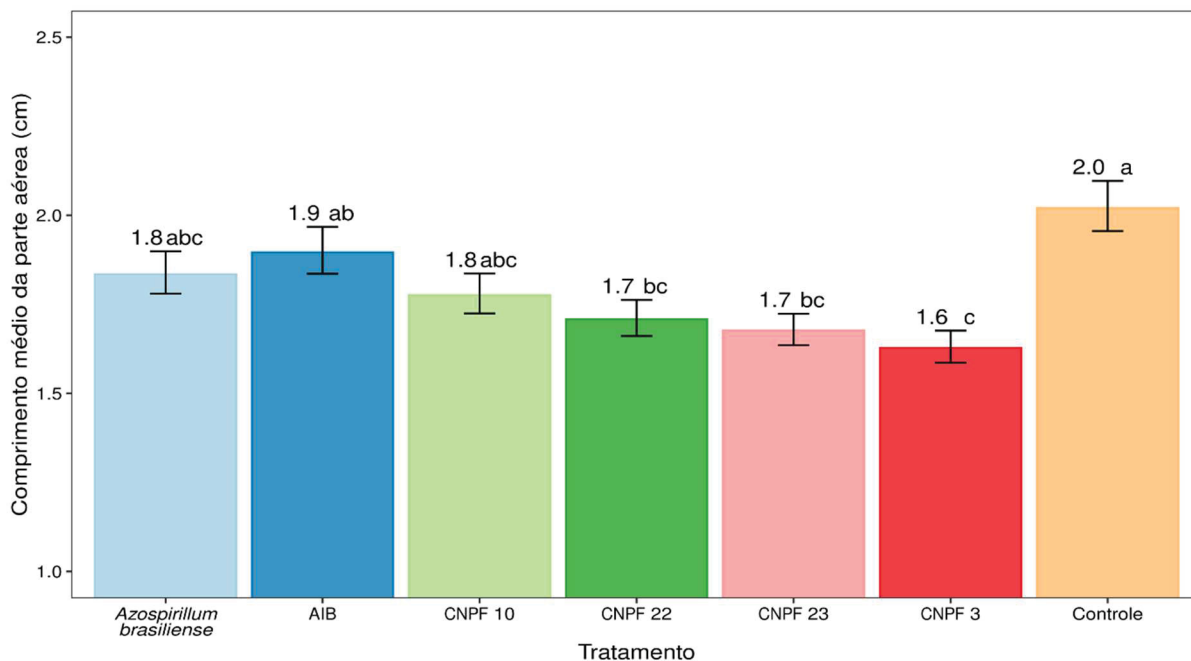


Figura 11 - Comprimento médio da parte aérea de microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 2. (Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μ M de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 10, CNPF 22, CNPF 23, CNPF 3: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

No E3, por fim, assim como no E2, o tratamento “controle” apresentou a maior média para o comprimento da parte aérea (2,0 cm), com valor igual ao encontrado no ensaio anterior. Porém, no caso desse, ele diferiu estatisticamente dos demais tratamentos (Fig. 12).

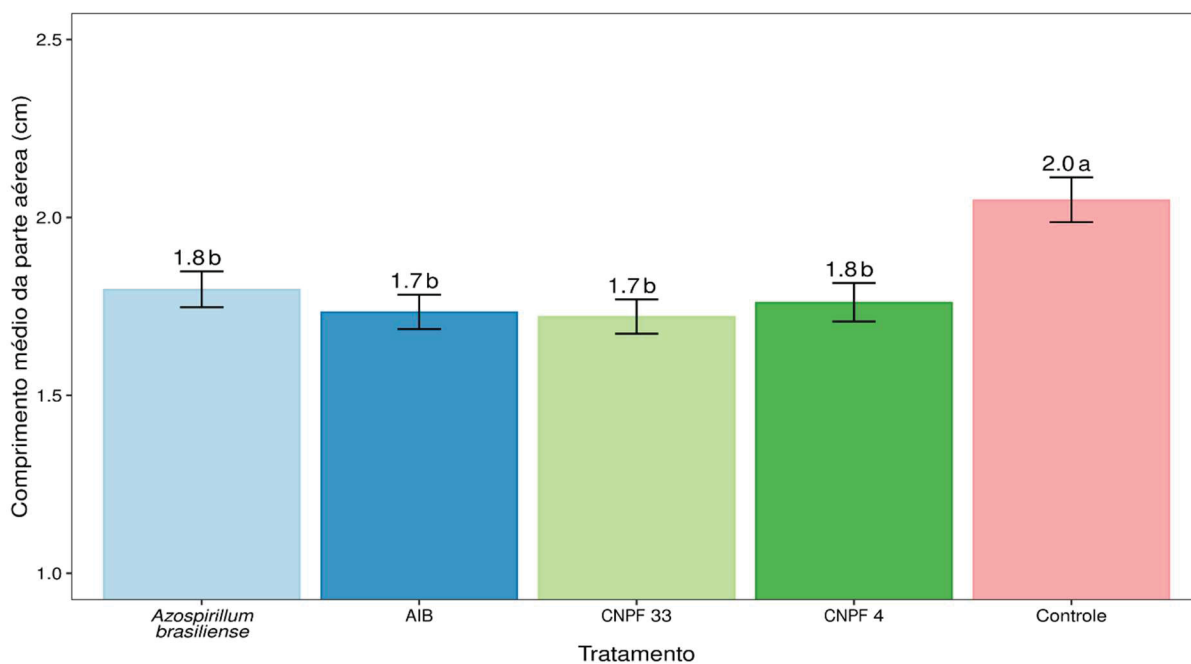


Figura 12 - Comprimento médio da parte aérea de microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* em função de inoculação com diferentes bactérias endofíticas após cultivo durante 42 dias em meio de cultura WPM no ensaio 3. (Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 μ M de AIB; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 33, CNPF 4: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

3.2 Efeito de bactérias endofíticas no enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus urophylla* e *E. urograndis*

No experimento envolvendo os clones de *Eucalyptus*, a taxa de enraizamento foi influenciada pelo clone e pelo tratamento, individualmente, mas não houve interação entre os fatores. A Figura 13 mostra que o clone SUZA0217 apresenta taxa de enraizamento superior com significância estatística em relação à encontrada para o clone AEC-0144. A taxa de enraizamento encontrada para o clone AEC-0144 no presente experimento está próxima da relatada por Azevedo et al. (2022) para este mesmo clone, a qual foi de até 88,4% após 21 dias em casa de vegetação, com uma porcentagem média relatada no viveiro girando entre 80 e 90%. Com relação aos tratamentos, a bactéria endofítica CNPF 23 induziu uma média de enraizamento de 99%, a qual diferiu estatisticamente do tratamento com *A. brasilense*, mas sem diferença em relação aos tratamentos “controle” e com a bactéria CNPF 179 (Fig. 13).

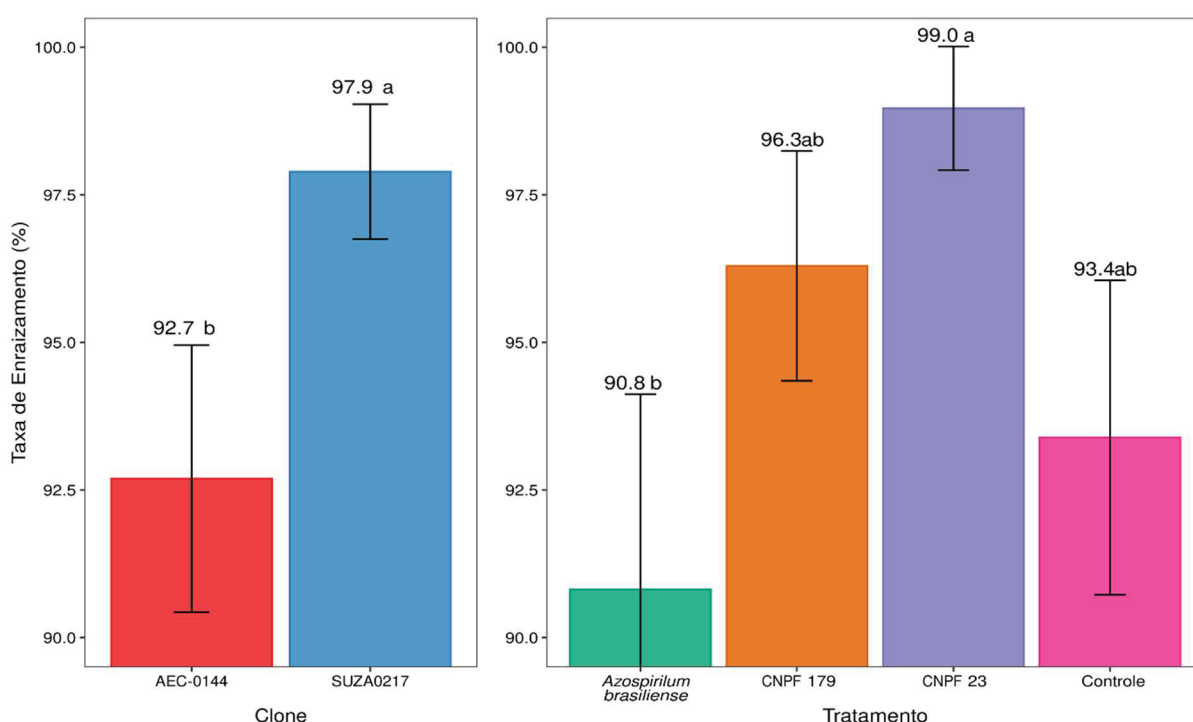


Figura 13 - Taxa média de enraizamento de miniestacas dos clones de *Eucalyptus* AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.

(Controle: explante sem inoculação por bactéria; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 23, CNPF 179: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

Para o comprimento de raiz, assim como para a taxa de enraizamento, não houve interação entre os fatores, mas houve influência do clone e do tratamento. Mais uma vez, o clone SUZA0217 foi superior, diferindo do clone AEC-0144. O tratamento com *A. brasilense* foi o que apresentou maior valor de comprimento médio, mas não diferiu estatisticamente da bactéria CNPF 23. Os tratamentos com CNPF 23, CNPF 179 e “controle” não diferem entre si (Fig. 14).

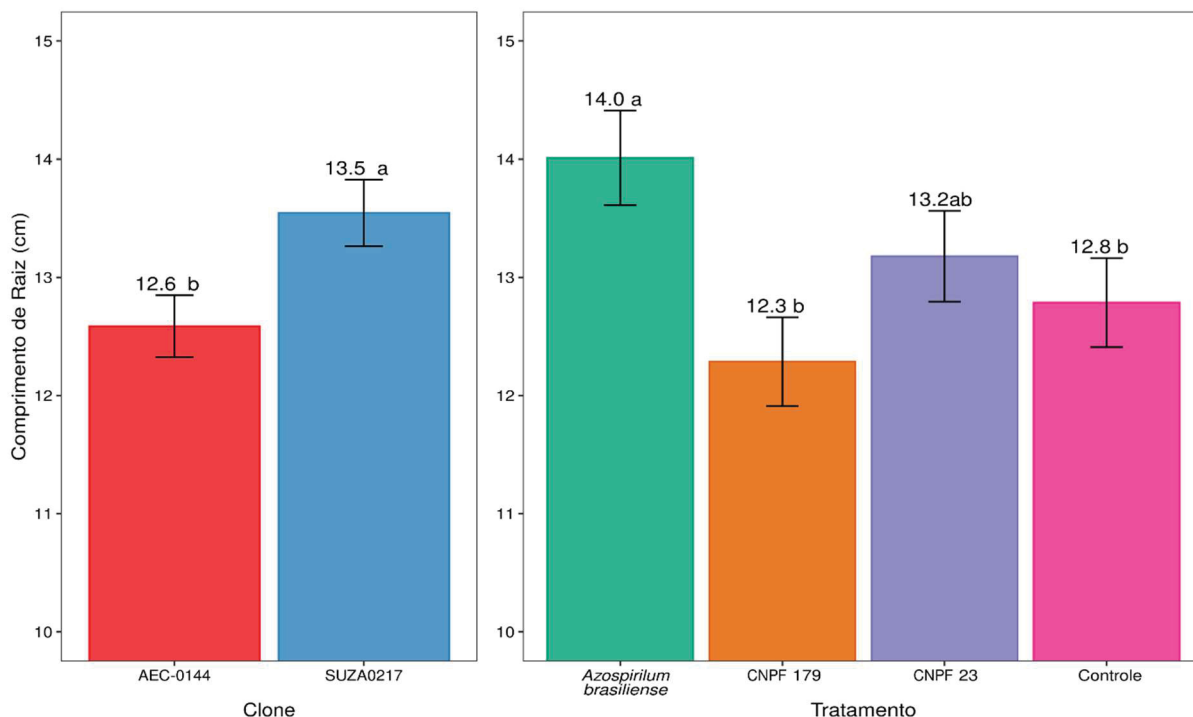


Figura 14 - Comprimento médio de raiz de miniestacas dos clones de *Eucalyptus* AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.

(Controle: explante sem inoculação por bactéria; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 23, CNPF 179: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

A massa fresca das raízes não sofreu influência nem dos tratamentos nem da interação entre clone e tratamento, mas variou em função do clone, sendo o SUZA0217 (média de 221,30 mg) significativamente superior para esta variável em relação ao outro clone testado (média de 71,98 mg).

Para a massa seca das raízes, houve influência do clone e do tratamento, mas sem influência combinada dos fatores. O clone SUZA0217 apresentou média significativamente superior ao AEC-0144. Os tratamentos com *A. brasilense*, CNPF 23 e CNPF 179 resultaram nas maiores médias, diferindo apenas da média do tratamento “controle” (Fig. 15). Rizobactérias e bactérias endofíticas dos gêneros *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Arthrobacter* e *Rahnella* já foram testadas para promover o crescimento de plântulas de *Eucalyptus nitens* (Angulo et al. 2014). Neste experimento, observou-se incremento de até 135% com um isolado de *Bacillus amyloliquefaciens* na massa seca das raízes em comparação com o tratamento controle (Angulo et al. 2014). Este incremento é próximo do promovido pela bactéria CNPF 23 (126%) e idêntico ao promovido pela bactéria *A. brasilense* (135%) em relação ao tratamento controle no experimento em questão (dados não mostrados).

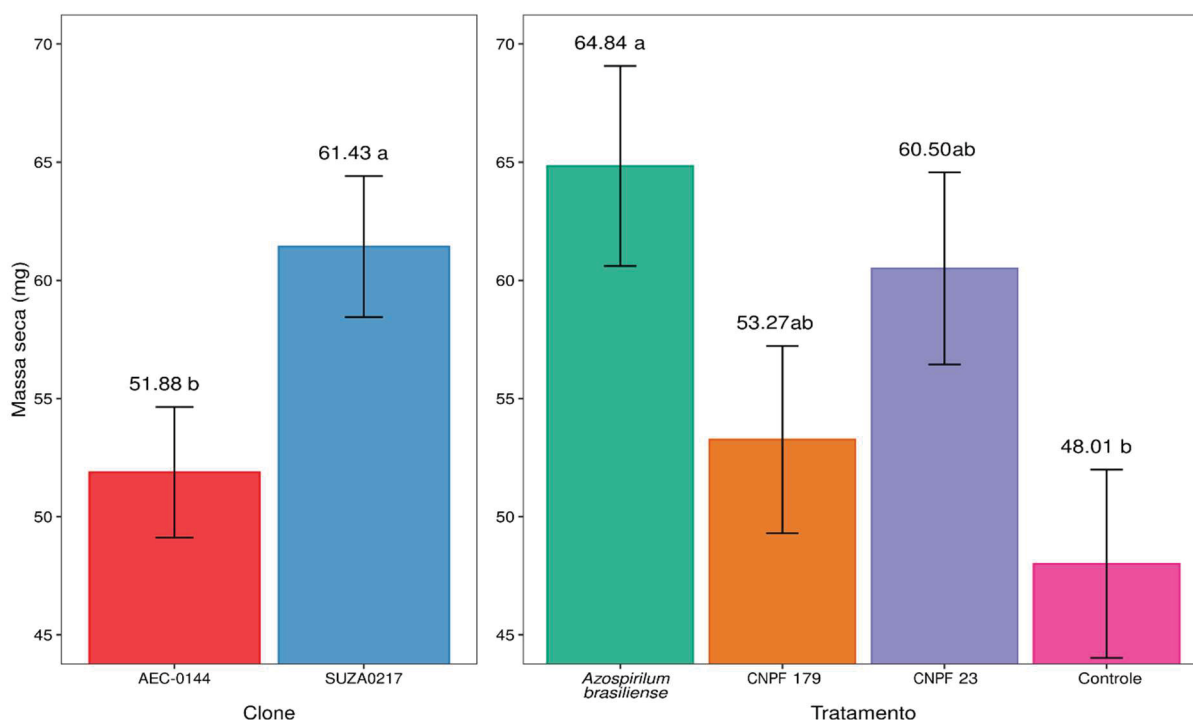


Figura 15 - Massa seca de raiz de miniestacas dos clones de *Eucalyptus* AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.

(Controle: explante sem inoculação por bactéria; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 23, CNPF 179: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.

As maiores massas fresca e seca de raízes encontradas no clone SUZA0217 podem ser explicadas pelo fato deste clone também ter apresentado raízes com maior comprimento médio (Fig.14). Também ressalta-se o fato do SUZA0217 ser um híbrido e o AEC-0144 uma espécie pura, visto que já se observou que híbridos entre espécies de *Eucalyptus* podem apresentar melhores características de enraizamento, como taxa de enraizamento, área e volume de raiz, em comparação com seus pais de espécies puras (Muthulakshmi et al. 2021).

Neste ensaio, também foi avaliada a ocorrência de calos. A formação de calos foi influenciada apenas pelos tratamentos, sendo a menor encontrada no tratamento com CNPF 23 e maior no “controle”, diferindo entre si, mas não em relação aos outros dois tratamentos, para ambos os casos (Fig. 16). O balanço entre auxina e citocinina rege diversas funções no crescimento vegetal, quando os níveis tanto de citocinina como de auxina estão elevados, a formação de calos é favorecida (Hartmann et al. 2018). Quando os níveis de auxina estão mais elevados que os de citocinina, o enraizamento é induzido (Hartmann et al. 2018). Portanto, isso reforça a conclusão de que a bactéria CNPF 23 é uma produtora de auxina, em concordância com os estudos de Queiroz et al. (2020), e esta auxina produzida pela bactéria é assimilada pela planta de alguma forma. Existe grande potencial a ser explorado no uso de bactérias endofíticas em *Eucalyptus*, visto que elas já demonstraram capacidade de potencializar o crescimento de plântulas de *Eucalyptus nitens* (Angulo et al. 2014).

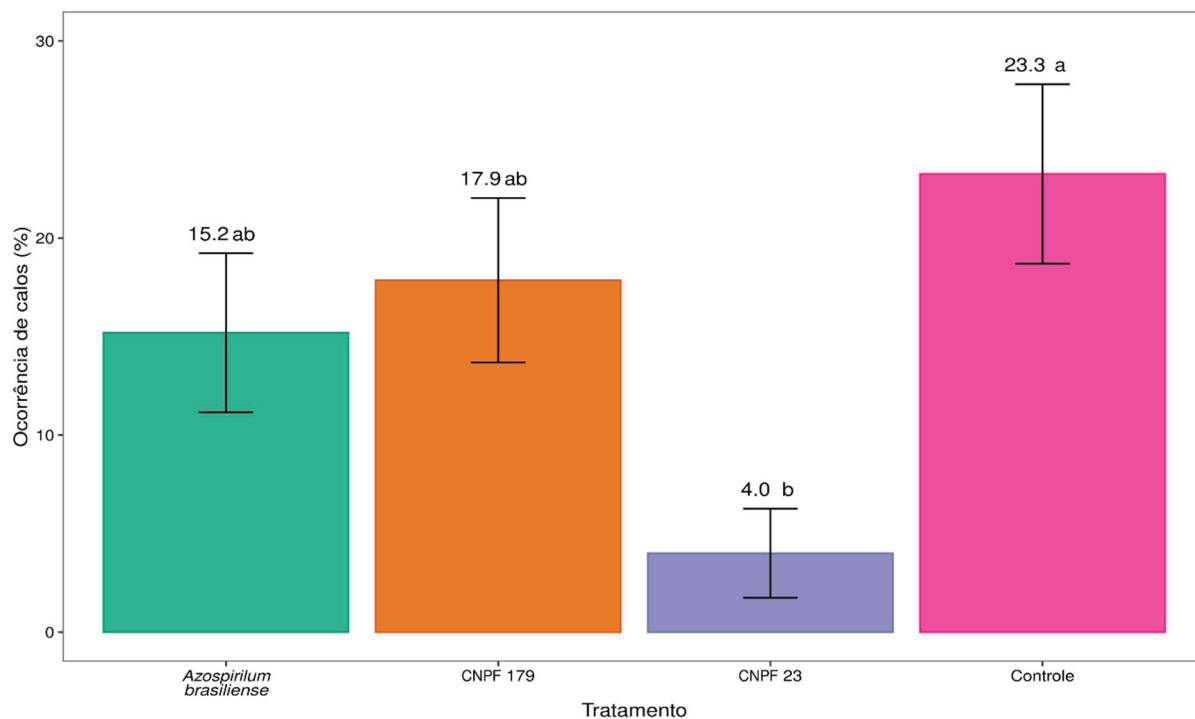


Figura 16 - Ocorrência de calos em miniestacas dos clones de *Eucalyptus* AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.

(Controle: explante sem inoculação por bactéria; *Azospirillum brasilense*: *A. brasilense*; CNPF 23, CNPF 179: estirpes de bactérias endofíticas). Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As colunas representam as médias e as barras representam o desvio padrão.



Figura 17 - Aspectos de miniestacas de clones de *Eucalyptus* AEC-0144 e SUZA0217 em função de diferentes tratamentos com bactérias endofíticas após cultivo durante 35 dias.

A Clone AEC-0144 submetido ao tratamento com a bactéria CNPF 23 apresentando formação de raízes após 35 dias de cultivo **B** Clone SUZA0217 submetido ao tratamento com a bactéria CNPF 23 apresentando formação de raízes após 35 dias de cultivo. Barras: 2 cm.

Já é bem reportado na literatura o uso de bactérias endofíticas como bioinoculantes utilizando isolados de uma espécie vegetal nessa mesma espécie (Jie et al. 2009; Costa Júnior et al. 2020; Faria et al. 2021; Soumare et al. 2021; Nadal et al. 2022; Silva et al. 2022). Porém, esse não foi o caso nos presentes experimentos, uma vez que foram utilizados isolados de *P. peruviana* em microestacas de *C. xanthocarpa* e miniestacas de clones de *Eucalyptus*. As bactérias endofíticas tendem a ter uma relação muito próxima com a planta hospedeira (Trivedi et al. 2020). Isso pode explicar o fato de diversas estirpes, mesmo sendo produtoras de auxina, não terem surtido efeito no enraizamento das microestacas.

3.3 Sequenciamento genético das estirpes CNPF 23 e CNPF 33

Apesar de serem dois isolados diferentes, a análise das sequências parciais do 16S rRNA das duas bactérias endofíticas com maior potencial de enraizamento de estacas (CNPF 23 e CNPF 33), baseado nos

resultados obtidos com as inoculações, mostrou semelhança com a estirpe tipo da espécie *Pantoea endophytica* 596^T, em ambos os isolados, com 99,53% de identidade para a CNPF 23 e 99,64% de identidade para o isolado CNPF 33. Portanto, os isolados CNPF 23 e CNPF 33 são do gênero *Pantoea*, o que ainda é reforçado pelo fato de ambas terem induzido as maiores taxas médias de enraizamento para microestacas de guabirobeira nos E2 e E3, além de serem semelhantes fenotipicamente (Fig. 18).

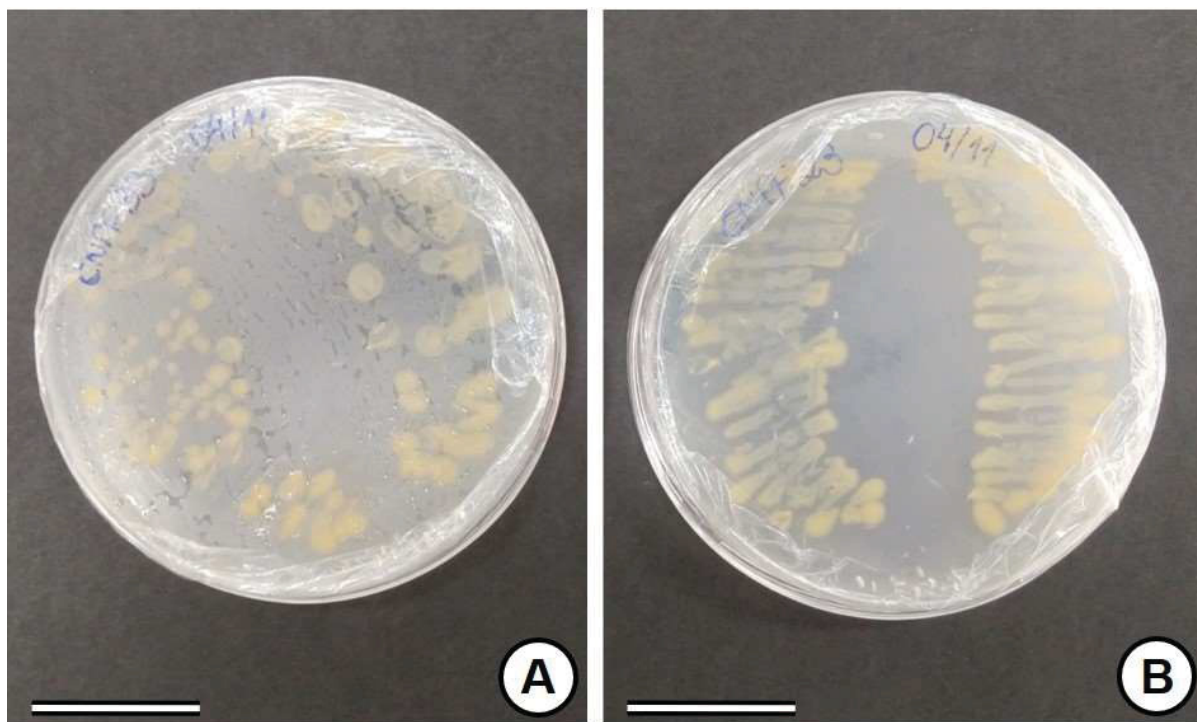


Figura 18 - Isolados CNPF 33 (A) e CNPF 23 (B) cultivados em meio de cultura DYGS em placas de Petri. Barras: 2 cm.

Pantoea endophytica 596^T, a espécie que estes isolados apresentaram maior porcentagem de identidade, foi recém identificada, sendo que os únicos dois relatos dessa espécie na literatura reportam sua ocorrência em tecidos internos de raízes de milho (*Zea mays*) e como agente causal de uma podridão bacteriana em tabaco (*Nicotiana tabacum*), sendo que ambas as observações se deram na China (Gao et al. 2019; Ilyas et al. 2021). Outra *Pantoea endophytica*, o isolado 26.2.2, já foi estudada e classificada como gram-negativa e capaz de produzir de forma pura (*S*)-fenilglicina, um alfa aminoácido (Hensel et al. 2002).

O gênero *Pantoea* já foi encontrado em *Eucalyptus* (Myrtaceae) (Brady et al. 2009; 2012), além de outras plantas cultivadas, como milho (Mishra et al. 2011), arroz (Feng et al. 2006), trigo (Chen et al. 2017) e grão-de-bico (Mishra et al. 2011). Espécies de *Pantoea* já são reconhecidas como endofíticas promotoras de crescimento em plantas (Feng et al. 2006; Mishra et al. 2011; Chen et al. 2017), o que indica que os isolados CNPF 23 (*Pantoea* sp.) e CNPF 33 (*Pantoea* sp.) também podem ser promotores de crescimento em plantas, reforçado ainda pelos resultados dos ensaios feitos no presente estudo. É inédito na literatura a ocorrência desse gênero de bactérias associado a tecidos de *Plinia peruviana* e seu potencial positivo no enraizamento de mini e microestacas de espécies de Myrtaceae.

3.4 Processamento de amostras e análises anatômicas em microestacas de *Campomanesia xanthocarpa*

Externamente, as microestacas são revestidas por epiderme unisseriada, onde nota-se a presença de tricomas (Figs. 19D e 20C). Abaixo da epiderme, uma a duas camadas de colênquima são quase imperceptíveis em consequência da desidratação do processo de inclusão da amostra (Fig. 20C). Cavidades secretoras também são comumente observadas logo abaixo da epiderme (Fig. 20D). Estas cavidades são comumente observadas em espécies da família Myrtaceae e geralmente associadas a liberação de compostos lipídicos (Gogosz et al. 2010; Taha e Sahar 2012; da Costa et al. 2020; Santoro et al. 2022). Em *C. xanthocarpa*, destaca-se a ocorrência dessas cavidades logo abaixo da epiderme, o que provavelmente está associado a liberação desses compostos por volatilização, caracterizando-os como óleos essenciais (Coutinho et al. 2008; Marin et al. 2008). Contudo, cavidades também são observadas mais internamente (Fig. 22D). Abaixo do colênquima, observa-se a presença de 7 a 8 camadas de células de parênquima cortical volumosas e por vezes repletas de compostos intensamente corados de verde pelo azul de toluidina (Figs. 19D e 20B), o que indica a presença de compostos fenólicos (Ribeiro e Leitão 2020). Internamente ao parênquima cortical, observa-se a formação de felogênio adjacente às células do floema secundário (Fig. 20A - B). O felogênio produz a periderme, que pode funcionar como uma barreira anatômica ao enraizamento de espécies da família Myrtaceae (Ross et al. 2021). Internamente ao felogênio, observa-se o floema secundário, câmbio vascular, xilema secundário, xilema primário e parênquima medular (Fig. 19D).

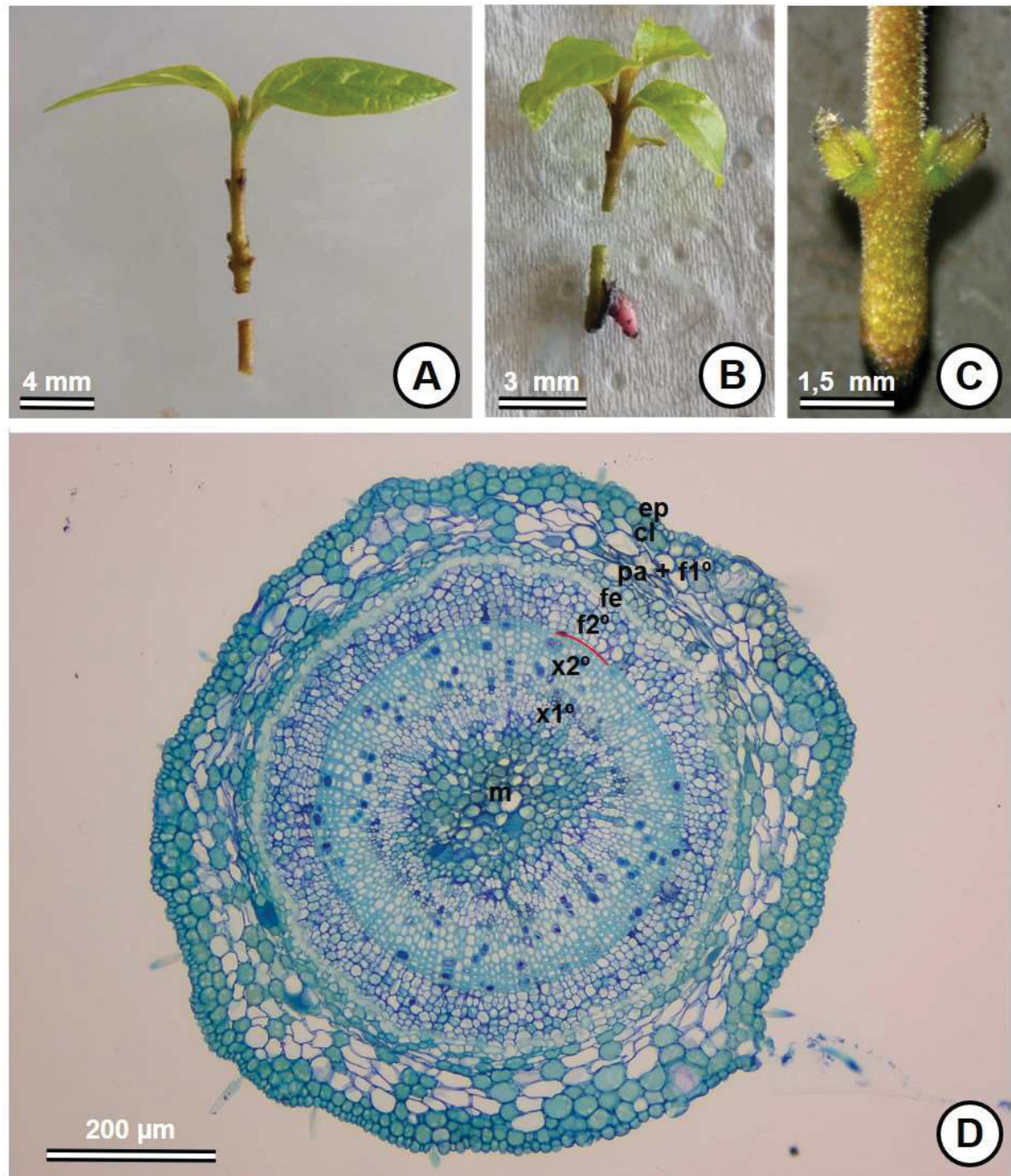


Figura 19 - Aspecto geral da microestaca de *C. xanthocarpa*.

A Microestaca com a porção basal cortada **B** Microestaca apresentando raiz advéncia emergindo com a porção basal cortada **C** Detalhe da porção basal da microestaca **D** Corte transversal de uma microestaca. (linha vermelha: câmbio vascular; cl: colênquima; cv: câmbio vascular; ep: epiderme; f1°: floema primário; f2°: floema secundário; fe: felogênio; m: medula; pa: parênquima; x1°: xilema primário; x2°: xilema secundário).

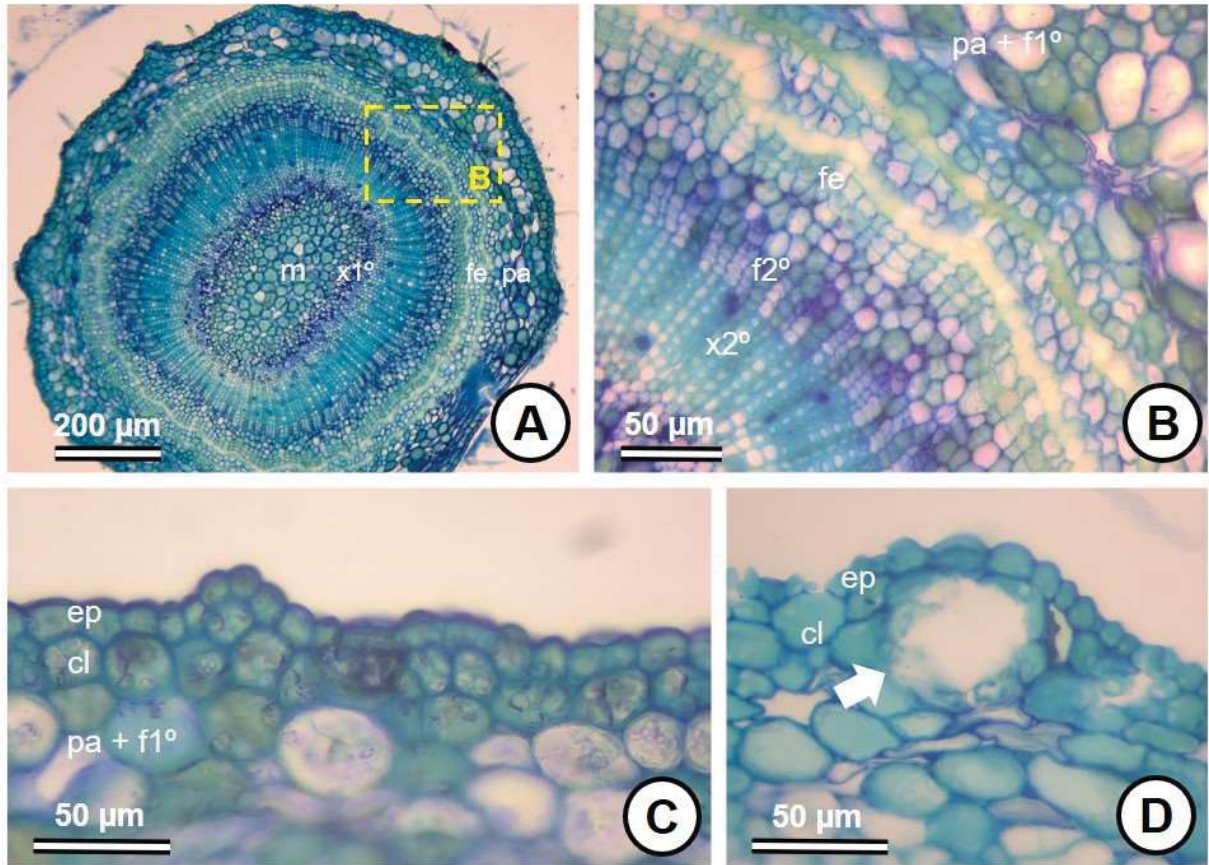


Figura 20 - Detalhes morfológicos da microestaca de *C. xanthocarpa*.

A Corte transversal de uma microestaca **B** Detalhe da área do câmbio vascular e felogênio **C** Detalhe da região da epiderme e colênquima **D** Estrutura secretora (seta branca). (cl: colênquima; cv: câmbio vascular; ep: epiderme; f1°: floema primário; f2°: floema secundário; fe: felogênio; m: medula; pa: parênquima; x1°: xilema primário; x2°: xilema secundário).

Visualmente, as raízes emergem entre 15 e 20 dias após a instalação dos tratamentos, independentemente se a indução foi feita por AIB ou bactéria endofítica CNPF 23 (Figs. 21E e 22D). Contudo, anatomicamente, já se observa a diferenciação das células que darão origem às raízes adventícias entre 10 e 15 dias, independentemente se a indução foi feita por AIB ou bactéria endofítica CNPF 23 (Figs. 21C – D e 22C). A rizogênese da espécie em questão pode ser classificada como direta, uma vez que o novo órgão se origina de células não diferenciadas do parênquima (Hartmann et al. 2018). Entre 10 e 15 dias, a divisão ainda se intensifica e o primórdio radicial se torna mais desenvolvido, iniciando o rompimento dos tecidos mais externos da microestaca sendo possível observar a raiz em secção longitudinal (Figs. 21C – D e 22C). Entre 15 e 20 dias, a raiz adventícia, agora totalmente formada, emerge da microestaca rompendo o tecido de revestimento e mudança na orientação da raiz que passa então a estar seccionada transversalmente (Figs. 21E e 22D).

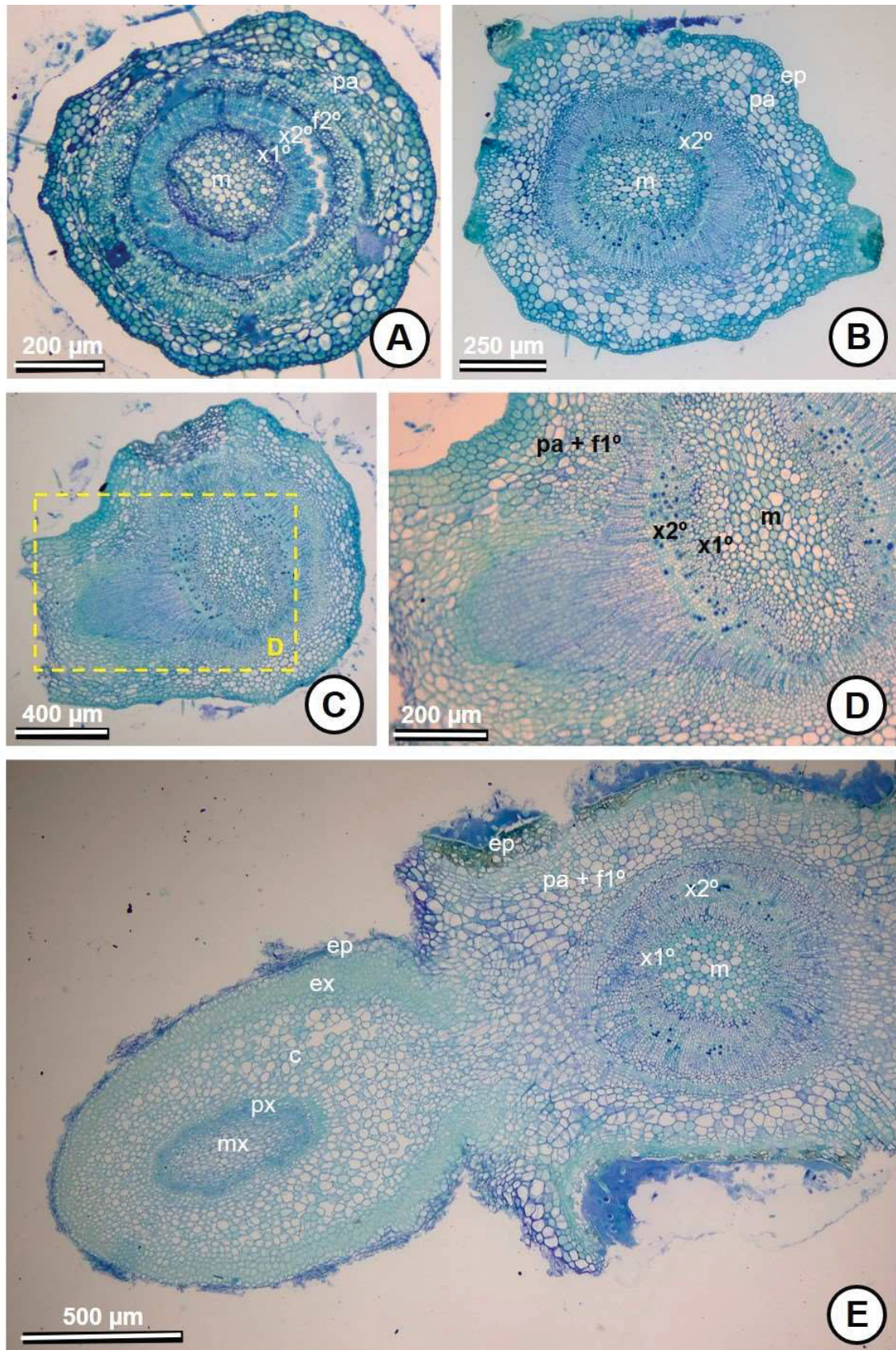


Figura 21 - Processo de enraizamento de microestaca de *C. xanthocarpa* submetida a tratamento com AIB no meio de cultura (1 mgL⁻¹). **A** Corte transversal de uma microestaca submetida ao tratamento por 5 dias **B** Corte transversal de uma microestaca submetida ao tratamento por 10 dias **C** Corte transversal de uma microestaca submetida ao tratamento por 15 dias **D** Detalhe da formação do primórdio radicial **E** Corte transversal de uma microestaca submetida ao tratamento por 20 dias com raiz formada (c: córtex; cl: colênquima; cv: câmbio vascular; ep: epiderme; ex: exoderme; f1°: floema primário; f2°: floema secundário; m: medula; mx: metaxilema; pa: parênquima; px: protoxilema; x1°: xilema primário; x2°: xilema secundário).

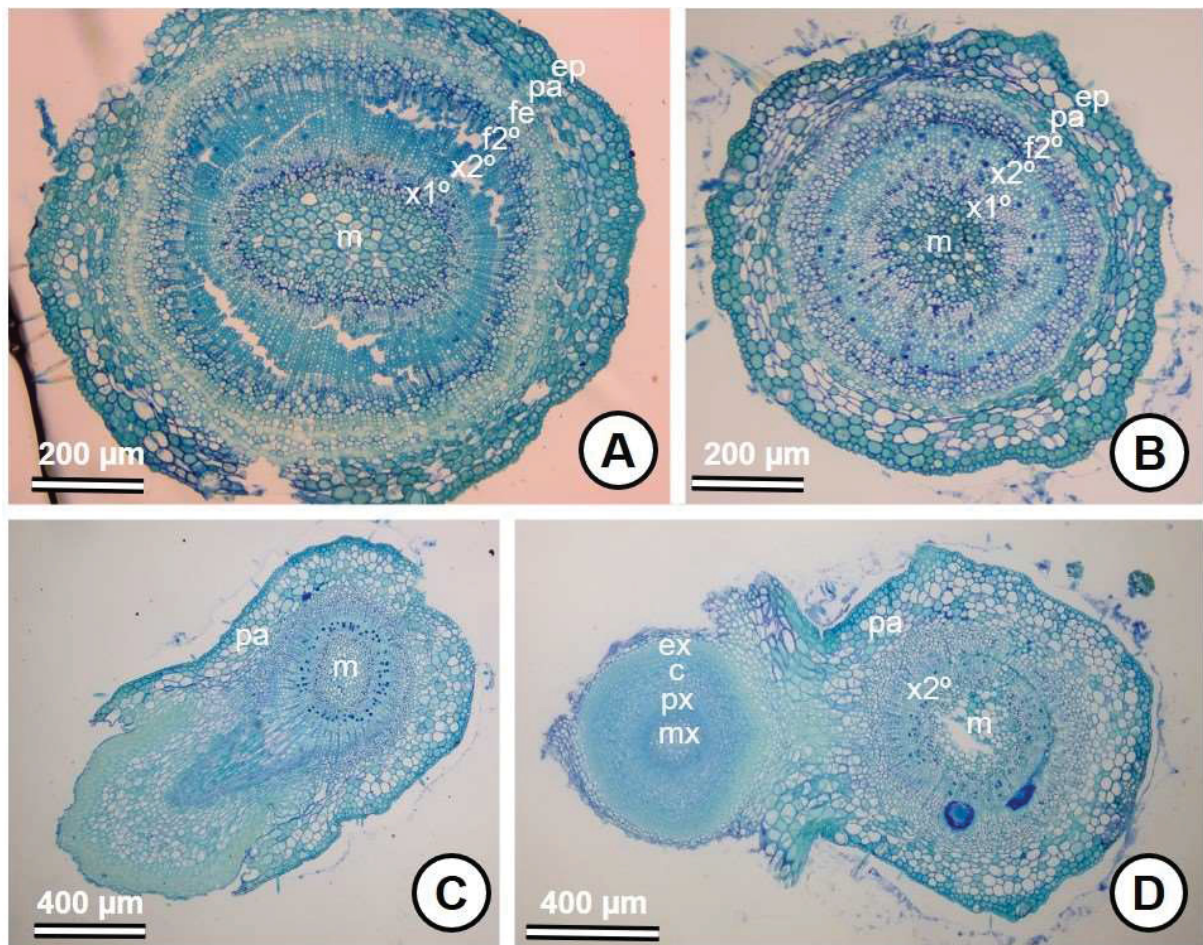


Figura 22 - Processo de enraizamento de microestaca de *C. xanthocarpa* submetida a tratamento com a bactéria endofítica CNPF 23 inoculada na base.

A Corte transversal de uma microestaca submetida ao tratamento por 5 dias **B** Corte transversal de uma microestaca submetida ao tratamento por 10 dias **C** Corte transversal de uma microestaca submetida ao tratamento por 15 dias **D** Corte transversal de uma microestaca submetida ao tratamento por 20 dias com raiz formada (c: côrtex; cl: colênquima; cv: câmbio vascular; ep: epiderme; ex: exoderme; f2°: floema secundário; m: medula; mx: metaxilema; pa: parênquima; px: protoxilema; x1°: xilema primário; x2°: xilema secundário).

Camadas contínuas de esclerênquima são altamente lignificadas e podem bloquear a emissão de raízes adventícias em estacas, ocorrendo mais frequentemente em espécies de difícil enraizamento (Hartmann et al. 2018). Isso já foi observado e confirmado em estudos com outras espécies lenhosas (Lima et al. 2011; Opeña et al. 2020), incluindo membros da família Myrtaceae (Zhang et al. 2009; Goulart et al. 2014; Bryant e Trueman 2015; Wendling et al. 2015; Santoro et al. 2022). Porém, esse tecido não está presente em *C. xanthocarpa* (Fig. 19D).

Por outro lado, notou-se outro tecido que pode estar dificultando a formação de raízes adventícias: o felogênio. Em alguns indivíduos, havia a presença do felogênio (Fig. 20B), meristema lateral que participa do crescimento secundário, produzindo a periderme (Taiz et al 2017). O felogênio pode funcionar como uma barreira ao enraizamento adventício, o que poderia explicar o motivo destes indivíduos não realizarem rizogênese. Não havia formação de felogênio nas estacas onde houve rizogênese (Figs. 21B – E e 22C - D). Um caso semelhante foi constatado em *Acca sellowiana*, também Myrtaceae, por Ross et al. (2021), que compararam um genótipo de fácil enraizamento com um de difícil enraizamento, e atribuíram o difícil enraizamento ao fato de estacas desse genótipo apresentarem uma transição precoce de fase juvenil para a madura, associada a um desenvolvimento mais precoce da periderme – tecido formado pelo felogênio. Tendo isso em vista, é possível afirmar que algo semelhante

ocorre com *C. xanthocarpa*, visto que alguns indivíduos apresentaram microestacas com felogênio, e estes foram os não responsivos à rizogênese adventícia. A presença desse tecido não é observada em todos os indivíduos e pode explicar, nos ensaios feitos com bactérias endofíticas em guabirobeira, as baixas taxas de enraizamento e a falta de homogeneidade vista nos tratamentos testemunha, que foram repetidos igualmente em todos os ensaios, mas apresentaram diferença evidente na taxa de enraizamento ao comparar os ensaios entre si. Uma vez que havia heterogeneidade genética nas plantas *in vitro* usadas no experimento, é possível que o potencial de enraizamento seja também influenciado pelo genótipo, especialmente em relação ao desenvolvimento precoce do crescimento secundário na microestaca.

Portanto, sugere-se que a dificuldade de enraizamento encontrada na guabirobeira não seja decorrente de barreiras anatômicas causadas por camadas de esclerênquima, e sim devida à formação precoce de felogênio encontrado em certos indivíduos. Isso muda a abordagem da propagação vegetativa para essa espécie, visto que o genótipo, e não somente o tratamento (seja ele com reguladores do crescimento vegetal ou bactérias endofíticas), desempenha um papel decisivo no potencial de rizogênese. Os genótipos onde o felogênio se diferencia mais tardiamente devem ser os priorizados e selecionados para a domesticação da guabirobeira, visto que aqueles onde o felogênio se forma prematuramente não possuem capacidade de formar raízes adventícias.

Apesar de já existir um estudo morfoanatômico da plântula (Gogosz et al. 2010) e das folhas (Oliveira et al. 2018; Saibert et al. 2018) de *C. xanthocarpa*, o estudo anatômico de microestacas micropropagadas, bem como a apresentação de fotografias dos cortes transversais (Figs. 19 – 22) são inéditos.

3.5 Ilustração de arte botânica de *Campomanesia xanthocarpa*

O trabalho de arte botânica representando a *C. xanthocarpa* resultou na obra apresentada na Figura 23. A composição retrata um galho da espécie em frutificação contendo sete frutos em diferentes estágios de maturação, outro galho em floração plena com duas flores, e dois frutos isolados, um em corte transversal e outro em corte longitudinal. Anteriormente a este trabalho, uma obra de arte botânica da guabirobeira representando um galho em hábito de frutificação foi produzida por Gogosz (2008). A mesma autora também produziu diversas pranchas de ilustração científica retratando a morfoanatomia da plântula (Gogosz 2008; Gogosz et al. 2010).



Campomanesia xanthocarpa
guabirobeira

Cristina Maria Klas
dezembro 2022

Figura 23 - Ilustração de arte botânica representando a guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa*) (aquarela sobre papel).
Autoria: Cristina Maria Klas

4. Conclusões

Com relação ao uso de bactérias endofíticas em guabirobeira, as maiores taxas de enraizamento foram encontradas nas microestacas inoculadas com as bactérias CNPF 23 (56,7%) e CNPF 33 (43,3%). Ambos estes isolados foram identificados como *Pantoea* sp. Portanto, recomenda-se a inoculação de microestacas de guabirobeira com estes isolados de bactéria para se obter maior taxa de enraizamento, podendo substituir o uso de auxina sintética. Em miniestacas de *Eucalyptus*, o isolado CNPF 23 proporcionou boa taxa de enraizamento (99,0%) e baixa ocorrência de calos (4,0%). A ocorrência de *Pantoea* sp. associada à tecidos de *Plinia peruviana* e seu potencial positivo no enraizamento de mini e microestacas de espécies de Myrtaceae é algo inédito na literatura e pode servir como uma alternativa para atingir maiores taxas de enraizamento em microestacas de *C. xanthocarpa* e miniestacas de *Eucalyptus*.

O clone de *Eucalyptus* SUZA0217 apresentou taxa de enraizamento, comprimento médio de raiz e massas fresca e seca de raízes, superiores aos encontrados no clone AEC-0144. Isso indica que o clone SUZA0217 possui maior vigor de enraizamento e boa perspectiva para a produção comercial em viveiros.

Pela primeira vez, realizou-se o estudo morfoanatômico de microestacas micropropagadas de *C. xanthocarpa*. As raízes adventícias se formam a partir de células do parênquima, entre 10 e 15 dias após a indução, independentemente se foi por AIB ou bactéria endofítica. Entre 15 e 20 dias após a indução, é possível observar as raízes emergindo. A presença de felogênio em alguns indivíduos indica crescimento secundário precoce e uma barreira anatômica para o desenvolvimento de raízes adventícias. Este tecido era ausente nos indivíduos que emitiram raízes adventícias. Recomenda-se a seleção dos genótipos onde o felogênio se diferencia mais tardiamente para a domesticação da guabirobeira via melhoramento genético e propagação vegetativa. Também se encoraja a realização futura de estudo morfoanatômico do caule de uma planta dessa espécie vivendo em ambiente natural, para comparação com o presente estudo.

5. Referências

- Agresti A (2015) Foundations of linear and generalized linear models. John Wiley & Sons, Nova Jersey.
- Alewell C, Ringeval B, Ballabio C, Robinson D A, Panagos P, Borrelli P (2020) Global phosphorus shortage will be aggravated by soil erosion. *Nature communications* 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18326-7>
- Alves R S, de Carvalho Rocha J R D A S, Teodoro P E, de Resende M D V, Henriques E P, Silva L A, Carneiro P C S, Bhering L L (2018) Multiple-trait BLUP: a suitable strategy for genetic selection of *Eucalyptus*. *Tree Genetics & Genomes* 14:1-8. <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1292-7>
- Andrade D R M, Helm V M, Mazza A M, MAZZA M C M (2012) Caracterização por composição nutricional da Guabiroba. In: XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura, Bento Gonçalves, Brasil. Anais... Bento Gonçalves, Brasil
- Angulo V C, Sanfuentes E A, Rodríguez F, Sossa K E (2014) Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. *Revista argentina de microbiología* 46:338-347. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70093-8](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70093-8)
- Avam Flora (2023) Avam Flora – Floresta Plantada, Natureza Preservada. Avam Flora, São Paulo, Manduri. <http://www.avamflora.com.br/?fbclid=IwAR2CBIfNf6DSi0PBB6qCuinxW8daHo_A7ISsVgcGJ7_nDZ0VHJgGdwCuvE>. Acessado em 14 abril 2023
- Azevedo G T de O S, Souza A M de, Azevedo G B de, Teodoro P E, Teodoro L P R, Sousa J R L de (2022) Time of permanence and rooting quality of minicuttings of eucalypt clones. *Southern Forests: a Journal of Forest Science* 84:44-51. <https://doi.org/10.2989/20702620.2021.2017761>
- Brady C L, Cleenwerck I, Van der Westhuizen L, Venter S N, Coutinho T A, De Vos P (2012) *Pantoea rodasii* sp. nov., *Pantoea rwandensis* sp. nov. and *Pantoea wallisii* sp. nov., isolated from *Eucalyptus*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62:1457-1464. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.032615-0>
- Brady C L, Venter S N, Cleenwerck I, Engelbeen K, Vancanneyt M, Swings J, Coutinho T A (2009) *Pantoea vagans* sp. nov., *Pantoea eucalypti* sp. nov., *Pantoea deleyi* sp. nov. and *Pantoea anthophila* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59:2339-2345. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.009241-0>
- Bryant P H, Trueman S J (2015) Stem anatomy and adventitious root formation in cuttings of *Angophora*, *Corymbia* and *Eucalyptus*. *Forests*, 6:1227-1238. <https://doi.org/10.3390/f6041227>
- Buralli R J, Ribeiro H (2021) Uso de pesticidas agrícolas e impactos ao meio ambiente e à saúde humana. In: Andreoli C V, Philippi JR A (ed.) *Sustentabilidade no agronegócio*. Editora Manole, Santana de Parnaíba, São Paulo, pp 664-701
- Burrage S G, Jeon J (2021) Applications of endophytic microbes in agriculture, biotechnology, medicine, and beyond. *Microbiological Research* 245. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126691>
- Campos Filho E M C, Sartorelli P A R (2015) Guia de Árvores com Valor Econômico. Agroicone, São Paulo, pp 68
- Chen C, Xin K, Liu H, Cheng J, Shen X, Wang Y, Zhang L (2017) *Pantoea alhagi*, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat. *Scientific Reports* 7:1-14. <https://doi.org/10.1038/srep41564>
- Cipriano R R, Tomazzoli M M, Tofanelli M B D, Sant'Anna-Santos B F, Ribas K C Z, Deschamps C (2022) Rooting of *Eugenia uniflora* cuttings: substrate, seasonality, auxine and reinvigoration methods. *Comunicata Scientiae* 13:1-9
- Costa Júnior P S P, Cardoso F P, Martins A D, Buttrós V H T, Pasqual M, Dias D R, Schwan R F, Dória J (2020) Endophytic bacteria of garlic roots promote growth of micropropagated meristems. *Microbiological research* 241. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126585>

- Costa I S C da, de Lucena E M P, Bonilla O H, Radosavljevic A, Coutinho Í A C (2020) Ontogenesis, histochemistry, and seasonal and luminous environmental characterization of secretory cavities in leaves of *Myrcia splendens* (Myrtaceae). *Botany* 98:691-701. <https://doi.org/10.1139/cjb-2020-0060>
- Coutinho I D, Poppi N R, Cardoso C L (2008) Identification of the volatile compounds of leaves and flowers in Guavira (*Campomanesia adamantium* O. Berg.). *Journal of Essential Oil Research*, 20:405-407. <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9700041>
- Dhayalan V, Sudalaimuthu K (2021). Plant growth promoting rhizobacteria in promoting sustainable agriculture. *Global Journal of Environmental Science and Management* 7:401-418. <https://doi.org/10.22034/GJESM.2021.03.06>
- Evert R F (2006) Parenchyma and Collenchyma. In: Evert R F (ed) *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development* (3rd ed.) John Wiley & Sons, Nova Jersey, pp 175-190
- Faraway J J (2016) *Extending the linear model with R: generalized linear, mixed effects and nonparametric regression models*. CRC press
- Faria P S A, Marques V de O, Selari P J R G, Martins P F, Silva F G, Sales J de F (2021) Multifunctional potential of endophytic bacteria from *Anacardium othonianum* Rizzini in promoting *in vitro* and *ex vitro* plant growth. *Microbiological Research* 242. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126600>
- Feng Y, Shen D, Song W (2006) Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates. *Journal of applied microbiology* 100:938-945. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02843.x>
- Gao J L, Xue J, Yan H, Tong S, Khan M S, Wang L W, Mao X J, Zhang X, Sun J G (2019) *Pantoea endophytica* sp. nov., novel endophytic bacteria isolated from maize planting in different geographic regions of northern China. *Systematic and applied microbiology* 4:488-494. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2019.06.001>
- Gerrits P O, Smid L (1983) A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81-85
- Gogosz A M (2008) Germinação e estrutura das plântulas de *Campomanesia xanthocarpa*. Berg. (Myrtaceae) crescendo em solo contaminado com petróleo e solo biorremediado. Dissertação, Mestrado em Botânica, Universidade Federal do Paraná
- Gogosz A M, Cosmo N L, Bona C, Souza L A D (2010) Morfoanatomia da plântula de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae). *Acta Bot. Bras.* 24:613-623. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062010000300003>
- Goulart P B, Xavier A, Iarema L, Otoni W C (2014) Morfoanatomia da rizogênese adventícia em miniestacas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. *Ciência Florestal*, 24:521-532. <https://doi.org/10.1590/1980-509820142403001>
- Hartmann H T, Kester D, Davies F T, Geneve R L, Wilson S B (2018) *Hartmann & Kester's plant propagation: Principles and practices* (9th ed.). Pearson Education Limited, Estados Unidos, Nova Iorque
- Hayat U, Jilani M I, Rehman R, Nadeem F (2015) A Review on *Eucalyptus globulus*: A new perspective in therapeutics. *Int. J. Chem. Biochem. Sci* 8:85-91.
- Hensel M, Lutz-Wahl S, Fischer L (2002) Stereoselective hydration of (RS)-phenylglycine nitrile by new whole cell biocatalysts. *Tetrahedron: Asymmetry*, 13:2629-2633. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(02\)00751-6](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(02)00751-6)
- IBÁ (2022) Relatório anual 2022. IBÁ - Indústria Brasileira de Árvores. <<https://www.iba.org/publicacoes/relatorios>>. Acessado em 22 maio 2023

- Ilyas N, Yang Y, Liu W, Li X, Pu W, Singh R P, Li Y (2021) First report of bacterial rot caused by *Pantoea endophytica* on tobacco in Liuyang, China. *Plant Disease* 105:4147. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0737-PDN>
- Jie L, Zifeng W, Lixiang C, Hongming T, Patrik I, Zide J, Shining Z (2009) Artificial inoculation of banana tissue culture plantlets with indigenous endophytes originally derived from native banana plants. *Biological control* 51:427-434. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.08.002>
- Johansen D A (1940) *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, Inc: London
- Kinupp V F (2011) Espécies Alimentícias Nativas da Região Sul do Brasil. In: Coradin L, Siminski A, Reis A (ed) *Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial: Plantas para o Futuro – Região Sul*, Ministério do Meio Ambiente, Brasília, pp 107-110.
- De Klerk G J (2002) Rooting of microcuttings: theory and practice. *In vitro cellular & developmental biology. Plant* 38:415-422. <<http://www.jstor.org/stable/23321150>>. Acessado em 25 março 2023
- Lenth R (2023) emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.8.2. <<https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>>. Acessado em 10 março 2023
- Lima D M, Biasi L A, Zanette F, Zuffellato-Ribas K C, Bona C, Mayer J L S (2011) Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 13:422-438. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000400008>
- Lisbôa G V, Kinupp V F, de Barros I B I (2011) *Campomanesia xanthocarpa* Guabiroba. In: Coradin I, Siminski A, Reis A (ed) *Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial: Plantas para o Futuro – Região Sul*, Ministério do Meio Ambiente, Brasília, pp 159-162
- Lloyd G, McCown B (1980) Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *International Plant Propagation Society Proceedings* 30:421-427
- Lorenzi H, de Lacerda M T C, Bacher L B (2015) *Frutas no Brasil Nativas e Exóticas (de consumo in natura)*. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo.
- Machado J S; Degenhardt J; Maia F R; Quoirin M (2020) Micropropagation of *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae), a medicinal tree from the Brazilian Atlantic Forest. *Trees* 34:791-799. <https://doi.org/10.1007/s00468-020-01958-z>
- Marin R, Apel M A, Limberger R P, Raseira M C, Pereira J F, Zuanazzi J A, Henriques A T (2008) Volatile components and antioxidant activity from some Myrtaceous fruits cultivated in Southern Brazil. *Latin American Journal of Pharmacy* 27:172-177.
- Mendonça E G, Batista T R, Stein V C, Balieiro F P, de Abreu J R, Pires M F, de Souza P A, Paiva L V (2020) *In vitro* serial subculture to improve rooting of *Eucalyptus urophylla*. *New Forests* 51:801-816. <https://doi.org/10.1007/s11056-019-09761-6>
- Messier C, Bausch J, Sousa-Silva R et al. (2022) For the sake of resilience and multifunctionality, let's diversify planted forests!. *Conservation Letters* 15:e12829. <https://doi.org/10.1111/conl.12829>
- Mishra A, Chauhan P S, Chaudhry V, Tripathi M, Nautiyal C S (2011) Rhizosphere competent *Pantoea agglomerans* enhances maize (*Zea mays*) and chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth, without altering the rhizosphere functional diversity. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 100:405-413. <https://doi.org/10.1007/s10482-011-9596-8>
- Moral R de A, Hinde J, Demétrio C G B (2017) Half-normal plots and overdispersed models in R: the hnp package. *Journal of Statistical Software* 81. <https://doi.org/10.18637/jss.v081.i10>
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15:473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

- Muthulakshmi V, Vijayam C V, Bachpai V K W, Sivakumar V, Muthulakshmi E, Shanmugavel S, Parveen A B M, Yasodha R, Rajasugunasekar D, Nagarajan B, Mayavel A, Dasgupta M G (2021) Genetic control of adventitious rooting traits in bi-parental pedigree of *Eucalyptus tereticornis* × *E. camaldulensis*. *New Forests* 52:585-603. <https://doi.org/10.1007/s11056-020-09810-5>
- Nadal M C, Ferreira G M dos R, Andrade G V S, Buttrós V H, Rodrigues F A, da Silva C M, Martins A D, Rufato L, Luz J M Q, Dória J, Pasqual M (2022) Endophytic Bacteria Can Replace the Need for Synthetic Auxin during *In Vitro* Rooting of *Pyrus communis*. *Agronomy* 12. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051226>
- Nascimento A da C, Paiva R, Abbade L C, Vargas D P, Soares F P (2008) Micropropagação de uvaieira, *Eugenia pyriformis* Cambess: efeitos do BAP e AIB. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 3:20-26.
- O'Brien T, Feder N, McCully M E (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59:368-373
- Oliveira L S de, Dias P C, Brondani G E (2013) Micropropagação de espécies florestais brasileiras. *Pesquisa florestal brasileira* 33:439-453. <https://doi.org/10.4336/2013.pfb.33.76.481>
- Oliveira M I U de, Rebouças D A, Leite K R B, Oliveira R P de, Funch L S (2018) Can leaf morphology and anatomy contribute to species delimitation? A case in the *Campomanesia xanthocarpa* complex (Myrtaceae). *Flora* 249:111-123. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.10.004>
- Ultramarini A C, Dal Vesco L L, Pedrotti E L, Ducroquet J P H J, Nodari R O, Guerra M P (2000) Protocolo de micropropagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). *Ciência Rural* 30:61-68. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782000000100010>
- Opeña J M, Sotto R C, Salazar B M, Protacio C M (2020) Morpho-anatomical investigation on the adventitious rooting of hard-to-root Excelsa coffee (*Coffea excelsa* A. Chev.) stem cuttings. *Philippine Agricultural Scientist*, 103:303-310.
- Paiva J G A D, Fank-de-Carvalho S M, Magalhães M P, Graciano-Ribeiro D (2006) Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta botânica brasileira* 20:257-264. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062006000200002>
- Paludzyszyn Filho E, Santos P E T dos (2013) Escolha de cultivares de eucaliptos em função do ambiente e do uso. Comunicado Técnico 316. Embrapa, Colombo, Paraná.
- Phillips G C, Garda M (2019) Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 55:242-257. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>
- Poke F S, Vaillancourt R E, Potts B M, Reid J B (2005) Genomic research in *Eucalyptus*. *Genetica*, 125:79-101. <https://doi.org/10.1007/s10709-005-5082-4>
- Primak T K, Lima C M, Cassarino J P (2017) Ácido indolacético e ácido indolbutírico, na reprodução vegetativa da Guabirola (*Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg) via estaquia. In: VII Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS, Laranjeiras do Sul, Brasil.
- Queiroz E G, Degenhardt J, Quoirin M, da Silva K (2020) Endophytic bacteria associated with tissue culture and leaves of *Plinia peruviana*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 55. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2020.v55.01844>
- Queiroz L M R de (2014) Resposta da rizogênese em miniestacas de clones de *Eucalyptus* spp. à utilização de fitohormônio. Trabalho de conclusão de curso, Graduação em Engenharia Florestal, Universidade de Brasília
- Raseira M C B, Antunes L E C, Trevisan R, Gonçalves E D (2004) Espécies frutíferas nativas do Sul do Brasil. Embrapa Clima Temperado, Pelotas

- Raven P H, Evert R F, Eichhorn S E (2007) *Biologia vegetal*. W. H. Freeman and Company, Estados Unidos, Nova Iorque
- R Core Team (2023) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>. Acessado em 10 março 2023
- Ribeiro V C, Leitão C A E (2020) Utilisation of Toluidine blue O pH 4.0 and histochemical inferences in plant sections obtained by free-hand. *Protoplasma* 257:993-1008. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01473-0>
- Rigby R A, Stasinopoulos D M (2005) Generalized additive models for location, scale and shape. *Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)* 54:507-554. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9876.2005.00510.x>
- Rodrigues Neto J, Malavolta Júnior V A, Victor O (1986) Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. citri tipo B. *Summa Phytopathol* 12:16
- Ross S, Speroni G, Souza-Pérez M, Ávila N, Pietro F, González A M, Speranza P (2021) Stem-cutting anatomy and biochemical responses associated with competence for adventitious root differentiation in *Acca sellowiana* (Myrtaceae). *Trees* 35:1221-1232. <https://doi.org/10.1007/s00468-021-02110-1>
- Saibert P C S, Romagnolo M B, Albiero A L M (2018) Comparação morfoanatômica de folhas de *Campomanesia xanthorcapa* O. Berg e *Campomanesia guaviroba* (DC.) Kiaersk. (Myrtaceae) como contribuição a farmacognosia. *Visão Acadêmica* 19. <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v19i3.60594>
- Santarosa E, Penteado Júnior J F, Goulart, I C G dos R (2014) Transferência de Tecnologia Florestal. Cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda. Embrapa, Distrito Federal, Brasília.
- Santoro M B, Brogio B D A, Tanaka F A O, Jacomino A P, Silva R M P (2022) Adventitious rooting and anatomical aspects of *Campomanesia phaea* stems. *Acta Scientiarum. Agronomy* 44. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v44i1.53602>
- Santoyo G, Moreno-Hagelsieb G, Orozco-Mosqueda M del C, Glick B R (2016) Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological research* 183:92-99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- Scutti M B; Zanette F (2000) Propagação vegetativa da guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) *in vitro* e por estaquia. *Scientia Agraria*, 1-2:75-82. <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v1i1.989>
- Seng Hua L, Wei Chen L, Antov P, Kristak L, Md Tahir P (2022) Engineering wood products from *Eucalyptus* spp.. *Advances in Materials Science and Engineering* 2022:1-14. <https://doi.org/10.1155/2022/8000780>
- Silva K D, Quisen R C, Goldbach J D, Pepe K B F, Kalil Filho, A N (2022) Plant growth-promoting endophytic bacteria in peach palm seedlings. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 57. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2022.v57.02962>
- Singh A (2015) Micropropagation of plants. In: Bahadur B, Rajam M V, Sahijram L, Krishnamurthy K (ed) *Plant Biology and Biotechnology*. Springer: New Delhi, pp 329-346.
- Singh M, Kumar A, Singh R, Pandey K D (2017) Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. *3 Biotech*, 7:1-14. <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-017-0942-z>
- Soumare A, Boubekri K, Lyamlouli K, Hafidi M, Ouhdouch Y, Kouisni L (2021) Efficacy of phosphate solubilizing *Actinobacteria* to improve rock phosphate agronomic effectiveness and plant growth promotion. *Rhizosphere* 17. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100284>
- Taha Y A E, Sahar A A M A S (2012) Taxonomic significance of anatomical characters in some species of the family Myrtaceae. *American Journal of Plant Sciences* 3:572-581. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2012.35069>
- Taiz L, Zeiger E, Møller I M, Murphy A (2017) *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Artmed Editora, Brasil, Porto Alegre

- Tamura K, Stecher G, Kumar S (2021) MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution* 38:3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Teleginski F (2016) Propagação vegetativa e germinação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg. Dissertação, Mestrado em Agronomia, Universidade Federal do Paraná
- Teleginski F; Zuffellato-Ribas K C; Koehler H S; Degenhardt-Goldbach J; Teleginski E (2018) Resgate vegetativo de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg por alporquia. *Ciência Florestal* 28:820-826. <https://doi.org/10.5902/1980509832100>
- Tenkorang F, Lowenberg-DeBoer J (2009) Forecasting long-term global fertilizer demand. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 83:233-247. <https://doi.org/10.1007/s10705-008-9214-y>
- Trivedi P, Leach J E, Tringe S G, Sa T, Singh B K (2020) Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature reviews microbiology*, 18:607-621. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>
- Venables W N, Ripley B D (2002) *Modern applied statistics with S* (4th ed.). Springer, Estados Unidos, Nova Iorque.
- Vieira P H M (2019) Caracterização morfofisiológica e sensibilidade à dessecação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg (Myrtaceae). Dissertação, Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina
- Vilasboa J, da Costa C T, Fett-Neto A G (2022) Environmental Modulation of Mini-Clonal Gardens for Cutting Production and Propagation of Hard-and Easy-to-Root *Eucalyptus* spp. *Plants*, 11. <https://doi.org/10.3390/plants11233281>
- Wendling I, Brooks P R, Trueman S J (2015) Topophysis in *Corymbia torelliana* × *C. citriodora* seedlings: adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. *New forests* 46:107-120. <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9451-7>
- Wendling I, Xavier A (2005a) Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore* 29:921-930. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000600011>
- Wendling I, Xavier A (2005b) Influência da miniestaquia seriada no vigor radicular de clones de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore* 29:681-689. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000500003>
- Wickham H (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, Estados Unidos, Nova Iorque
- Wilson D (1995) Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos* 73:274-276. <https://doi.org/10.2307/3545919>
- Zhang M, Tang H, Wang D, Ren S, Liu R (2009) A study of rooting characteristics and anatomical structure of feijoa cuttings. *Agricultural Journal*, 4:86-90.
- Zhang Z, Schwartz S, Wagner L, Miller W (2000) A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal of Computational biology* 7:203-214. <https://doi.org/10.1089/10665270050081478>
- Zuur A F, Ieno E N, Walker N J, Saveliev A A, Smith G M (2009) *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer eBooks, New York: Springer.

4. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ensaios com inoculação de bactérias endofíticas em microestacas de guabirobeira demonstraram o efeito positivo dos isolados CNPF 23 e CNPF 33 sobre a taxa de enraizamento, maior que no caso da inoculação com *Azospirillum brasilense* ou tratamento com auxina no meio de cultura. Tal efeito poderá ser aproveitado de maneira a evitar o uso de auxina sintética na micropropagação desta espécie. Além disso, o sequenciamento dessas estirpes revelou que ambas se tratam de espécies do gênero *Pantoea*.

Nos ensaios com o uso de bactérias endofíticas inoculadas em miniestacas de dois clones de *Eucalyptus*, o clone SUZA0217 apresentou valores superiores aos encontrados no clone AEC-0144 com relação aos parâmetros de enraizamento avaliados. Para os tratamentos, a inoculação com a bactéria CNPF 23 proporcionou alta taxa de enraizamento e baixa ocorrência de calos.

Destaca-se, portanto que a inoculação das microestacas de guabirobeira e miniestacas de *Eucalyptus* com a estas bactérias (*Pantoea* sp.) induziu melhora na taxa de enraizamento e são indicadas para inoculação com a finalidade de potencializar o enraizamento. Encorajam-se repetições e novos testes com as bactérias CNPF 23 e CNPF 33 nessas e outras espécies para reforçar a comprovação de seus efeitos positivos no enraizamento e o seu possível uso comercial, contribuindo para o desenvolvimento da agricultura sustentável mediante o aumento do espectro de microrganismos conhecidos que podem ser utilizados como bioinsumos.

A ocorrência de bactérias do gênero *Pantoea* associadas a tecidos de *Plinia peruviana* e seu potencial positivo no enraizamento de mini e microestacas de espécies de Myrtaceae é algo inédito na literatura.

Realizou-se pela primeira vez o estudo morfoanatômico de microestacas micropropagadas de *C. xanthocarpa*. As raízes adventícias se formam a partir de células do parênquima, entre 10 e 15 dias após a indução, independentemente se foi por AIB ou bactéria endofítica. A presença de felogênio em alguns indivíduos indica crescimento secundário precoce e uma barreira anatômica para o desenvolvimento de raízes adventícias. Este tecido era ausente nos indivíduos que emitiram raízes adventícias. Isso traz uma nova perspectiva para a propagação vegetativa da espécie. Recomenda-se a seleção dos genótipos onde o felogênio se diferencia mais tardiamente para a domesticação da guabirobeira. Também se encoraja a realização

futura de estudo morfoanatômico do caule de uma planta da espécie vivendo em ambiente natural, para comparação com o presente estudo.

5. REFERÊNCIAS GERAIS

ABDALLA, N.; EL-RAMADY, H.; SELIEM, M. K.; EL-MAHROUK, M. E.; TAHA, N.; BAYOUMI, Y.; SHALABY, T. A.; DOBRÁNSZKI, J. An academic and technical overview on plant micropropagation challenges. **Horticulturae**, v. 8, n. 8, p. 677, 2022.

AGRESTI, A. **Foundations of linear and generalized linear models**. Nova Jersey, John Wiley & Sons, 2015.

AHMAD, E.; SHARMA, S. K.; SHARMA, P. K. Deciphering operation of tryptophan-independent pathway in high indole-3-acetic acid (IAA) producing *Micrococcus aloeverae* DCB-20. **FEMS Microbiology Letters**, v. 367, n. 24, 2020.

ALBUQUERQUE, J. S. **Propagação vegetativa de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) pelo método de enxertia**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2016.

ALEWELL, C.; RINGEVAL, B.; BALLABIO, C.; ROBINSON, D. A.; PANAGOS, P.; BORRELLI, P. Global phosphorus shortage will be aggravated by soil erosion. **Nature communications**, v. 11, n. 1, 2020.

ALVES R. S.; DE CARVALHO ROCHA, J. R. D. A. S.; TEODORO, P. E.; DE RESENDE, M. D. V.; HENRIQUES, E. P.; SILVA, L. A.; CARNEIRO, P. C. S.; BHERING, L. L. Multiple-trait BLUP: a suitable strategy for genetic selection of *Eucalyptus*. **Tree Genetics & Genomes**, v. 14, p. 1-8, 2018.

ANDRADE, D. R. M.; HELM, C. V.; MAZZA, C. A.; MAZZA, M. C. M. Caracterização por composição nutricional da guabiroba. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Congresso Brasileiro De Fruticultura, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: SBF, 2012.

ANDREOLI, C. V.; PHILIPPI JR, A.; OLIVEIRA, R. K. de. Segurança alimentar na Quarta Revolução Industrial: uma questão de governança ambiental. In: ANDREOLI, C. V.; PHILIPPI JR, A. (Ed.). **Sustentabilidade no agronegócio**. Santana de Parnaíba (SP): Editora Manole, 2021, p.3-51

ANGULO, V. C.; SANFUENTES, E. A.; RODRÍGUEZ, F.; SOSSA, K. E. Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. **Revista argentina de microbiología**, v. 46, n. 4, p. 338-347, 2014.

AVAM FLORA. Avam Flora – Floresta Plantada, Natureza Preservada. **Avam Flora**, São Paulo, Manduri. 2023. Disponível em: <http://www.avamflora.com.br/?fbclid=IwAR2CBIfNf6DSi0PBB6qCuinxW8daHo_A7lSsVgcGJ7_nDZ0VHJgGdwCuvE>. Acesso em: 14 abr. 2023.

AYOUB, S. J.; QRUNFLEH, M. M. Anatomical aspects of rooting ‘Nabali’ and ‘Raseei’olive semi-hardwood stem cuttings. **Jordan Journal of Agricultural Sciences**, v. 2, n. 1, p. 16-28, 2006.

AZEVEDO, G. T. de O. S.; SOUZA, A. M. de; AZEVEDO, G. B. de; TEODORO, P. E.; TEODORO, L. P. R.; SOUSA, J. R. L. de. Time of permanence and rooting quality of minicuttings of eucalypt clones. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**, v. 84, n. 1, p. 44-51, 2022.

BIAVATTI, M. W.; FARIAS, F. C.; CURTIUS, L.M. BRASIL; HORT, S.; SCHUSTER, L.; LEITE, S. N.; PRADO, S. R. T. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) JF Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2-3, p. 385-389, 2004.

BLYTHE, E. K.; SIBLEY, J. L.; TILT, K. M.; RUTER, J. M. Methods of auxin application in cutting propagation: A review of 70 years of scientific discovery and commercial practice. **Journal of Environmental Horticulture**, v. 25, n. 3, p. 166-185, 2007.

BRADY, C. L.; CLEENWERCK, I.; van der WESTHUIZEN, L.; VENTER, S. N.; COUTINHO, T. A. de vos P. *Pantoea rodasii* sp. nov., *Pantoea rwandensis* sp. nov. and *Pantoea wallisii* sp. nov., isolated from *Eucalyptus*. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 62, p. 1457-1464, 2012.

BRADY, C. L.; VENTER, S. N.; CLEENWERCK, I.; ENGELBEEN, K.; VANCANNEYT, M.; SWINGS, J.; COUTINHO, T. A. *Pantoea vagans* sp. nov., *Pantoea eucalypti* sp. nov., *Pantoea deleyi* sp. nov. and *Pantoea anthophila* sp. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 59, n. 9, p. 2339-2345, 2009.

BRYANT, P. H.; TRUEMAN, S. J. Stem anatomy and adventitious root formation in cuttings of *Angophora*, *Corymbia* and *Eucalyptus*. **Forests**, v. 6, n. 4, p. 1227-1238, 2015.

BURALLI, R. J.; RIBEIRO, H. Uso de pesticidas agrícolas e impactos ao meio ambiente e à saúde humana. In: ANDREOLI, C. V.; PHILIPPI JR, A. (Ed.). **Sustentabilidade no agronegócio**. Santana de Parnaíba (SP): Editora Manole, 2021, p.664-701

BURRAGONI, S. G.; JEON, J. Applications of endophytic microbes in agriculture, biotechnology, medicine, and beyond. **Microbiological Research**, v. 245, 2021.

CAMPOS FILHO, E. M. C.; SARTONELLI, P. A. R. **Guia de Árvores com Valor Econômico**. São Paulo: Agroicone, 2015.

CARRARA, M. dos R. **Espécies de Campomanesia Ruiz & Pavon (Myrtinae, Myrtaceae) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro**. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (RJ), 1997.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília (DF): Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

CHEN, C.; XIN, K.; LIU, H.; CHENG, J.; SHEN, X.; WANG, Y.; ZHANG, L. *Pantoea alhagi*, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2017.

CIPRIANO, R. R.; TOMAZZOLI, M. M.; TOFANELLI, M. B. D.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; RIBAS, K. C. Z.; DESCHAMPS, C. Rooting of *Eugenia uniflora* cuttings: substrate, seasonality, auxine and reinvigoration methods. **Comunicata Scientiae**, v. 13, p. 1-9, 2022.

COSTACURTA, A.; VANDERLEYDEN, J. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. **Critical reviews in microbiology**, v. 21, n. 1, p. 1-18, 1995.

COSTA JÚNIOR, P. S. P.; CARDOSO, F. P.; MARTINS, A. D.; BUTTRÓS, V. H. T.; PASQUAL, M.; DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F.; DÓRIA, J. Endophytic bacteria of garlic roots promote growth of micropropagated meristems. **Microbiological research**, v. 241, 2020.

COSTA, I. S. C. da; de LUCENA, E. M. P.; BONILLA, O. H.; RADOSAVLJEVIC, A.; COUTINHO, Í. A. C. Ontogenesis, histochemistry, and seasonal and luminous environmental characterization of secretory cavities in leaves of *Myrcia splendens* (Myrtaceae). **Botany**, v. 98, n. 12, p. 691-701, 2020.

COUTINHO, I. D.; POPPI, N. R.; CARDOSO, C. L. (Identification of the volatile compounds of leaves and flowers in Guavira (*Campomanesia adamantium* O. Berg.). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 5, p. 405-407, 2008.

DEMÉTRIO, C. A.; JACOB, J. F. de O.; AMBROSANO, G. B.; OLIVEIRA, Ê. T. de; RODRIGUES, P. H. V. In vitro propagation of cambuci (*Campomanesia phaea*): An endangered exotic fruit and ornamental plant from Brazilian Atlantic Forest. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 145, n. 1, p. 203-208, 2021.

DHAYALAN, V.; SUDALAIMUTHU, K. Plant growth promoting rhizobacteria in promoting sustainable agriculture. **Global Journal of Environmental Science and Management**, v. 7, n. 3, p. 401-418, 2021.

DIAS, P.C.; OLIVEIRA, L.S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012.

EMER, A. A.; AVRELLA, E. D.; FIOR, C. S.; SCHAFER, G. Nitrogen fertilization for minitrains of *Campomanesia aurea* O. Berg and its influence on productivity and rooting of minicuttings at different seasons of the year. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 14, n. 2, p. 1-8, 2019.

EMER, A. A.; SCHAFER, G.; AVRELLA, E. D.; DELAZERI, M.; VEIT, P. A. FIOR, C. S. Influence of indolebutyric acid in the rooting of *Campomanesia aurea* semihardwood cuttings. **Ornamental Horticulture**, v. 22, n. 1, p. 94-100, 2016.

EVERT, R. F. Parenchyma and Collenchyma. In: EVERT, R. F. (Ed.) **Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure,**

function, and development. 3^a ed, Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2006. p. 175-190.

FARAWAY, J. J. **Extending the linear model with R: generalized linear, mixed effects and nonparametric regression models.** CRC press, 2016.

FARIA, P. S. A.; MARQUES, V. de O.; SELARI, P. J. R. G.; MARTINS, P. F.; SILVA, F. G.; SALES, J. de F. Multifunctional potential of endophytic bacteria from *Anacardium othonianum* Rizzini in promoting *in vitro* and *ex vitro* plant growth. **Microbiological Research**, v. 242, 2021.

FENG, Y.; SHEN, D.; SONG, W. Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates. **Journal of applied microbiology**, v. 100, n. 5, p. 938-945, 2006.

FERREIRA, J. de P.; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I. **Método para detecção e quantificação da atividade de ACC deaminase em bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal.** Comunicado Técnico 148. Seropédica, RJ: Embrapa, 2020.

GAO, J. L.; XUE, J.; YAN, H.; TONG, S.; KHAN, M. S.; WANG, L. W.; MAO, X. J.; ZHANG, X.; SUN, J. G. *Pantoea endophytica* sp. nov., novel endophytic bacteria isolated from maize planting in different geographic regions of northern China. **Systematic and applied microbiology**, v. 42, n. 4, p. 488-494, 2019.

GERRITS, P. O.; SMID, L. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**, v. 132, n. 1, p. 81-85, 1983.

GLICK, B. R. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. **FEMS microbiology letters**, v. 251, n. 1, p. 1-7, 2005.

GOELZER, A.; DÉO, T. G.; LOPES, G. B.; DAMIANI, C. R. Reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae). **Brazilian Applied Science Review**, v. 3, n. 2, p. 1280-1291, 2019.

GOGOSZ, A. M. **Germinação e estrutura das plântulas de *Campomanesia xanthocarpa* Berg. (Myrtaceae) crescendo em solo contaminado com petróleo e solo biorremediado.** Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2008.

GOGOSZ, A. M.; COSMO, N. L.; BONA, C.; SOUZA, L. A. D. Morfoanatomia da plântula de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.(Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 613-623, 2010.

GONIN, M.; BERGOUGNOUX, V.; NGUYEN, T. D.; GANTET, P.; CHAMPION, A. What makes adventitious roots?. **Plants**, v. 8, n. 7, p. 240, 2019.

GOULART, P. B.; XAVIER, A.; IAREMA, L.; OTONI, W. C. Morfoanatomia da rizogênese adventícia em miniestacas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, v. 24, p. 521-532, 2014.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.; DAVIES, F. T.; GENEVE R. L.; WILSON S. B. **Hartmann & Kester's plant propagation: Principles and practices** (9ª ed.). Pearson Education Limited. Estados Unidos, Nova Iorque, 2018.

HAYAT, U.; JILANI, M. I.; REHMAN, R.; NADEEM, F. A Review on *Eucalyptus globulus*: A new perspective in therapeutics. **Int. J. Chem. Biochem. Sci**, v. 8, p. 85-91, 2015.

HENSEL, M.; LUTZ-WAHL, S.; FISCHER, L. Stereoselective hydration of (RS)-phenylglycine nitrile by new whole cell biocatalysts. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 13, n. 24, p. 2629-2633, 2002.

IBÁ. Relatório anual 2022. **IBÁ - Indústria Brasileira de Árvores**. 2022. Disponível em: <<https://www.iba.org/publicacoes/relatorios>>. Acesso em: 22 mai. 2023.

IBGE. Produção Agrícola – Lavoura Permanente. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/15/11954>>. Acesso em: 14 mar. 2023.

ILYAS, N.; YANG, Y.; LIU, W.; LI, X.; PU, W.; SINGH, R. P.; LI, Y. First report of bacterial rot caused by *Pantoea endophytica* on tobacco in Liuyang, China. **Plant Disease**, v. 105, n. 12, 2021.

JIE, L.; ZIFENG, W.; LIXIANG, C.; HONGMING, T.; PATRIK, I.; ZIDE, J.; SHINING, Z. Artificial inoculation of banana tissue culture plantlets with indigenous endophytes originally derived from native banana plants. **Biological control**, v. 51, n. 3, p. 427-434, 2009.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, Inc: London; 530p, 1940.

KHAN, S. S.; VERMA, V.; RASOOL, S. Diversity and the role of endophytic bacteria: a review. **Botanica Serbica**, v. 44, n. 2, p. 103-120, 2020.

KINUPP, V. F. Espécies Alimentícias Nativas da Região Sul do Brasil. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Ed.). **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial: Plantas para o Futuro – Região Sul**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011. p. 107-110.

KLAFKE, J. Z. **Efeitos da Campomanesia xanthocarpa em parâmetros bioquímicos, hematológicos e de estresse oxidativo em pacientes hipercolesterolêmicos**. Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul, 2009.

DE KLERK, G. J. Rooting of microcuttings: theory and practice. **In vitro cellular & developmental biology. Plant**, p. 415-422, 2002.

KUMAR, N.; REDDY, M. P. *In vitro* plant propagation: a review. **Journal of forest and environmental science**, v. 27, n. 2, p. 61-72, 2011.

LAL, M.; JAMWAL, M.; SOOD, Y.; BAKSHI, P.; SHARMA, N.; SHARMA, S.; KUMAR, S. Micropropagation of fruit crops: a review. **Plant Science Today**, v. 10, n. 1, p. 108-117, 2023.

LENTH, R. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. **R package version 1.8.2**. 2023. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>>. Acesso em: 10 mar. 2023.

LIMA, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 422-438, 2011.

LISBÔA, G. V.; KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. de. *Campomanesia xanthocarpa* Guabiroba. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Ed.). **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial: Plantas para o Futuro – Região Sul**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011. p. 159-162.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**. USA., v. 30, p. 421-427, 1980.

LONG, Y.; YANG, Y.; PAN, G.; SHEN, Y. New insights into tissue culture plant-regeneration mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

LORENZI, H.; DE LACERDA, M. T. C.; BACHER, L. B. **Frutas no Brasil Nativas e Exóticas (de consumo in natura)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2015.

MACHADO, J. S. **Micropropagação de Guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg – Myrtaceae) por Multiplicação de Gemas Axilares e Embriogênese Somática**. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2018.

MACHADO, J. S.; DEGENHARDT, J.; MAIA, R. F.; QUOIRIN, M. Micropropagation of *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae), a medicinal tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Trees**, p. 1-9, 2020.

MAGGIONI, R. D. A.; LATOH, L. P.; VIEIRA, L. M.; NETTO, E. R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. *Ginkgo biloba* L. mini-cuttings: indole butyric acid, substrates, and biochemical composition of the mother plants. **Agrochimica Colombiana**, v. 38, n. 3, p. 429-435, 2020.

MARIN, R.; APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; RASEIRA, M. C.; PEREIRA, J. F.; ZUANAZZI, J. A.; HENRIQUES, A. T. Volatile components and antioxidant activity

from some Myrtaceous fruits cultivated in Southern Brazil. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 2, p. 172, 2008.

MARTINS, M.; GOMES, A. F. G.; DA SILVA, É. M.; DA SILVA, D. F.; PECHE, P. M.; MAGALHÃES, T. A.; PIO, R. Effects of anatomical structures and phenolic compound deposition on the rooting of olive cuttings. **Rhizosphere**, v. 23, 2022.

DE MARCHESE, A. M.; FILIPPONE, M. P. Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible: Bio-products: key components of sustainable agriculture. **Revista Agronómica del Noroeste Argentino**, v. 38, n. 1, p. 9-21, 2018.

MELCHIOR, S. J.; CUSTÓDIO, C. C.; MARQUES, T. A.; MACHADO NETO, N. B. Colheita e armazenamento de sementes de gabioba (*Campomanesia adamantium* Camb. - Myrtaceae) e implicações na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 141-150, 2006.

MENDES, I. de C.; REIS JUNIOR, F. B.; DA CUNHA, M. H. 20 perguntas e respostas sobre fixação biológica de nitrogênio. **Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E)**, 2010. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/883833/1/doc281.pdf>>. Acesso em: 14 mar. 2023.

MENDONÇA, E. G.; BATISTA, T. R.; STEIN, V. C.; BALIEIRO, F. P.; DE ABREU, J. R.; PIRES, M. F.; DE SOUZA, P. A.; PAIVA, L. V. *In vitro* serial subculture to improve rooting of *Eucalyptus urophylla*. **New Forests**, v. 51, p. 801-816, 2020.

MESSIER, C.; BAUHUS, J.; SOUSA-SILVA, R. For the sake of resilience and multifunctionality, let's diversify planted forests!. **Conservation Letters**, v. 15, n. 1, 2022.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. Conceitos – Conheça a base conceitual do Programa Nacional de Bioinsumos. **Ministério da Agricultura e Pecuária**. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitos>>. Acesso em: 22 mar. 2023.

MISHRA, A.; CHAUHAN, P. S.; CHAUDHRY, V.; TRIPATHI, M.; NAUTIYAL, C. S. Rhizosphere competent *Pantoea agglomerans* enhances maize (*Zea mays*) and chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth, without altering the rhizosphere functional diversity. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 100, p. 405-413, 2011.

MORAL, R. de A.; HINDE, J.; DEMÉTRIO, C. G. B. Half-normal plots and overdispersed models in R: the hnp package. **Journal of Statistical Software**, v. 81, n. 10, 2017.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição. Editora UFLA, 2006.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

MUTHULAKSHMI, V.; VIJAYAM, C. V.; BACHPAI, V. K. W.; SIVAKUMAR, V.; MUTHULAKSHMI, E.; SHANMUGAVEL, S.; PARVEEN, A. B. M.; YASODHA, R.; RAJASUGUNASEKAR, D.; NAGARAJAN, B.; MAYAVEL, A.; DASGUPTA, M. G. Genetic control of adventitious rooting traits in bi-parental pedigree of *Eucalyptus tereticornis* × *E. camaldulensis*. **New Forests**, v. 52, p. 585-603, 2021.

NADAL, M. C.; FERREIRA, G. M. dos R.; ANDRADE, G. V. S.; BUTTRÓS, V. H.; RODRIGUES, F. A.; DA SILVA, C. M.; MARTINS, A. D.; RUFATO, L.; LUZ, J. M. Q.; DÓRIA, J.; PASQUAL, M. Endophytic Bacteria Can Replace the Need for Synthetic Auxin during *In Vitro* Rooting of *Pyrus communis*. **Agronomy**, v. 12, n. 5, 2022.

NASCIMENTO, A. da C.; PAIVA, R.; ABBADE, L. C.; VARGAS, D. P.; SOARES, F. P. Micropropagação de uvaieira, *Eugenia pyriformis* Cambess: efeitos do BAP e AIB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 3, n. 2, p. 20-26, 2008.

O'BRIEN, T.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, L. S. de; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa florestal brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.

OLIVEIRA, M. I. U. de; REBOUÇAS, D. A.; LEITE, K. R. B.; OLIVEIRA, R. P. de; FUNCH, L. S. Can leaf morphology and anatomy contribute to species delimitation? A case in the *Campomanesia xanthocarpa* complex (Myrtaceae). **Flora**, v. 249, p. 111-123, 2018.

OLIVEIRA, M. I. U.; COSTA, I. R.; PROENÇA, C. E. B. *Campomanesia* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB10335>. Acesso em: 07 mar. 2023

OLTRAMARI, A. C.; DAL VESCO, L. L.; PEDROTTI, E. L.; DUCROQUET, J. P. H. J.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Protocolo de micropropagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). **Ciência Rural**, v. 30, p. 61-68, 2000.

OPEÑA, J. M.; SOTTO, R. C.; SALAZAR, B. M.; PROTACIO, C. M. Morpho-anatomical investigation on the adventitious rooting of hard-to-root Excelsa coffee (*Coffea excelsa* A. Chev.) stem cuttings. **Philippine Agricultural Scientist**, v. 103, n. 4, p. 303-310, 2020.

PAIVA, J. G. A. D.; FANK-DE-CARVALHO, S. M.; MAGALHÃES, M. P.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. **Acta botanica brasílica**, v. 20, p. 257-264, 2006.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; SANTOS, P. E. T. dos. **Escolha de cultivares de eucaliptos em função do ambiente e do uso**. Comunicado Técnico 316. Embrapa, Colombo, Paraná, 2013.

PHILLIPS, G. C.; GARDA, M. Plant tissue culture media and practices: an overview. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 55, n. 3, p. 242-257, 2019.

POKE, F. S.; VAILLANCOURT, R. E.; POTTS, B. M.; REID, J. B. Genomic research in *Eucalyptus*. **Genetica**, v. 125, p. 79-101, 2005.

PRIMAK, T. K.; LIMA, C. M.; CASSARINO, J. P. Ácido indolacético e ácido indolbutírico, na reprodução vegetativa da Guabirola (*Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg) via estaquia. In: **VII Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS**, v. 7 n. 1. Laranjeiras do Sul, 2017.

PRINSEN, E.; COSTACURTA, A.; MICHIELS, K.; VANDERLEYDEN, J.; VAN ONCKELEN, H. *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 6, p. 609-615, 1993.

PROENÇA, C. E. B.; AMORIM, B. S.; ANTONICELLI, M. C. ; BÜNGER, M.; BURTON, G. P.; CALDAS, D.K.D.; COSTA, I.R.; FARIA, J.E.Q.; FERNANDES, T.; GAEM, P.H.; GIARETTA, A.; LIMA, D.F.; LOURENÇO, A.R.L.; LUCAS, E.J.; MAZINE, F.F.; MEIRELES, L.D.; OLIVEIRA, M.I.U.; PIZZARDO, R.C.; ROSA, P.O.; SANTANA, K.C.; SANTOS, L.L.D.; SANTOS, M.F.; SOUZA, M.C.; SOUZA, M.A.D.; STADNIK, A.; STAGGEMEIER, V.G.; TULER, A.C.; VALDEMARIN, K.S.; VASCONCELOS, T.N.C.; VIEIRA, F.C.S.; WALTER, B.M.T.; SOBRAL, M. **Myrtaceae in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>. Acesso em: 07 mar. 2023.

QUAMBUSCH, M.; PIRTTLA, A. M.; TEJESVI, M. V.; WINKELMANN, T.; BARTSCH, M. Endophytic bacteria in plant tissue culture: differences between easy and difficult-to-propagate *Prunus avium* genotypes. **Tree Physiology**, v. 34, n. 5, p. 524-533, 2014.

QUEIROZ, E.G.; DEGENHARDT, J.; QUOIRIN, M.; DA SILVA, K. Endophytic bacteria associated with tissue culture and leaves of *Plinia peruviana*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55, 2020.

QUEIROZ, L. M. R. de. **Resposta da rizogênese em miniestacas de clones de *Eucalyptus* spp. à utilização de fitohormônio**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade de Brasília, Brasília (DF), 2014.

RASEIRA, M. C. B.; ANTUNES, L. E. C.; TREVISAN, R.; GONÇALVES, E. D. **Espécies frutíferas nativas do Sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004.

RASHID, S.; CHARLES, T. C.; GLICK, B. R. Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. **Applied soil ecology**, v. 61, p. 217-224, 2012.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. Nova Iorque: W. H. Freeman and Company, 2007

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**. Vienna, Austria, 2023. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em 10 mar. 2023.

RIBEIRO, V. C.; LEITÃO, C. A. E. (2020) Utilisation of Toluidine blue O pH 4.0 and histochemical inferences in plant sections obtained by free-hand. **Protoplasma**, v. 257, n. 3, p. 993-1008, 2020.

RIGBY, R. A.; STASINOPOULOS, D. M. Generalized additive models for location, scale and shape. **Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)**, v. 54, n. 3, p. 507-554, 2005.

RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JÚNIOR, V. A.; VICTOR, O. Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. citri tipo B. **Summa Phytopathol**, v. 12, p. 16, 1986.

ROSS, S.; PECHI, E.; SPERONI, G.; VIGNALE, B.; SPERANZA, P.; CASTILLO, A.; CABRERA, D. *In vitro* rooting of *Acca sellowiana* microshoots. **Acta Hortic.**, v. 1155, p. 537-542, 2017.

ROSS, S.; SPERONI, G.; SOUZA-PÉREZ, M.; ÁVILA, N.; PIETRO, F.; GONZÁLEA, A. M.; SPERANZA, P. Stem-cutting anatomy and biochemical responses associated with competence for adventitious root differentiation in *Acca sellowiana* (Myrtaceae). **Trees**, p. 1-12, 2021.

SABER, F. R.; MUNEKATA, P. E. S.; RIZWAN, K.; EL-NASHAR, H. A. S.; FAHMY, N. M.; ALY, S. H.; EL-SHAZLY M.; BOUYAHYA, A.; LORENZO, J. M. Family Myrtaceae: The treasure hidden in the complex/diverse composition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-19, 2023.

SÁ, F. P. de; GOMES, E. N.; MAGGIONI, R. DE A.; WENDLING, I.; HELM, C. V.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Biochemical and anatomical features of adventitious rhizogenesis in apical and basal mini-cuttings of *Ilex paraguariensis*. **New Forests**, p. 1-20, 2022.

SAIBERT, P. C. S.; ROMAGNOLO, M. B.; ALBIERO, A. L. M. Comparação morfoanatômica de folhas de *Campomanesia xanthorcapa* O. Berg e *Campomanesia guaviroba* (DC.) Kiaersk. (Myrtaceae) como contribuição a farmacognosia. **Visão Acadêmica**, v. 19, n. 3, 2018.

SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre: Sagra, 1989. p. 306.

SANT'ANA, C. R. de O.; PAIVA, R.; REIS, M. V. dos; SILVA, D. P. C. da; SILVA, L. C. *In vitro* propagation of *Campomanesia rufa*: An endangered fruit species. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 4, p. 372-380, 2018.

SANTAROSA, E.; PENTEADO JÚNIOR, J. F.; GOULART, I. C. G. dos R. **Transferência de Tecnologia Florestal. Cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda**. Distrito Federal, Brasília: Embrapa, 2014.

SANTORO, M. B.; BROGIO, B. D. A.; TANAKA, F. A. O.; JACOMINO, A. P.; SILVA, R. M. P. Adventitious rooting and anatomical aspects of *Campomanesia phaea* stems. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 44, 2022.

SANTOS, C. M. R.; FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, E. A. Características de frutos e germinação de sementes de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 14, n. 2, p. 13-20, 2004.

SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. del C.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological research**, v. 183, p. 92-99, 2016.

SCUTTI, M. B.; ZANETTE, F. Propagação vegetativa da guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) *in vitro* e por estaquia. **Scientia Agraria**, v.1, n 12, p. 75-82, 2000.

SENG HUA, L.; WEI CHEN, L.; ANTOV, P.; KRISTAK, L.; MD TAHIR, P. Engineering wood products from *Eucalyptus* spp. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2022, p. 1-14, 2022.

SILVA, K. D.; QUISEN, R. C.; GOLDBACH, J. D.; PEPE, K. B. F.; KALIL FILHO, A. N. Plant growth-promoting endophytic bacteria in peach palm seedlings. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 57, 2022.

SINGH, A. Micropropagation of plants. In: BAHADUR, B.; RAJAM, M. V.; SAHIJRAM, L.; KRISHNAMURTHY, K. (Ed.). **Plant Biology and Biotechnology**. New Delhi: Springer, 2015. p. 329-346.

SINGH, M.; KUMAR, A.; SINGH, R.; PANDE, K. D. Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. **3 Biotech**, v. 7, n. 5, p. 1-14, 2017.

SOUMARE, A.; DIÉDHIOU, A. G.; ARORA, N. K.; TAWFEEQ AL-ANI, L. K.; NGOM, M.; FALL, S.; HAFIDI, M.; OUHDOUCH, Y.; KOUISNI, L.; SY, M. O. Potential role and utilization of plant growth promoting microbes in plant tissue culture. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021.

SOUSA, C. E. de; OLIVEIRA, F. L. R.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Physiological and anatomical aspects of the rooting of *Brunfelsia pauciflora* cuttings. **Scientia Horticulturae**, v. 307, p. 111491, 2023.

SOUZA, F. P. de; CASTILHO, T. P. R.; MACEDO, L. O. B. An institutional framework for Bioinputs in Brazilian agriculture based on Ecological Economics. **Sustainability in Debate**, v. 13, n. 1, p. 247-247, 2022.

SOUZA, G. L. O. D. de; DA SILVA, D. F.; NIETSCHE, S.; XAVIER, A. A.; PEREIRA, M. C. T. Endophytic Bacteria Used As Bioinoculants In Micropropagated Banana Seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 2, 2017.

STANTURF, J. A.; VANCE, E. D.; FOX, T. R.; KIRST, M. Eucalyptus beyond its native range: environmental issues in exotic bioenergy plantations. **International Journal of Forestry Research**, v. 2013, 2013.

STUEPP, C. A.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Successive mini-cuttings collection in *Piptocarpha angustifolia* mini-stumps: effects on maturation, adventitious root induction and root vigor. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 39, p. 245-253, 2017.

SUZUKI, S.; HE, Y.; OYAIZU, H. Indole-3-acetic acid production in *Pseudomonas fluorescens* HP72 and its association with suppression of creeping bentgrass brown patch. **Current microbiology**, v. 47, p. 138-143, 2003.

TAHA, Y. A. E.; SAHAR, A. A. M. A. S. Taxonomic significance of anatomical characters in some species of the family Myrtaceae. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2012, 2012.

TAIZ L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular biology and evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

TELEGINSKI, F. **Propagação vegetativa e germinação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2016.

TELEGINSKI, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S.; DEGENHARDT-GOLDBACH, J.; TELEGINSKI, E. Resgate Vegetativo de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg por Alporquia. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 2, p. 820-826, 2018.

TENKORANG, F.; LOWENBERG-DEBOER, J. Forecasting long-term global fertilizer demand. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 83, p. 233-247, 2009.

TIAN, B. Y.; CAO, Y.; ZHANG, K. Q. Metagenomic insights into communities, functions of endophytes and their associates with infection by root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato roots. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, 2015.

TRIVEDI, P.; LEACH, J. E.; TRINGE, S. G.; SA, T.; SINGH, B. K. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. **Nature reviews microbiology**, v. 18, n. 11, p. 607-621, 2020.

UN ENVIRONMENT. Global Environment Outlook (GEO-6): Healthy Planet, Healthy People. Nairobi, Kenya: UNEP, 2019.

VALDEMARIN, K. S.; CAMARGO, P. H. S. A.; MORENO, D. J.; SOUZA, V. C.; LUCAS, E.; MAZINE, F. F. *Eugenia paranapanemensis* (Myrtaceae), the Pitanga-amarela, and a Key to *Eugenia* sect. *Eugenia* Species from São Paulo State, Brazil. **Systematic Botany**, v. 47, n. 2, p. 498-505, 2022.

VENABLES, W. N.; RIPLEY, B. D. **Modern applied statistics with S** (4^a ed.). Estados Unidos, Nova Iorque: Springer, 2002.

VIEIRA, P. H. M. **Caracterização morfofisiológica e sensibilidade à dessecação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg (Myrtaceae)**. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (SC), 2019.

VILASBOA, J.; COSTA, C. T. da, FETT-NETO, A. G. Environmental Modulation of Mini-Clonal Gardens for Cutting Production and Propagation of Hard-and Easy-to-Root *Eucalyptus* spp. **Plants**, v. 11, n. 23, 2022.

WENDLING, I.; BROOKS, P. R.; TRUEMAN, S. J. Topophysis in *Corymbia torelliana* × *C. citriodora* seedlings: adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. **New forests**, v. 46, p. 107-120, 2015.

WENDLING, I.; DUTRA, L.F. **Solução nutritiva para condução de minicepas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. (Circular Técnica, 157). Paraná: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Florestas, 2008.

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, 2005a.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência da miniestaquia seriada no vigor radicular de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.5, p.681-689, 2005b.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Estados Unidos, Nova Iorque: Springer-Verlag, 2016.

WILSON, D. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. **Oikos**, p. 274-276, 1995.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; DA SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. 3 ed., Editora UFV, Viçosa (MG), 2021.

ZHANG, M.; TANG, H.; WANG, D.; REN, S.; LIU, R. A study of rooting characteristics and anatomical structure of feijoa cuttings. **Agricultural Journal**, v. 4, n. 2, p. 86-90, 2009.

ZHANG, Z.; SCHWARTZ, S.; WAGNER, L.; MILLER, W. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. **Journal of Computational biology**, v. 7, n. 1-2, p. 203-214, 2000.

ZUUR, A. F.; IENO, E. N.; WALKER, N. J.; SABELIEV, A. A.; SMITH, G. M. **Mixed effects models and extensions in ecology with R**. Estados Unidos, Nova Iorque: Springer eBooks, 2009.

APÊNDICES

APÊNDICE 1: EFEITO DA INOCULAÇÃO DE DIFERENTES BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS EM MICROESTACAS DE *Campomanesia xanthocarpa* APÓS CULTIVO DURANTE 42 DIAS EM MEIO DE CULTURA WPM NO ENSAIO 1.

Tratamento	Taxa de enraizamento (%)	Número de raízes formadas	Comprimento da raiz mais longa (cm)	Número de folhas	Comprimento da parte aérea (cm)
<i>A. brasilense</i>	36,7 ^a	1,4 ^{ns}	1,5 ^a	4,9 ^a	2,3 ^a
AIB	10,0 ^b	2,3 ^{ns}	0,9 ^{ab}	4,4 ^a	1,9 ^{bc}
CNPF 1	20,0 ^{ab}	1,5 ^{ns}	1,8 ^a	5,0 ^a	2,2 ^a
CNPF 11	-	-	-	0,7 ^e	1,6 ^e
CNPF 12	6,7 ^b	1,5 ^{ns}	0,5 ^b	3,9 ^{ab}	2,2 ^{ab}
CNPF 14	20,0 ^{ab}	1,4 ^{ns}	0,6 ^b	4,5 ^a	2,2 ^{ab}
CNPF 2	4,0 ^b	2,0 ^{ns}	-	2,2 ^{cd}	1,8 ^{cd}
CNPF 25	8,0 ^b	2,0 ^{ns}	0,5 ^b	2,3 ^{bc}	2,0 ^{abc}
CNPF 51	-	-	-	1,1 ^{de}	1,6 ^{de}
Controle	20,0 ^{ab}	1,3 ^{ns}	1,9 ^a	4,2 ^a	2,3 ^a

Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 µM de AIB; *A. brasilense*: *Azospirillum brasilense*; CNPF 1, CNPF 11, CNPF 12, CNPF 14, CNPF 2, CNPF 25, CNPF 51: estirpes de bactérias endofíticas. Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey (p < 0.05). ns = não significativo.

APÊNDICE 2: EFEITO DA INOCULAÇÃO DE DIFERENTES BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS EM MICROESTACAS DE *Campomanesia xanthocarpa* APÓS CULTIVO DURANTE 42 DIAS EM MEIO DE CULTURA WPM NO ENSAIO 2.

Tratamento	Taxa de enraizamento (%)	Número de raízes formadas	Comprimento da raiz mais longa (cm)	Número de folhas	Comprimento da parte aérea (cm)
<i>A. brasilense</i>	11,5 ^b	1,0 ^b	2,0 ^{ns}	3,0 ^a	1,8 ^{abc}
AIB	28,0 ^{ab}	2,3 ^a	1,3 ^{ns}	3,3 ^a	1,9 ^{ab}
CNPF 10	8,0 ^b	1,0 ^{ab}	0,7 ^{ns}	1,1 ^b	1,8 ^{abc}
CNPF 22	20,0 ^{ab}	1,4 ^{ab}	0,6 ^{ns}	2,4 ^a	1,7 ^{bc}
CNPF 23	56,7 ^a	1,4 ^{ab}	1,7 ^{ns}	2,9 ^a	1,7 ^{bc}
CNPF 3	8,0 ^b	1,0 ^{ab}	0,3 ^{ns}	1,8 ^a	1,6 ^c
Controle	13,3 ^b	1,8 ^{ab}	2,3 ^{ns}	2,9 ^a	2,0 ^a

Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 µM de AIB; *A. brasilense*: *Azospirillum brasilense*; CNPF 10, CNPF 22, CNPF 23, CNPF 3: estirpes de bactérias endofíticas. Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey (p < 0.05). ns = não significativo.

APÊNDICE 3: EFEITO DA INOCULAÇÃO DE DIFERENTES BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS EM MICROESTACAS DE *Campomanesia xanthocarpa* APÓS CULTIVO DURANTE 42 DIAS EM MEIO DE CULTURA WPM NO ENSAIO 3.

Tratamento	Taxa de enraizamento (%)	Número de raízes formadas	Comprimento da raiz mais longa (cm)	Número de folhas	Comprimento da parte aérea (cm)
<i>A. brasilense</i>	13,0 ^{ns}	1,6 ^{ns}	1,6 ^a	3,5 ^{ns}	1,8 ^b
AIB	23,0 ^{ns}	2,0 ^{ns}	0,6 ^b	2,7 ^{ns}	1,7 ^b
CNPF 33	43,3 ^{ns}	1,7 ^{ns}	1,1 ^{ab}	3,2 ^{ns}	1,7 ^b
CNPF 4	24,0 ^{ns}	1,2 ^{ns}	0,8 ^{ab}	3,2 ^{ns}	1,8 ^b
Controle	24,0 ^{ns}	2,0 ^{ns}	1,3 ^{ab}	4,0 ^{ns}	2,0 ^a

Controle: WPM sem regulador do crescimento vegetal e explante sem inoculação por bactéria; AIB: WPM com 4,9 µM de AIB; *A. brasilense*: *Azospirillum brasilense*; CNPF 33, CNPF 4: estirpes de bactérias endofíticas. Dados com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). ns = não significativo.