

# CIÊNCIAS AGRÁRIAS, INDICADORES E SISTEMAS DE PRODUÇÃO SUSTENTÁVEIS



**Pedro Henrique Abreu Moura**  
**Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro**  
(Organizadores)

**Atena**  
Editora  
Ano 2021

# CIÊNCIAS AGRÁRIAS, INDICADORES E SISTEMAS DE PRODUÇÃO SUSTENTÁVEIS



**Pedro Henrique Abreu Moura**  
**Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro**  
(Organizadores)

**Atena**  
Editora  
Ano 2021

**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Gabriel Motomu Teshima

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2021 Os autores

Copyright da edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

**Conselho Editorial****Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados

Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Gírlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfnas

## Ciências agrárias, indicadores e sistemas de produção sustentáveis 2

**Diagramação:** Camila Alves de Cremo  
**Correção:** Yaiddy Paola Martinez  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** Os autores  
**Organizadores:** Pedro Henrique Abreu Moura  
Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C569 Ciências agrárias, indicadores e sistemas de produção sustentáveis 2 / Organizadores Pedro Henrique Abreu Moura, Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5983-701-4

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.014212911>

1. Ciências agrárias. I. Moura, Pedro Henrique Abreu (Organizador). II. Monteiro, Vanessa da Fontoura Custódio. III. Título.

CDD 630

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

**Atena Editora**

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

## APRESENTAÇÃO

A agricultura faz parte da área do conhecimento denominada de Ciências Agrárias. Importante para garantir o crescimento e manutenção da vida humana no planeta, a agricultura precisa ser realizada de forma responsável, considerando os princípios da sustentabilidade.

Esta obra, intitulada “Ciências agrárias, indicadores e sistemas de produção sustentáveis 2”, apresenta-se em três volumes que trazem uma diversidade de artigos sobre agricultura produzidos por pesquisadores brasileiros e de outros países.

Neste segundo volume, estão agrupados os trabalhos que abordam temáticas sobre culturas hortícolas, grandes culturas como cana-de-açúcar e soja, pastagens e outros temas correlacionados a produção agrícola.

Agradecemos aos autores dos capítulos pela escolha da Atena Editora. Desejamos a todos uma ótima leitura e convidamos para apreciarem também os outros volumes desta obra.

Pedro Henrique Abreu Moura  
Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro



## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

HORTICULTURA DO MARANHÃO PORTUGUÊS NOS SÉCULOS XVII E XIX: CONTRIBUIÇÕES DA PESQUISA DOCUMENTAL A PARTIR DAS OBRAS DOS MISSIONÁRIOS CRISTÓVÃO DE LISBOA E FRANCISCO DE NOSSA SENHORA DOS PRAZERES

Jairo Fernando Pereira Linhares

Maria Ivanilde de Araujo Rodrigues

Angela de Cassia Costa

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0142129111>

### **CAPÍTULO 2..... 15**

A EXPANSÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR EM DIREÇÃO AO CERRADO NO ESTADO DE GOIÁS – BRASIL

João Baptista Chieppe Junior


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0142129112>

### **CAPÍTULO 3..... 26**

REDUCCIÓN DE COSTES DE MANTENIMIENTO MEDIANTE ANÁLISIS DE FIABILIDAD EN ACTIVOS DEL SECTOR AZUCARERO

Jose Miguel Salavert Fernández

Rubén Darío Ramos Ciprián

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0142129113>

### **CAPÍTULO 4..... 41**


MUDANÇAS NAS DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES E AL NO SOLO, RELAÇÕES CLIMÁTICAS E CONSEQUÊNCIAS NA PRODUTIVIDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Dagles Ferreira Lopes

João Pedro de Barros Reicao Cordido

Josimar Nogueira Batista

Luciana Aparecida Rodrigues

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0142129114>


### **CAPÍTULO 5..... 53**

AS TECNOLOGIAS DE PLANTIO DA CANA-DE-AÇÚCAR E USO DE HERBICIDAS NO CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS

Fabrcio Simone Zera

Leticia Serpa dos Santos

Alice Deléo Rodrigues


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0142129115>

### **CAPÍTULO 6..... 66**

MEJORA DEL MANTENIMIENTO EN EL PROCESADO DE CAÑA DE AZÚCAR MEDIANTE LA DOCUMENTACIÓN. CASO DE ESTUDIO EN REPÚBLICA DOMINICANA

Rubén Darío Ramos Ciprián


Jose Miguel Salavert Fernández

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0142129116>

**CAPÍTULO 7..... 80**

ÍNDICE SPAD PARA MONITORAMENTO DA ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA DA BRAQUIÁRIA SUBMETIDA AO ESTRESSE HÍDRICO


Natália Fernandes Rodrigues  
Germana de Oliveira Carvalho  
Silvio Roberto de Lucena Tavares  
Guilherme Kangussu Donagemma  
Eliane de Paula Clemente

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0142129117>

**CAPÍTULO 8..... 87**

TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO DE *BRACHIARIA BRIZANTHA* SOB EFEITO DE FERTILIZANTES A BASE DE ESCÓRIAS DE SIDERURGIA


Germana de Oliveira Carvalho  
Natália Fernandes Rodrigues  
Silvio Roberto de Lucena Tavares  
Guilherme Kangussu Donagemma  
Eliane de Paula Clemente

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0142129118>

**CAPÍTULO 9..... 92**

PRODUÇÃO DE MASSA SECA, VOLUME RADICULAR E EFICIÊNCIA NUTRICIONAL DE FÓSFORO EM *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e Massai (*Panicum maximum* x *P. infestum*)


Elizeu Luiz Brachtvogel  
Andre Luis Sodré Fernandes  
Luis Lessi dos Reis

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0142129119>

**CAPÍTULO 10..... 109**

DOSES DE ÁCIDO HÚMICO SOBRE O DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DA CEBOLA

Regina Maria Quintão Lana  
Mara Lúcia Martins Magela  
Luciana Nunes Gontijo  
José Magno Queiroz Luz  
Reginaldo de Camargo  
Lírian França Oliveira


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291110>

**CAPÍTULO 11..... 118**

SELEÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA ORQUÍDEA *Cymbidium* sp.

Lílian Estrela Borges Baldotto


Júlia Brandão Gontijo  
Gracielle Vidal Silva Andrade  
Marihus Altoé Baldotto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291111>

**CAPÍTULO 12..... 132**

**ANÁLISE DA PERDA DE BANANA NOS ESTABELECIMENTOS COMERCIALIZADORES DO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP**


Teresa Cristina Castilho Gorayeb  
Maria Vitória Cecchetti Gottardi Costa  
Adriano Luis Simonato  
Nelson Renato Lima  
Renato Coelho Uliana  
Thamiris Antiqueira Cardoso

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291112>

**CAPÍTULO 13..... 145**

**AVALIAÇÃO DE CULTIVARES DE CANOLA NAS CONDIÇÕES DE PONTA PORÃ – MS**


Darian Ian Bresolin Pereira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291113>

**CAPÍTULO 14..... 148**

**INFLUÊNCIA DO HIDROCONDICIONAMENTO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA**


Graciela Beatris Lopes  
Thayná Cristina Stofel Andrade  
Camila Gianlupi  
Tathiana Elisa Masetto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291114>

**CAPÍTULO 15..... 157**

**ESCALADA DA SOJA GM E DO GLIFOSATO, NO BRASIL, ENTRE 2011 E 2018**


Cleiva Schaurich Mativi  
Pierre Girardi  
Sofia Inés Niveiros

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291115>

**CAPÍTULO 16..... 171**

**CRESCIMENTO, BIOMASSA, EXTRAÇÃO E EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DE NUTRIENTES POR PLANTAS DE COBERTURA**


Valdevan Rosendo dos Santos  
Leonardo Correia Costa  
Antonio Márcio Souza Rocha  
Cícero Gomes dos Santos  
Márcio Aurélio Lins dos Santos  
Flávio Henrique Silveira Rabêlo  
Renato de Mello Prado

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291116>

**CAPÍTULO 17..... 194**

QUANTITATIVE ANALYSIS OF PERFORMANCE AND STABILITY OF A LONG AND THIN GRAIN RICE GENOTYPE FOR RICE-GROWING REGION OF MICHOACAN, MEXICO

Juan Carlos Álvarez Hernández

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291117>

**CAPÍTULO 18..... 209**

ANÁLISE DE SOLO EM PROPRIEDADES DA REGIÃO SERRANA E DO PLANALTO MÉDIO DO RIO GRANDE DO SUL

Vanessa Battistella

Lucas André Riggo Piton

Luana Dalacorte

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291118>

**CAPÍTULO 19..... 217**

OLIVEIRA, A ANTIGA ARTE DE NÃO MORRER DE FOME NEM DE SEDE: ESTUDOS NO BAIXO ALENTEJO

Maria Isabel Ferreira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.01421291119>

**SOBRE OS ORGANIZADORES ..... 225**

**ÍNDICE REMISSIVO..... 226**

## SELEÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA ORQUÍDEA *Cymbidium* sp.

Data de aceite: 01/11/2021

Data de submissão: 20/09/2021

### Lílian Estrela Borges Baldotto

Universidade Federal de Viçosa, Campus Florestal  
Florestal – Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/1050136826112749>

### Júlia Brandão Gontijo

Universidade de São Paulo – Centro de Energia Nuclear na Agricultura  
Piracicaba – São Paulo  
<http://lattes.cnpq.br/8888009100358338>

### Gracielle Vidal Silva Andrade

Universidade Federal de Lavras  
Lavras – Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/0923068655147596>

### Marius Altoé Baldotto

Universidade Federal de Viçosa – Campus Florestal  
Florestal – Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/3927892593585823>

**RESUMO:** Inoculantes contendo bactérias que promovem o crescimento das plantas podem aumentar a produtividade e diminuir o custo econômico e ambiental nos sistemas de cultivo. Dentro deste contexto, no setor de flores e plantas ornamentais, o uso de bactérias diazotróficas é uma abordagem promissora para melhorar a adaptação de orquídeas propagadas por cultura de tecidos ao ambiente *ex vitro*. Foi realizado o

isolamento de bactérias diazotróficas das raízes e folhas de *Cymbidium* sp. Os isolados foram usados para inocular mudas de *Cymbidium* sp. durante a aclimatização no viveiro. Após 150 dias, as plantas foram coletadas e avaliadas suas características morfológicas e nutricionais. Oito estirpes bacterianas foram isoladas contendo características que promovem o crescimento das plantas: *Bacillus thuringiensis*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia gladioli*, *Herbaspirillum frisingense*, *Pseudomonas stutzeri*, *Rhizobium cellulosilyticum*, *Rhizobium radiobacter* e *Stenotrophomonas maltophilia*. Os isolados *Herbaspirillum frisingense* e *Stenotrophomonas maltophilia* incrementaram 26% e 29% na matéria seca de plantas de *Cymbidium* sp., respectivamente, em comparação com o controle. Além disso, *H. frisingense* incrementou os teores de N e P, em 68% e 28%, respectivamente, do que aqueles encontrados nas plantas controle. Esses isolados, portanto, têm potencial para aplicação como bioestimulantes e biofertilizantes para promover o crescimento e desenvolvimento de *Cymbidium* sp. durante a aclimatização.

**PALAVRAS-CHAVE:** Orchidaceae, bactérias diazotróficas, bactérias solubilizadoras de fosfato, aclimatização.

### SELECTION OF GROWTH-PROMOTING BACTERIA FOR *Cymbidium* sp. ORCHIDS

**ABSTRACT:** Inoculants containing bacteria which promote growth in plants can increase productivity and both the economic and the environmental cost in plant crop systems. Similarly, in the flower and ornamental plant sector, the use of diazotrophic bacteria is a promising approach for improving

orchid propagation from tissue culture to the ex vitro environment. We isolated diazotrophic bacteria from the roots and leaves of *Cymbidium* sp. The isolates were used to inoculate *Cymbidium* sp. plantlets during acclimatization in the nursery. After 150 days, plants were collected and their morphological and nutritional characteristics assessed. Eight bacterial strains were isolated containing traits that promote plant growth: *Bacillus thuringiensis*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia gladioli*, *Herbaspirillum frisingense*, *Pseudomonas stutzeri*, *Rhizobium cellulosilyticum*, *Rhizobium radiobacter*, and *Stenotrophomonas maltophilia*. The isolated *Herbaspirillum frisingense* and *Stenotrophomonas maltophilia* increased 26 % and 29 % in dry matter in *Cymbidium* sp. plants, respectively, compared to the control. In addition, *H. frisingense* led to higher contents of N and P, by 68 % and 28 %, respectively, than those found in the control plants. These isolates, therefore, have potential for application as biostimulants and biofertilizers to promote growth and development of *Cymbidium* sp. during acclimatization.

**KEYWORDS:** Orchidaceae, diazotrophic bacteria, phosphate-solubilizing bacteria, endophytic bacteria, acclimatization.

## 1 | INTRODUÇÃO

A agricultura sustentável requer a utilização de estratégias que permitam o aumento da produtividade sem o prejuízo ao meio ambiente, abrindo novas perspectivas para contribuir no desenvolvimento de novas tecnologias, métodos e estratégias na agroindústria. Os processos mediados pelos microrganismos tornam-se essenciais na preservação e na conservação dos recursos naturais.

Dentre essas novas tecnologias, a formulação de inoculantes e/ou biofertilizantes contendo bactérias promotoras de crescimento e proteção de plantas tem apresentado resultados satisfatórios para várias culturas (Hallmann et al., 1997; Baldotto et al., 2010). A promoção do crescimento de plantas pela inoculação de bactérias se deve não apenas à fixação biológica de nitrogênio, como também a vários fatores, dentre os quais se destacam a solubilização de fosfatos naturais, óxidos de zinco, a síntese de fitohormônios, a síntese de sideróforos, o controle biológico e a indução de resistência sistêmica na planta hospedeira (Hallmann et al., 1997).

A expansão do setor de floricultura e plantas ornamentais associada à possibilidade de utilizar bactérias diazotróficas como potenciais agentes do crescimento e proteção de plantas, incentiva a realização de pesquisas visando não apenas compreender as interações entre bactérias-orquídeas, como também, realizar o isolamento, caracterização e re-introdução das bactérias promotoras de crescimento no ambiente de cultivo. Para o cultivo de plantas propagadas in vitro, por exemplo, a formulação de inoculantes contendo bactérias promotoras de crescimento seria importante para acelerar o desenvolvimento das plântulas e diminuir o longo período necessário de aclimatização das mudas em casa-de-vegetação (Baldotto et al., 2010; Galdiano et al., 2011; Faria et al., 2013).

Dentre as orquídeas cultivadas, destacam-se os híbridos de *Cymbidium* sp.,

grupo numeroso de plantas epífitas e terrestres, rizomatosas, originárias da Ásia, com inflorescência longa, com cores variadas, formadas principalmente na primavera (Lorezi & Souza, 2008). Por serem plantas muito apreciadas pela população para ornamentação, necessitam de métodos de propagação que garantam a rápida formação um grande número de mudas vigorosas e saudáveis. Nesse contexto, a propagação *in vitro* apresenta-se como um método adequado, uma vez que permite obter uma grande quantidade de mudas isentas de pragas e doenças, em espaços reduzidos e com a possibilidade de estabelecimento de cronogramas de produção e comercialização (Martini et al., 2001; Stancato et al., 2001; Ventura, 2002). Estratégias que acelerem o crescimento das plântulas de *Cymbidium* sp. durante a aclimatização, como a possibilidade de reestabelecer as associações entre as orquídeas e a microbiota benéfica, como bactérias promotoras de crescimento, são almejadas.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos: (i) isolar bactérias diazotróficas de raízes e folhas de orquídeas; (ii) avaliar os isolados bacterianos diazotróficos quanto à capacidade de solubilizar fosfatos, solubilizar óxido de zinco e sintetizar compostos indólicos em ensaios *in vitro*, (iii) realizar a identificação dos isolados e (vi) avaliar o crescimento e desenvolvimento de plântulas de orquídea *Cymbidium* sp. em resposta à inoculação bacteriana durante o período de aclimatização.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### Material Vegetal para isolamento bacteriano

Foram coletadas amostras de raízes e de folhas de orquídea (*Cymbidium* sp.) pertencentes à coleção de orquídeas do Setor de Floricultura da Universidade Federal de Viçosa, *Campus* Florestal, Brasil. A planta matriz, mantida em casa-de-vegetação, foi cultivada em vaso de cerâmica, contendo fibra de coco como substrato.

### Isolamento de bactérias diazotróficas

O isolamento de bactérias diazotróficas endofíticas foi previamente realizado conforme descrito por Döbereiner et al. (1995), com algumas modificações. Amostras de 1 g de raízes e de 1 g de folhas foram trituradas em 9 mL de solução salina (NaCl, 8,5 g L<sup>-1</sup>). A partir destas diluições (10<sup>-1</sup>) foram realizadas diluições seriadas tomando-se 1 mL da solução original em 10 mL da solução salina, até a diluição 10<sup>-6</sup>. Alíquotas de 100 µL das diferentes diluições foram transferidas, em triplicata, para frascos de vidro contendo 5 mL dos meios de cultura semi-seletivos JMV, JMVL, NFB, JNFB e LGI, todos semi-sólidos e sem adição de nitrogênio. A formação de uma película aerotóxica típica na superfície do meio após 7 dias de incubação em câmara de crescimento a 30°C, foi considerado como crescimento positivo. Posteriormente, as bactérias crescidas em três frascos de maior diluição foram transferidas para novos meios semissólidos, onde cresceram por

7 dias, seguido de plaqueamento em meio sólido correspondente. Colônias individuais exibindo diferentes características morfológicas foram transferidas para os mesmos meios semissólidos e posteriormente para meio sólido DYGS para verificação da pureza dos isolados. Uma vez purificadas, as colônias foram mantidas em água destilada estéril.

### **Avaliação da capacidade de síntese compostos indólicos**

As bactérias isoladas foram crescidas previamente em meio líquido DYGS por 24 h, a 30 °C e 100 rpm. Para avaliação da síntese de compostos indólicos, 10 µL da cultura bacteriana foram transferidos para placas contendo 1/10 do meio TSA (Bric et al., 1991). Após a transferência, o meio foi coberto com membrana de nitrocelulose e incubado a 28°C por 24h. Posteriormente, a membrana foi transferida para outra placa e saturada com a solução de Salkowski (Gordon & Weber, 1951) e incubada à temperatura ambiente por 30 minutos. A formação de halo avermelhado na membrana indica a presença de indol sintetizado pelas bactérias. Foram realizadas três repetições para cada estirpe bacteriana.

### **Avaliação da capacidade de solubilização de fosfato de cálcio e óxido de zinco**

As bactérias foram crescidas em meio líquido DYGS por 24 h, a 30 °C e 120 rpm. Alíquotas de 20 µL das soluções bacterianas foram colocadas em placas de Petri com os meios de cultura sólidos contendo fosfato pouco solúvel (10g/L glicose; 5 g/L de NH<sub>4</sub>Cl; 1 g/L de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 4 g/L de CaHPO<sub>4</sub>; 15 g/L de ágar; pH 7,2) e óxido de zinco (10 g/L de glicose; 1 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,2 g/L de KCl; 0,1 g/L de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,2 g/L de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1,0 g/L de ZnO; 15 g/L de ágar; pH 7,0), incubadas a 30°C por 72h. A avaliação da solubilização de fosfato de cálcio óxido de zinco foi realizada pela presença do halo translúcido que se formou em torno das colônias solubilizadoras em cada meio de cultura. Realizou-se três repetições para cada estirpe bacteriana.

### **Identificação dos isolados bacterianos**

A identificação de alguns isolados bacterianos foi realizada por meio da análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos (GC-FAME) (Sasser, 2006), no Laboratório de Biotecnologia e Biodiversidade para o Meio Ambiente da UFV. Os isolados bacterianos foram crescidos em meio TSA (Trypticase Soy Agar) por 24 horas a 30 °C, com uma segunda passagem no mesmo meio pelo mesmo tempo. Uma massa celular com cerca de 3 mg de células foi coletada para extração dos ácidos graxos. A extração e obtenção de ácidos graxos foram realizadas utilizando-se o kit Instant Fame (Midi, Newark, DE), segundo recomendações do fabricante. O sistema Sherlock® Microbial Identification foi utilizado para se determinar a composição de ácidos graxos bacterianos. Seguindo sua nomeação e quantificação, o perfil de ácidos graxos obtido foi comparado com uma biblioteca, obtendo-se, assim, a identificação da amostra.

A identificação dos outros isolados bacterianos foi realizada por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA no Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular



do CENA/USP. A extração do DNA genômico dos isolados bacterianos foi realizada a partir do protocolo proposto por Stirling (2003). O gene 16S rRNA de Bacteria foi amplificado com os seguintes oligonucleotídeos iniciadores para o domínio Eubacteria fD1 (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') e rD1 (5'-AAG GAG GTG ATC CAG CC-3') (WEISBURG et. al., 1991). As amplificações do gene 16S rRNA foram realizadas em volume final de 25 µL contendo 5 pmols de oligonucleotídeos iniciadores, 200 µM de cada dNTP, 1 X tampão Taq, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 2 U Platinum Taq DNA polimerase (Invitrogen Life Technologies, São Paulo, Brasil) e 10 ng de DNA. A reação foi iniciada com 3 minutos de desnaturação a 94°C, seguido de 30 ciclos com desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento a 55°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 30 seg, e extensão final a 72°C por 32 minutos. A PCR de sequenciamento dos fragmentos de 16S rRNA foi feita em um volume final de 10 µL com 5 pmoles de oligonucleotídeos iniciadores; 1,0 µL de tampão 2,5 X; 3,0 µL de Big Dye Terminator30 Cycle Sequencing v.3 (Applied Biosystems). Os oligonucleotídeos utilizados foram os mesmos da amplificação anterior (WEISBURG et al., 1991). As condições de amplificação foram: 2 min de desnaturação a 96°C, seguidos de 30 ciclos com desnaturação a 95°C por 20 segundos, anelamento a 55°C por 15 segundos, extensão a 60°C por 1 minuto. Após a amplificação dos fragmentos de interesse, procedeu-se a precipitação para a eliminação dos dNTPs que não foram incorporados. A leitura das bases marcadas foi realizada no Sequenciador Automático ABI Prism 3130 Genetic Analyser do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular – CENA/USP, que utiliza eletroforese capilar para separação e detecção dos fragmentos amplificados. As sequências foram comparadas no banco de dados BLAST (NCBI).

### **Material Vegetal para experimento em casa de vegetação**

As plântulas de *Cymbidium* sp. da variedade Angélica foram adquiridas da empresa Itapeti Orchids Center Flores Ltda. As plântulas estavam em frascos de vidro contendo meio MS (Murashige e Skoog, 1962), sem adição de reguladores de crescimento e vitaminas. Para realização das etapas experimentais posteriores foram selecionadas plântulas com aproximadamente 1,0 g de matéria fresca.

### **Crescimento bacteriano e inoculação**

As bactérias foram crescidas em meio líquido DYGS por 24 h, 30 °C e 120 rpm e a inoculação foi realizada pela imersão das plântulas de orquídea em 50 mL do meio bacteriano por duas horas, com posterior aplicação do mesmo meio bacteriano no substrato. O controle foi imerso em meio líquido DYGS autoclavado. Posteriormente, os materiais propagativos foram transferidos para vasos de 1,0 dm<sup>3</sup> contendo substrato comercial para serem aclimatizados em casa de vegetação por um período de 150 dias.

### **Análises de crescimento**

Após a aclimatização as plantas foram coletadas para a mensuração das seguintes

variáveis: número de folhas (NF); altura das plantas (ALT), medida pela distância compreendida entre o colo da planta até o ápice foliar usando-se fita métrica; diâmetro da base (DB), mensurado com paquímetro digital modelo Starret 727; matéria fresca da raiz (MFR) e da parte aérea (MFPA); matéria seca da raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA), obtidas pela secagem em estufa sob ventilação forçada de ar a 65 °C por 48 horas e posterior pesagem.

### **Análises nutricionais**

Após a secagem, as folhas das orquídeas foram moídas em moinho do tipo Wiley acoplado a peneiras de 60 malhas cm<sup>-2</sup>. Em seguida, o pó obtido foi submetido à digestão sulfúrica combinada com peróxido de hidrogênio e determinados os teores totais de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg). Para N, foi utilizado o método de Nessler; o teor de P foi obtido por espectrofotometria de absorção molecular (colorimetria, no comprimento de onda de 725 nm), após reação com vitamina C e molibdato de amônio; a determinação de K foi realizada por fotometria de chama e os teores de Ca e de Mg foram obtidos por espectrofotometria de absorção atômica. Os conteúdos de N, P, K, Ca e Mg foram estimados por meio da multiplicação da matéria seca da parte aérea com o teor do nutriente considerado.

### **Análises estatísticas**

O experimento foi realizado no delineamento em blocos ao acaso, com seis repetições, cada repetição consistindo de um vaso contendo duas plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de t LSD a 5% de probabilidade, no software SISVAR 5.4 (UFLA, Brasil).

## **3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No presente trabalho verificou-se que bactérias diazotróficas habitam naturalmente folhas e raízes da orquídea *Cymbidium* sp, uma vez que foram isoladas oito estirpes bacterianas com uso de diferentes meios de cultivo isentos de nitrogênio (Tabela 1). Por meio da análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos (GC-FAME) ou do sequenciamento do gene 16S rRNA os isolados foram identificados como *Bacillus thuringiensis*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia gladioli*, *Herbaspirillum frisingense*, *Pseudomonas stutzeri*, *Rhizobium cellulosilyticum*, *Rhizobium radiobacter* e *Stenotrophomonas maltophilia*. Além da fixação biológica de nitrogênio atmosférico, a maioria dos isolados apresentaram potencial para solubilizar fosfato de cálcio, óxido de zinco e sintetizar compostos indólicos-substâncias precursoras dos fitohormônio da classe das auxinas-, refletindo na capacidade de promoção de crescimento vegetal (Tabela 1).

Esses resultados corroboram com os trabalhos de Wilkinson et al. (1989; 1994) que constituem os primeiros relatos da associação entre orquídeas com bactérias promotoras

de crescimento de plantas, esses autores isolaram bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Arthrobacter* e *Kurthia* com potencial de síntese de fitohormônio da classe das auxinas. Posteriormente, Tsavlekova et al. (2001; 2002; 2004) isolaram das orquídeas *Acampe papillosa* e *Dendrobium moschatum* bactérias dos gêneros *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Flavobacterium*, *Gluconobacter*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* e *Streptomyces*. Recentemente, Faria et al. (2013), isolaram de *Cymbidium eburneum* estirpes pertencentes ao gênero *Paenibacillus*. Notadamente, bactérias com potencial biotecnológico habitam plantas pertencentes à família Orchidaceae.

Os dados de crescimento (Tabela 2) de *Cymbidium* sp. após aclimatização mostraram que algumas estirpes bacterianas colaboraram no crescimento e adaptação das plântulas às condições *ex vitro*. As bactérias *Stenotrophomonas maltophilia* e *Herbaspirillum frisingense* foram as que promoveram os maiores incrementos no crescimento de *Cymbidium* sp., garantindo um aumento da matéria seca total de 29% e 26%, respectivamente, em relação ao controle. A aclimatização de mudas propagadas *in vitro* de *Cymbidium* é um processo lento que pode ser beneficiada pela aplicação de substâncias bioestimulantes (Baldotto et al., 2014) e como verificado no presente trabalho pela aplicação de bactérias promotoras de crescimento de plantas.

O gênero *Stenotrophomonas* abriga espécies gram-negativas em forma de bastonete. A espécie *Stenotrophomonas maltophilia* é encontrada numa variedade de ambientes e regiões geográficas, assim como promotora de crescimento ou agente simbiote em diversas espécies de plantas, como em mandioca (Teixeira et al., 2007), frutos do cerrado (Dias et al. 2015) e sibipuruna (Cunha et al. 2013). Segundo Cerigioli (2005), essa espécie apresenta alta capacidade de produção de ácido-indol-acético, verificado também no presente trabalho e, sendo este hormônio responsável por um efeito benéfico para o crescimento vegetal, tem-se a justificativa pelo fato da inoculação de *Stenotrophomonas maltophilia* em *Cymbidium* sp. ter apresentado o maior valor de incremento relativo de matéria seca.

O isolado bacteriano *Herbaspirillum frisingense* foi o que promoveu os maiores incrementos nos conteúdos nutricionais de N e P, com 68% e 28%, respectivamente, em relação ao controle (Tabela 3). Os representantes do gênero *Herbaspirillum* são considerados bactérias endofíticas obrigatórias e apresentam baixa sobrevivência no solo (Moreira et al., 2010). Segundo Olivares et al. (1997), bactérias desse gênero são capazes de colonizar nichos específicos no interior dos tecidos vegetais, podendo transferir mais eficientemente para planta os compostos nitrogenados produzidos e ainda não sofrerem limitações de substâncias ricas em carbono. A espécie *Herbaspirillum frisingense*, consolidada na literatura como diazotrófica (Kirchhof et al., 2001; Straub et al. 2013), apresentou, além da capacidade de fixação biológica de nitrogênio, potencial para solubilização de fosfato de cálcio e óxido de zinco, além de síntese de compostos indólicos. O potencial de promoção

de crescimento refletiu no incremento relativo de matéria seca e nos conteúdos nutricionais de N, P e K, obtidos no experimento em casa de vegetação.

Pertencentes à classe Bacilli, o gênero *Bacillus* pode ser facilmente isolado do solo e da rizosfera de várias plantas (Seldin et al., 1998). Muitas espécies de *Bacillus* podem contribuir para a saúde das plantas de várias maneiras, como fixação biológica de nitrogênio e agentes de controle biológico de fitopatógenos (Lacey et al., 2001). Moreira & Araújo (2013) selecionaram alguns isolados de *Bacillus* sp. como promissores para ação no crescimento de *Eucalyptus urograndis*. A espécie *Bacillus thuringiensis*, conhecida por sua utilização em programas de controle biológico, apesar de escassos relatos da literatura referentes à ocorrência desta espécie bacteriana como microrganismo promotor de crescimento endofítico, já foi registrada sua presença na mandioca (Teixeira et. al., 2007) e na bananeira “prata-anã” (Andrade et al., 2014). Andrade et al. (2014) também identificou a capacidade de solubilização de fosfato de cálcio e produção de AIA, por bactérias diazotróficas do gênero *Bacillus*, bem como no presente trabalho (Tabela 1).

Foram isoladas das folhas de *Cymbidium* sp. duas estirpes bacterianas pertencentes ao gênero *Burkholderia*. Bactérias do gênero *Burkholderia* são gram-negativas em forma de bastonetes móveis, com três a vários flagelos. Atualmente, esse gênero possui 62 espécies com grande diversidade funcional. As espécies contidas neste gênero podem ser, por exemplo, promotoras de crescimento vegetal ou patógenos humanos, animais e vegetais (Moreira et. al., 2010), como no caso da *Burkholderia gladioli*, isolada no presente trabalho e caracterizada como patogênica para orquídeas por Keith et. al. (2005), fato que pode estar relacionado ao valor negativo de incremento relativo de matéria seca com a inoculação dessa estirpe bacteriana. Além disso, as bactérias identificadas junto ao gênero *Burkholderia* sp. apresentaram a capacidade de solubilizar fosfato de cálcio, fato também observado por Rodrigues & Fraga (1999). Perin (2007) avaliou a produção de AIA por bactérias do gênero *Burkholderia* sp., mas nenhum isolado bacteriano produziu o hormônio vegetal, indicando que esta habilidade é rara em espécies diazotróficas deste gênero (Bento, 2014).

O estudo do gênero *Pseudomonas*, caracterizado por bactérias bacilos gram-negativas, aeróbias e móveis, recebe destaque devido a sua grande versatilidade nutricional em sistemas de produção agrícola, sua capacidade de crescer em ampla variedade (Santos Jr. et. al., 2008). A espécie *Pseudomonas stutzeri* foi isolada de folhas de coqueiro, apresentando elevado potencial de fixação biológica de nitrogênio (Fernandes et. al., 2001). Bactérias diazotróficas do gênero *Pseudomonas* podem apresentar capacidade de solubilizar fosfato de cálcio (Rodrigues & Fraga, 1999) óxido de zinco (Baldotto, 2009) e sintetizar AIA (Cerigioli, 2005), o que também foi observado no presente trabalho.

O gênero *Rhizobium*, composto por microrganismos genericamente identificados como rizóbios, bactérias gram negativas, é geralmente relacionado a bactérias fixadoras de nitrogênio formadoras de nódulos em leguminosas (Stroschein, 2010). Singh et al.

(2015) isolaram *Rhizobium radiobacter* em milho, e também identificaram a capacidade de promoção de crescimento dessa bactéria. Recentemente, Diez-Mendez et al. (2015) constaram a melhor eficiência da fixação biológica de nitrogênio à partir da co-inoculação de *Rhizobium cellulosilyticum* em feijão. As estirpes bacterianas isoladas de *Cymbidium* sp. identificadas como pertencente ao gênero *Rhizobium* apresentam a capacidade de solubilizar fosfato de cálcio, fato também observado por Rodrigues & Fraga (1999).

A inoculação de bactérias diazotróficas em plântulas de orquídeas propagadas *in vitro* pode ser uma estratégia viável na aclimatização das mudas, pois pode reduzir os custos de produção com base na maior eficiência de crescimento e nutricional. Portanto, a possibilidade de agregar valor em propágulos de orquídeas ao inoculá-los com estirpes selecionadas, supostamente dotará o setor de floricultura e plantas ornamentais de maior competitividade na produção e comercialização de seus produtos agrícolas.

## 4 | CONCLUSÕES

Os benefícios dos processos ecológicos desempenhados por microrganismos por meio das bactérias promotoras do crescimento de plantas, foco desse estudo, têm contribuído para alcançar a sustentabilidade no setor do agronegócio. A tecnologia de inoculação de bactérias de interesse biotecnológico na agricultura é um recurso de grande importância econômica, além do que pode contribuir para reduzir o uso e conseqüente impacto dos agroquímicos.

Com o presente estudo foi possível observar a associação de bactérias promotoras de crescimento com a orquídea *Cymbidium* sp. Entre as bactérias isoladas, a *Herbaspirillum frisingense* e *Stenotrophomonas maltophilia* apresentam potencial biotecnológico para utilização em bioestimulantes e biofertilizantes, promovendo o crescimento de *Cymbidium* sp. com menor ônus econômico e ambiental.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (470567-2011-12), FAPEMIG (CAG-APQ 03929-10) e FUNARBE (Funarpeq 2012) pelo apoio financeiro. Ao Prof. Dr. Marcos Rogério Tótoia do Laboratório de Biotecnologia e Biodiversidade para o Meio Ambiente da Universidade Federal de Viçosa pela orientação nas análises de GC-FAME. À Profa. Dra. Siu Mui Tsai do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular do Centro de Energia Nuclear da Agricultura da Universidade de São Paulo pela orientação nas análises de sequenciamento gênico. Às estudantes Fernanda Miranda de Oliveira e Joelma Gonçalves do curso de Agronomia do Campus Florestal da Universidade Federal de Viçosa pela colaboração na condução do experimento em casa-de-vegetação.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, L.F.; SOUZA, G.L.O.D.; NIETSCHKE, S.; XAVIER, A.A.; COSTA, M.R.; CARDOSO, A.M.S.; PEREIRA, M.C.T.; PEREIRA, D.F.G.S. **Analysis of the abilities of endophytic bacteria associated with banana tree roots to promote plant growth.** Journal of Microbiology (Seoul. Print), v.52, p.27-34, 2014.
- BALDOTTO, L. E. B. **Estrutura e fisiologia da interação entre bactérias diazotróficas endofíticas e epifíticas com abacaxizeiro cultivar Vitória durante a aclimatização.** 149p. Tese de Doutorado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2009.
- BALDOTTO, L.E.B & OLIVARES, F.L. **Phylloepiphytic interaction between bacteria and different plant species in a tropical agricultural system.** Canadian Journal of Microbiology, v.54, p.918-931, 2008.
- BALDOTTO, L.E.B.; BALDOTTO, M.A.; OLIVARES, F.L.; VIANA, A.P.; BRESSAN-SMITH, R. **Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merrill) cultivar Vitória durante a aclimatização.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, n.34, p.349-360, 2010.
- BENTO, M.A.O. (in press). **Bacteria isolated from soil and litter of the Atlantic Forest have potential as plant growth promoters.** World Journal of Microbiology & Biotechnology Incorporating the MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology (Dordrecht. Online), 2014.
- BRICK, J.M.; BOSTOCK, R.M.; SILVERSONE, S.E. **Rapid in situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane.** Applied and Environmental Microbiology, p.535-538, 1991.
- CERIGIOLI, M.M. **Diversidade de bactérias endofíticas de raízes de milho (*Zea mays* L.) e potencial para promoção de crescimento.** Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 149p., 2005.
- CHUGH, S.; GUHA, S.; USHA R.I. **Micropropagation of orchids: a review on the potential of different explants.** Scientia Horticulturae v.122 p.507–520, 2009.
- CUNHA J.F.; ALFENAS, A.C.; SILVA, A.G.; BRANDÃO, I.J. **Potencial de rizobactérias no crescimento de mudas de sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides* Benth).** Revista Árvore, Viçosa, v.37, n.2, p.211-218, 2013.
- DIAS, M.; CRUZ, M.G.P.M.; DUARTE, W.F.; SILVA, C.F.; SCHWAN, R.F. **Epiphytic bacteria biodiversity in Brazilian Cerrado fruit and their cellulolytic activity potential.** Annals of Microbiology, v. 65, p. 851-864, 2015.
- DIEZ-MENDEZ, A., MENÉNDEZ, E., GARCÍA-FRAILE, P. et al. ***Rhizobium cellulolyticum* as a co-inoculant enhances *Phaseolus vulgaris* grain yield under greenhouse conditions.** Symbiosis 67:135, 2015.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas.** Embrapa Agrobiologia, Seropédica, 66p, 1995.

FERNANDES, M.F.; FERNANDES, R.P.M.; RODRIGUES, L.S. **Bactérias diazotróficas associadas a coqueiros na região de baixada litorânea em Sergipe.** Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.36, n.12, p.1509-1517, 2001.

FERREIRA, D. F. **Sisvar - sistema de análise de variância para dados balanceados.** Lavras: UFLA, 19 p., 1998.

FONSECA, M.C.C.; ZAGO, V.C.P.; FERREIRA, E.P.B.; CÂMARA, A.F.S.; RUMJANEK, N.G. **Isolamento e caracterização morfológica de *Pseudomonas* spp. fluorescentes nativas em sistemas de produção agrícola.** Comunicado Técnico, Seropédica: Embrapa Agrobiologia. n.43, p.1-4, dez. 2000.

GALDIANO JUNIOR, R.F; PEDRINHO, E.A.N.; CASTELLANE, T.C.I.; LEMOS, E.G.M. **Bactérias produtoras de auxinas isoladas de raízes de *Cattleya walkeriana*, orquídea Brasileira ameaçada de extinção, e sua função na aclimatização.** Revista Brasileira de Ciência do Solo. v.35, n.3, p.729-737, 2011.

GORDON, S.A. & WEBER, R.P. **Colorimetric estimation of indoleacetic acid.** Plant Physiology. n.26 p.192–195, 1951.

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W.F.; KLOEPFER, J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology, n.43, p.895-914, 1997.

KEITH, L.M.; SEWAKE, K.T.; ZEE, F.T. **Isolation and Characterization of *Burkholderia gladioli* from Orchids in Hawaii.** Plant Disease. v.89, n.12. p.1273-1278, 2005.

KIRCHHOF G, ECKERT B, STOFFELS M, BALDANI JI, REIS VM, HARTMANN A. ***Herbaspirillum frisingense* sp. nov., a new nitrogen-fixing bacterial species that occurs in C4-fibre plants.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology v.51, p.157–168, 2001.

LACEY, L.A., FRUTOS, R., KAYA, H.K., VANDERLEYDEN, J. **Insect pathogens as biological control agents: Do you have a future?** Biological Control v.21, p.230-248, 2001.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil.** Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 1088p., 2008.

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

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. **Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações.** Comunicata Scientiae, v.1, p.74-99, 2010.

MURASHIGUE, T. & SKOOG, F. **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture.** Physiologia Plantarum, v.15, p.473-497, 1962.

OLIVARES, F.L., JAMES, E.K., BALDANI, J.I., DÖBEREINER, J. **Infection of mottled stripe diseasesusceptible and resistant varieties of sugar cane by endophytic diazotroph *Herbaspirillum*.** New Phytologist n.135: p.723-737, 1997.

RODRÍGUEZ, H & FRAGA, R. **Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion.** *Biotechnology Advances*, n.17, p.319-339, 1999.

SELDIN, L., ROSADO, A.S., CRUZ, D.W., NOBREGA, A., VAN ELSAS, J.D., PAIVA, E. **Comparison of *Paenibacillus azotofixans* strains isolated from rhizoplane, rhizosphere, and non-root-associated soil from maize planted in two different brazilian soils.** *Applied and environmental microbiology* v. 64: p.3860–3868, 1998.

SINGH, N.P.; SINGH, R.K.; MEENA, V.S.; MEENA, R.K. **Can we use Maize (*Zea mays*) Rhizobacteria as Plant Growth Promoter?** *VEGETOS* v.28, n.1, p.86-99 2015.

STIRLING, D. **DNA extraction from fungi, yeast and bacteria.** In: J. M. S. Bartlett and D. Stirling, *Methods in Molecular Biology: PCR Protocols*, second edition, Humana Press Inc., Totowa, NJ, cap.13, p.53-54, 2003.

STRAUB, D.; YANG, H.; LIU, Y.; TSAP, T.; LUDEWIG, U. **Root ethylene signalling is involved in *Miscanthus sinensis* growth promotion by the bacterial endophyte *Herbaspirillum frisingense* GSF30T.** *Journal of Experimental Botany*, v.64, n.14, p. 4603–4615, 2013.

STROSCHER, M.R.D; ELTZ, F.L.F.; ANTONIOLLI, Z.I.; LUPATINI, M.; VARGAS, L.K.; GIONGO, A.; PONTELLI, M.P. **Symbiotic efficiency and genetic characteristics of *Bradyrhizobium* sp. strain UFSM LA 1.3 isolated from *Lupinus albus* (H. et Arn).** *Scientia Agricola (USP. Impresso)*, v.67, p.702-706, 2010.

TEIXEIRA, M.A.; MELO, I.S.; VIEIRA, R.F.; COSTA, F.E.C.; HARAKAVA, R. **Microrganismos endofíticos de mandioca de áreas comerciais e etnovariiedades em três estados brasileiros.** *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.42, n.1, p.43-49, 2007.

TSAVKELOVA, E.A.; CHERDYNTSEVA, T.A.; LOBAKOVA, E.S.; KOLOMEITSEVA, G. & NETRUSOV, A.I. **Microbiota of the orchid rhizoplane,** *Mikrobiologiya*, v.70, p.567–573, 2001.

TSAVKELOVA; E.A.; CHERDYNTSEVA, T.A. & NETRUSOV, A.I. **Bacteria associate with the roots of epiphytic orchids,** *Mikrobiologiya*, 73 p.825–831, 2004.

TSAVKELOVA; E.A.; LOBAKOVA, E.S.; KOLOMEITSEVA, G.L.; CHERDYNTSEVA, T.A. & NETRUSOV, A.I. **Localization of associative cyanobacteria on the roots of epiphytic orchids,** *Mikrobiologiya*, v.72, p.99–104, 2003.

WEISBURG, W. G.; BARNES, S. M.; PELLETIER, D. A.; LANE D. J. **16S Ribosomal DNA amplification for phylogenetic study.** *Journal of Bacteriology*, Baltimore, v.173, n.2, p.697- 703, 1991.

WILKINSON, K.G.; DIXON, K.W. & SIVASITHAMPARAM, K. **Interaction of soil bacteria, mycorrhizal fungi and orchid seed in relation to germination of australian orchids.** *New Phytologist*, v.112, p.429–435, 1989.

WILKINSON, K.G.; DIXON, K.W.; SIVASITHAMPARAM, K. & GHISALBERTI, E. **Effect of IAA on symbiotic germination of an australian orchid and its production by orchid-associated bacteria.** *Plant Soil*, v.159, p.291–295, 1994.



## ANEXOS

Identificação dos isolados bacterianos	TI <sup>1</sup>	TVI <sup>2</sup>	MCI <sup>3</sup>	SFC <sup>4</sup>	SOZ <sup>5</sup>	SCI <sup>6</sup>	IRMS <sup>7</sup>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	GC-FAME	Raiz	NFB	Sim	-	Sim	2,1%
<i>Burkholderia cepacia</i>	GC-FAME	Folha	JMVL	Sim	-	-	12,3%
<i>Burkholderia gladioli</i>	16S rRNA	Folha	JMV	Sim	Sim	-	-25,7%
<i>Herbaspirillum frisingense</i>	16S rRNA	Raiz	LGI	Sim	Sim	Sim	25,6%
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	GC-FAME	Raiz	LGI	Sim	Sim	Sim	5,2%
<i>Rhizobium cellulosilyticum</i>	16S rRNA	Raiz	JNFb	Sim	Sim	-	5,3%
<i>Rhizobium radiobacter</i>	GC-FAME	Folha	NFB	Sim	Sim	-	10,0%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	16S rRNA	Raiz	JMVL	-	-	Sim	29,2%

<sup>1</sup>Técnica de identificação dos isolados bacterianos: GC-FAME, análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos; 16S rRNA, sequenciamento do gene 16S rRNA com porcentagem de similaridade no GenBank de 99%. <sup>2</sup>TVI; tecido vegetal usado no isolamento. <sup>3</sup>MCI: meio de cultivo usado no isolamento. <sup>4</sup>SFC: solubilização de fosfato de cálcio. <sup>5</sup>SOZ: solubilização de óxido de zinco. <sup>6</sup>SCI: síntese de compostos indólicos. <sup>7</sup>IRMS: incremento relativo de matéria seca de plantas de *Cymbidium* sp. inoculadas em relação ao tratamento controle (IRMS:  $100 \frac{-x + y}{y}$ , em que x e y são as médias dos tratamentos comparados). SI: não detectado.

Tabela 1. Identificação e características de promoção de crescimento das bactérias isoladas de *Cymbidium* sp.

Tratamento	Características Nutricionais <sup>1</sup>				
	N	P	K	Ca	Mg
	-----mg/planta-----				
Controle	15,681 bc	6,273 bc	6,671 ab	10,877 b	1,762 bc
<i>Bacillus thuringiensis</i>	15,315 c	5,876 bcd	6,189 bc	10,742 b	1,954 ab
<i>Burkholderia cepacia</i>	16,149 bc	4,974 cd	6,453 abc	13,214 b	2,140 a
<i>Burkholderia gladioli</i>	13,849 c	4,812 d	7,409 a	17,242 a	1,954 ab
<i>Herbaspirillum frisingense</i>	26,314 a	8,041 a	7,502 a	11,047 b	1,512 c
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	17,472 bc	6,410 b	6,407 abc	10,519 b	1,760 bc
<i>Rhizobium cellulosilyticum</i>	16,047 bc	5,770 bcd	6,705 ab	12,581 b	1,808 bc
<i>Rhizobium radiobacter</i>	20,104 b	5,833 bcd	6,304 abc	11,184 b	1,779 bc
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	17,408 bc	4,664 d	5,285 c	10,771 b	1,770 bc
CV %	15,33	13,03	10,78	13,51	9,77

<sup>1</sup>Características nutricionais: conteúdo de N, nitrogênio; P, fósforo; K, potássio; Ca, cálcio; Mg, magnésio. Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste t LSD, a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Características nutricionais de *Cymbidium* sp. em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas.

Tratamento	Características de Crescimento <sup>1</sup>									
	NF	DB	ALT	MFPA	MFR	MSPA	MSR	MFT	MST	R/PA
	-----cm-----			-----g-----						
Controle	9 ab	0,638 ab	14,3 abc	2,251 ab	4,127 bc	0,371 ab	0,248 bc	6,378 bc	0,619 bc	0,699 b
<i>Bacillus thuringiensis</i>	10 a	0,576 ab	14,9 ab	2,456 ab	4,299 bc	0,404 a	0,229 bc	6,755 bc	0,632 abc	0,578 b
<i>Burkholderia cepacia</i>	9 ab	0,700 a	15,1 a	2,456 a	5,154 ab	0,403 a	0,297 bc	7,813 ab	0,695 ab	0,725 b
<i>Burkholderia gladioli</i>	8 b	0,550 b	12,8 c	1,761 b	3,079 c	0,269 b	0,190 c	4,840 c	0,460 c	0,740 b
<i>Herbaspirillum frisingense</i>	10 a	0,688 a	14,3 abc	2,906 a	5,984 a	0,448 a	0,329 ab	8,890 a	0,778 ab	0,755 b
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	9 ab	0,625 ab	15,9 a	2,523 a	4,279 bc	0,397 a	0,254 bc	6,801 bc	0,651 ab	0,665 b
<i>Rhizobium cellulosilyticum</i>	9 ab	0,613 ab	14,4 abc	2,446 ab	5,121 ab	0,377 ab	0,275 bc	7,567 ab	0,652 ab	0,737 b
<i>Rhizobium radiobacter</i>	9 ab	0,675 ab	15,4 a	2,748 a	3,938 bc	0,425 a	0,256 bc	6,686 bc	0,681 ab	0,603 b
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9 ab	0,663 ab	12,8 bc	2,491 a	4,908 ab	0,391 a	0,409 a	7,399 ab	0,800 a	1,233 a
CV %	9,82	13,64	10,13	19,65	21,78	19,16	27,66	19,52	18,15	42,59

<sup>1</sup>Características de crescimento: NF, número de folhas; DB, diâmetro da base; ALT, altura da planta; MFPA, matéria fresca da parte aérea; MFR, matéria fresca da raiz; MSPA, matéria seca da parte aérea; MSR, matéria seca da raiz; MFT, matéria fresca total da planta; MST, matéria seca total da planta; R/PA, relação raiz e parte aérea. Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste t LSD, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Características de crescimento de *Cymbidium* sp. em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Absorção 43, 55, 59, 60, 62, 81, 85, 90, 91, 92, 93, 95, 99, 102, 103, 104, 105, 106, 108, 112, 117, 123, 148, 150, 151, 152, 155, 171, 173, 176, 183, 188, 217, 218, 219, 220, 221, 222

Aclimatização 118, 119, 120, 122, 124, 126, 127, 128

Adução verde 171, 178, 187, 191, 192, 193

Agropecuária 17, 18, 64, 65, 86, 128, 129, 156, 168, 169, 189, 190, 216, 225

Agrotóxicos 64, 157, 159, 161, 162, 163, 167, 168, 169, 170

Análises 41, 44, 48, 51, 64, 82, 86, 89, 95, 122, 123, 126, 137, 176, 209, 210, 212, 215

### B

Bactérias 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 131

Bactérias diazotróficas 118, 119, 120, 123, 125, 126, 127, 128

Banana 6, 127, 132, 133, 134, 136, 137, 141, 142

Brasil 3, 4, 6, 8, 9, 10, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 25, 46, 52, 56, 57, 58, 61, 63, 86, 88, 93, 106, 109, 110, 111, 117, 120, 122, 123, 128, 132, 134, 142, 145, 146, 147, 148, 149, 151, 155, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 167, 168, 169, 171, 173, 184, 191, 210, 211

### C

Campo 8, 28, 31, 44, 67, 69, 78, 80, 82, 83, 87, 89, 94, 106, 117, 148, 149, 151, 152, 153, 154, 155, 207, 208, 209, 210, 219, 225

Cana-de-açúcar 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 25, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 86, 159, 162, 163, 164, 167

Caña de azúcar 26, 27, 28, 29, 66, 67, 68, 69, 70

Canola 145, 146, 147, 159

Cerrado 15, 16, 17, 18, 21, 24, 25, 91, 107, 124, 127, 149, 168, 186, 193

Ciclagem de nutriente 171

Colheita 21, 23, 46, 48, 51, 53, 54, 55, 56, 57, 59, 60, 61, 65, 109, 112, 141, 146, 149, 150, 175, 177, 180

Corretivo do solo 87

Crescimento 16, 17, 18, 21, 22, 23, 52, 56, 58, 59, 60, 81, 85, 87, 93, 97, 98, 99, 100, 103, 105, 106, 108, 109, 111, 112, 116, 117, 118, 119, 120, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 131, 150, 157, 158, 162, 166, 171, 173, 175, 178, 179, 180, 181, 184, 188, 190, 191, 192, 219

Cultivares 44, 53, 55, 60, 61, 106, 145, 146, 168, 182

## D

Déficit hídrico 60, 80, 81, 86, 87, 88, 90, 91

Desperdício 132, 133, 135, 136, 141, 143

## E

Estresse hídrico 80, 81, 83, 85, 86, 87, 88, 90, 91

Etnobotânica histórica 1, 9

## F

Fertilidade 18, 24, 41, 42, 43, 44, 48, 49, 51, 52, 93, 105, 108, 110, 171, 172, 173, 183, 184, 185, 186, 187, 189, 209, 210, 216

Fitomassa 171, 190, 192

## G

Genetic materials 194

Genotypes 192, 194, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 206

Gramínea 81, 82, 85, 87, 88, 91, 97, 98, 100, 102, 105, 179

## H

Horticultura 1, 2, 6, 8, 117, 142, 214, 224

## L

Levantamento 8, 16, 19, 21, 24, 25, 41, 44, 59, 63, 132, 137

## M

Manejo 41, 42, 43, 44, 47, 48, 50, 53, 54, 55, 60, 64, 65, 66, 88, 93, 94, 105, 110, 111, 141, 145, 146, 149, 160, 167, 173, 178, 185, 190, 192, 208, 210, 216, 225

Matocompetição 53, 55

Meio ambiente 15, 106, 119, 121, 126, 157, 161, 169

Monitoramento 80

Mudas 43, 53, 54, 55, 59, 60, 63, 64, 65, 118, 119, 120, 124, 126, 127, 153

## N

Nutrição 52, 86, 104, 105, 106, 107, 109, 110, 143, 192

## P

Pastagens 15, 17, 88, 91, 93, 94, 105, 107, 108

Pasto 87, 108

Pesquisa documental 1, 3

Plantas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 43, 44, 47, 52, 53, 54, 55, 57, 60, 61, 62, 63, 64,

65, 80, 81, 82, 84, 86, 87, 88, 89, 90, 92, 93, 94, 95, 96, 99, 100, 103, 104, 105, 106, 107, 109, 110, 111, 113, 116, 117, 118, 119, 120, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 131, 146, 160, 166, 171, 172, 173, 175, 176, 177, 178, 179, 181, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 218, 221, 222

Plantas utilitárias 1, 3, 8

Producción 26, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 39, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 206, 207, 208

Produtividade 17, 41, 42, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 51, 53, 54, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 65, 88, 93, 105, 107, 109, 110, 111, 112, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 145, 150, 155, 159, 161, 167, 168, 176, 190, 211, 222

Produtor 16, 22, 56, 57, 58, 59, 63, 80, 134, 142, 148, 149, 153, 166, 209, 210, 211, 212, 215

## R

Recomendação 52, 82, 93, 209, 210, 215, 216

Rice 91, 191, 192, 194, 195, 196, 197, 198, 204, 205, 206, 207, 208

## S

Seletividade 53, 61, 62, 64

Sementes 4, 43, 61, 94, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 158, 159, 160, 175, 189

Silicato 87, 88

Soja 15, 16, 17, 24, 56, 58, 59, 108, 146, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 214

Solo 18, 23, 26, 37, 38, 41, 42, 43, 44, 48, 49, 50, 51, 52, 55, 57, 59, 62, 67, 72, 78, 81, 82, 86, 87, 88, 89, 91, 93, 94, 99, 101, 104, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 117, 124, 125, 127, 128, 147, 161, 167, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 179, 180, 182, 183, 184, 185, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 219, 220, 221, 222

SPAD 80, 81, 82, 83, 84, 85

Substâncias húmicas 109, 110, 112, 113, 116, 117

Supermercado 133, 138, 139

Sustentabilidade 25, 56, 126, 133, 143, 172, 173, 189, 210

## T

Tolerância 53, 55, 61, 62, 87, 88, 91, 187

Transgênicos 157, 161

Transporte 4, 9, 40, 55, 57, 62, 67, 88, 92, 95, 102, 103, 104, 105, 108, 133

## V

Vigor 60, 148, 149, 150, 151, 153, 154, 155, 156

# CIÊNCIAS AGRÁRIAS, INDICADORES E SISTEMAS DE PRODUÇÃO SUSTENTÁVEIS



-  [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)
-  [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

 **Atena**  
Editora  
Ano 2021

# CIÊNCIAS AGRÁRIAS, INDICADORES E SISTEMAS DE PRODUÇÃO SUSTENTÁVEIS



 [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
 [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)  
 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)  
 [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

  
Ano 2021