



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MANEJO DE SOLO E ÁGUA
MESTRADO EM MANEJO DE SOLO E ÁGUA

FRANÇÓYSE DÁVILLA DE SOUZA SILVA

***Bacillus aryabhattai*: do enraizamento adventício ao crescimento e
tolerância hídrica de clones de *Eucalyptus***

MOSSORÓ

2026

FRANÇÓYSE DÁVILLA DE SOUZA SILVA

***Bacillus aryabhattai*: do enraizamento adventício ao crescimento e
tolerância hídrica de clones de *Eucalyptus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Manejo de Solo e Água.

Linha de Pesquisa: **Tecnologia em Nutrição de Plantas e Soluções para Convivência com a Seca e Salinidade**

Orientador: Poliana Coqueiro Dias Araujo,
Prof.a Dr.a

MOSSORÓ

2026

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

S Silva, Françóyse Dávilla de Souza.
581b Bacillus aryabhattai: do enraizamento
adventício ao crescimento e tolerância hídrica de
clones de Eucalyptus / Françóyse Dávilla de Souza
Silva. - 2026.
115 f. : il.

Orientadora: Poliana Coqueiro Dias Araujo.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Manejo de Solo e Água, 2026.

1. Bactérias promotoras de crescimento . 2.
Estresse hídrico. 3. Propagação vegetativa . 4.
Bioinsumos. 5. Interação Planta-Microrganismo. I.
Araujo, Poliana Coqueiro Dias , orient. II.
Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

FRANÇÓYSE DÁVILLA DE SOUZA SILVA

***BACILLUS ARYABHATAI*: DO ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO AO
CRESCIMENTO E TOLERÂNCIA HÍDRICA DE CLONES DE *EUCALYPTUS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Manejo de Solo e Água.

Linha de Pesquisa: **Tecnologia em Nutrição de Plantas e Soluções para Convivência com a Seca e Salinidade**

Defendida em: 27/02/2026

BANCA EXAMINADORA

Poliana Coqueiro Dias Araujo, Profa. Dra. (UFERSA)
Presidente

Carlos José da Silva, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

Elaine Cristina Alves da Silva, Profa. Dra. (UFRN)
Membro Examinador

Richiel Albert Rodrigues Silva, Prof. Dr. (UFRPE)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, elevo meus olhos aos céus e agradeço a Deus, o Autor da vida, que me amou primeiro e, em Sua soberania, sustentou cada passo desta caminhada. Sem Ele, nada seria possível. Sua presença foi o alicerce nos dias difíceis e a luz que iluminou meu propósito.

À minha família, meu porto seguro, minha base, meu tudo. Em especial à minha mãe, mulher de sabedoria incomum, que nunca mediu esforços para apoiar meus sonhos e que, com seu colo acolhedor e palavras certas, me ensinou que a persistência é fruto do amor. Aos meus irmãos e a todos os familiares que, mesmo sem entenderem completamente os caminhos da pesquisa científica, sempre vibraram com cada pequena conquista. Aqui, faço uma pausa para dedicar um agradecimento especial às minhas pequenas e amadas sobrinhas, Evinha e Jade. Nos momentos em que a pressão da pós-graduação apertava o peito e a alma, foi o seu sorriso puro, o seu abraço apertado e a sua inocência que me lembraram do que realmente importa. Vocês, pequenas, têm o dom de trazer leveza aos meus dias e de me ensinar, com a simplicidade de uma criança, que a vida é mais bonita quando a gente ri junto. Obrigada por existirem e por colorir minha vida!

Agradeço de coração a todas as pessoas boas que cruzam meu caminho, amigos, vizinhos e até aqueles que a distância separa, mas que sinto, diariamente, torcendo por mim. Cada palavra de incentivo, cada gesto de carinho, cada oração fez diferença.

À minha orientadora, Prof^a Dra. Poliana Coqueiro, minha eterna gratidão. Mais do que uma orientadora, você foi guia, conselheira e inspiração. Foram muitos obstáculos, incontáveis desafios, mas, pela graça de Deus, vencemos cada um deles juntos, passo a passo. Aprendi e aprendo tanto com você, não apenas sobre ciência, mas sobre resiliência, generosidade e paixão pelo que se faz. Levarei seus ensinamentos para toda a vida.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), minha profunda gratidão por ter sido minha segunda casa durante toda esta jornada. Agradeço por toda a estrutura, pelo ambiente acadêmico enriquecedor e pela oportunidade de fazer parte desta instituição que tanto contribui para o desenvolvimento da ciência e da educação em nossa região. Levarei comigo o orgulho de ser UFERSA.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), meu sincero agradecimento pelo apoio financeiro fundamental para a realização desta pesquisa. O fomento recebido foi essencial não apenas para o desenvolvimento deste trabalho, mas também para minha formação como pesquisadora, reafirmando o papel imprescindível da CAPES no

fortalecimento da pós-graduação e da ciência brasileira. Ao programa de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água, que me acolheu.

Ao time mais top que alguém poderia ter, o Grupo de Pesquisa do Laboratório de Patologia Florestal, minha gratidão transborda. Se eu pudesse descrever essa equipe em uma frase, seria: "Vocês são incríveis! Pau pra dar em doido!" Porque só quem viveu sabe a loucura boa que é trabalhar ao lado de pessoas tão especiais.

Em especial, preciso destacar alguns nomes que foram verdadeiros presentes de Deus: Elen, minha irmã de coração e amiga de longa data, que já estava comigo muito antes dessa jornada começar e que nunca, nunca mesmo, deixou de estender a mão; Marcos e Pedro, que desde o primeiro dia não mediram esforços, estavam sempre lá, com disponibilidade e coração gigante; Jefferson e Nalbert, gratidão infinita por toda a ajuda nos experimentos (e fora deles também!), sempre presentes, sempre solícitos; Lidiane, que apareceu no meio do "caos" das análises e das planilhas e trouxe ordem, paciência e leveza, meu Deus, as planilhas! Mas deu tudo certo, e você foi essencial. E tantos outros que, direta ou indiretamente, marcaram presença: Tarlei, Breno, Leandro, Laísa, Mikael, Aline, Felipe, perdoem-me se esqueci algum nome, mas saibam que cada um tem um lugar especial no meu coração.

Aos amigos da pós-graduação, parceiros de risadas e desabafos nessa vida tão pesada que é o universo acadêmico: Norlan (mi amigo!), Terly, Karen, Luara, Joilma, Eri, Amanda, vocês tornaram essa jornada mais leve, mais humana e muito mais divertida. Obrigada por cada café compartilhado, cada piada sem graça que virou memória, cada abraço de alívio.

Enfim, são tantas pessoas que, se fosse listar todas, precisaria de páginas e páginas. Mas fica aqui registrado meu mais sincero e profundo agradecimento: família, amigos, colegas, professores, funcionários, todos vocês são importantes para o meu coração.

Amo vocês imensamente e espero que possamos viver, ainda, muitos momentos juntos. Que a vida nos permita celebrar não só esta conquista, mas todas as que ainda virão.

Deus abençoe cada um de vocês!

“Quando passares pelas águas estarei contigo; e, quando pelos rios, eles não te submergirão;
quando passares pelo fogo, não te queimarás, nem a chama arderá em ti.”

(Isaías 43:2)

RESUMO

A busca por estratégias produtivas sustentáveis que promovam o vigor inicial e a resiliência de clones de *Eucalyptus* tem se intensificado diante das limitações hídricas e da necessidade de expandir os plantios florestais. Nesse cenário, o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), como o *Bacillus aryabhattai*, surge como alternativa promissora, não apenas por estimular o enraizamento adventício e o crescimento vegetativo, mas também por induzir mecanismos fisiológicos e bioquímicos que podem atenuar os efeitos do déficit hídrico. Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação com *Bacillus aryabhattai* sobre o enraizamento adventício na fase de produção de mudas e as respostas bioquímicas, enzimáticas, fisiológicas e de desenvolvimento de cinco clones híbridos de *Eucalyptus* nos três primeiros meses após o plantio com período de estresse hídrico. Durante a fase de enraizamento o experimento foi conduzido em casa de enraizamento por 28 dias, adotando o delineamento inteiramente ao acaso com 2 tratamentos (Sem inoculação e inoculado), 5 repetições contendo 10 propágulos por parcela, sendo avaliados os caracteres de enraizamento, altura e diâmetro das mudas. Para a fase de transplantio para os vasos o experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 2 (controle - sem inoculação e inoculado - *Bacillus aryabhattai*) x 5 (genótipos), totalizando 10 tratamentos, com 9 repetições e 3 plantas por parcela. Ao longo do experimento, foram avaliados caracteres de crescimento, como altura, diâmetro e número de folhas; bioquímicos, como as enzimas catalase, ascorbato peroxidase, níveis de prolina e açúcares, as análises nutricionais, como quantidade de nitrogênio, fósforo e potássio presente nas raízes e nas folhas, massa fresca e seca produzida. Em relação aos caracteres de crescimento, não foi observada interação significativa da inoculação com a bactéria *Bacillus aryabhattai*. Contudo, a eficácia da inoculação foi genótipo-dependente. Respostas significativas foram observadas para os clones G30, G14 e G106 em diferentes caracteres. O genótipo G14 apresentou aceleração na fase de enraizamento, reduzindo seu tempo em estufa de 20 para 16 dias. O clone G30 destacou-se pela responsividade à inoculação quanto à biomassa radicular, com incremento na massa seca das raízes de 273,16 g/planta no tratamento controle para 328,26 g/planta no tratamento inoculado. Em relação aos osmólitos, os genótipos G30 e G106 apresentaram redução significativa nos níveis de prolina quando inoculados, reforçando o papel atenuante da bactéria sob condições de estresse. Embora a inoculação não tenha promovido incrementos consistentes no crescimento morfológico em altura, diâmetro e número de folhas, foram observadas respostas significativas para biomassa produzida, modulação positiva do sistema antioxidante e ajuste nos metabólitos osmóticos. Dessa forma, conclui-se que *Bacillus aryabhattai* apresenta potencial como ferramenta biotecnológica para a silvicultura, favorecendo o enraizamento adventício em genótipos com baixo índice de enraizamento e promovendo o equilíbrio fisiológico sob estresse hídrico. No entanto, sua aplicação requer a seleção criteriosa de combinações microrganismo-genótipo e a integração com estratégias de manejo para maximizar os benefícios em ambientes semiáridos.

Palavras-chave: Bactérias promotoras de crescimento, Estresse hídrico, Propagação vegetativa, Bioinsumos, Interação Planta-Microrganismo.

ABSTRACT

The search for sustainable production strategies that promote the initial vigor and resilience of *Eucalyptus* clones has intensified in light of water limitations and the need to expand forest plantations. In this scenario, the use of plant growth-promoting bacteria (PGPB), such as *Bacillus aryabhatai*, emerges as a promising alternative, not only because it stimulates adventitious rooting and vegetative growth, but also because it induces physiological and biochemical mechanisms that can mitigate the effects of water deficit. Given this context, the present study aimed to evaluate the effects of inoculation with *Bacillus aryabhatai* on adventitious rooting in the seedling production phase and the biochemical, enzymatic, physiological, and developmental responses of five *Eucalyptus* hybrid clones in the first three months after planting with a period of water stress. During the rooting phase, the experiment was conducted in a rooting house for 28 days, adopting a completely randomized design with two treatments (no inoculation and inoculated), five replicates containing ten propagules per plot, evaluating the rooting characteristics, height, and diameter of the seedlings. For the transplanting phase to pots, the experiment was conducted in a randomized block design, in a factorial scheme 2 (control - without inoculation and inoculated - *Bacillus aryabhatai*) x 5 (genotypes), totaling 10 treatments, with 9 replicates and 3 plants per plot. Throughout the experiment, growth characteristics such as height, diameter, and number of leaves were evaluated, as well as biochemical characteristics such as catalase and ascorbate peroxidase enzymes, proline and sugar levels, nutritional analyses such as the amount of nitrogen, phosphorus, and potassium present in the roots and leaves, and fresh and dry mass produced. Regarding growth traits, no significant interaction was observed between inoculation and the *Bacillus aryabhatai* bacterium. However, the effectiveness of inoculation was genotype-dependent. Significant responses were observed for clones G30, G14, and G106 in different traits. Genotype G14 showed acceleration in the rooting phase, reducing its time in the greenhouse from 20 to 16 days. Clone G30 stood out for its responsiveness to inoculation in terms of root biomass, with an increase in root dry mass from 273.16 g/plant in the control treatment to 328.26 g/plant in the inoculated treatment. Regarding osmolyte levels, genotypes G30 and G106 showed a significant reduction in proline levels when inoculated, reinforcing the mitigating role of the bacteria under stress conditions. Although inoculation did not promote consistent increases in morphological growth in height, diameter, and number of leaves, significant responses were observed for biomass produced, positive modulation of the antioxidant system, and adjustment in osmotic metabolites. Thus, it is concluded that *Bacillus aryabhatai* has potential as a biotechnological tool for forestry, favoring adventitious rooting in genotypes with low rooting rates and promoting physiological balance under water stress. However, its application requires careful selection of microorganism-genotype combinations and integration with management strategies to maximize benefits in semi-arid environments.

Keywords: Growth-promoting bacteria, Water stress, Vegetative propagation, Bio-inputs, Plant-Microorganism Interaction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento por bactérias promotoras do crescimento vegetal.	29
Figura 2-Mecanismo de redução do etileno por BPCV (bactérias promotoras do crescimento vegetal) sob estresse hídrico.	30
Figura 3 - Proporção acumulada de propágulos enraizados ao longo do tempo para os cinco genótipos sob os tratamentos controle (sem inoculação) e inoculado (com <i>Bacillus aryabhattai</i>).	45
Figura 4 - Altura média (cm) de mudas de genótipos de <i>Eucalyptus urophylla</i> x <i>E. brassiana</i> (13); <i>E. tereticornis</i> x <i>E. brassiana</i> x <i>E. urophylla</i> (14); <i>E. tereticornis</i> x <i>E. brassiana</i> x <i>E. grandis</i> (30); e <i>E. urophylla</i> x <i>E. tereticornis</i> (104 e 106), nos tratamentos sem e com inoculação com <i>Bacillus aryabhattai</i> , avaliados após transferência para pleno sol.....	47
Figura 5 - Diâmetro médio do coleto (cm) de mudas dos clones híbridos <i>Eucalyptus urophylla</i> x <i>E. brassiana</i> (13); <i>E. tereticornis</i> x <i>E. brassiana</i> x <i>E. urophylla</i> (14); <i>E. tereticornis</i> x <i>E. brassiana</i> x <i>E. grandis</i> (30); <i>E. urophylla</i> x <i>E. tereticornis</i> (104 e 106), nos tratamentos sem e com inoculação de <i>Bacillus aryabhattai</i> , avaliados após transferência para pleno sol.....	48
Figura 6 - Dinâmica temporal da altura de plantas em cinco genótipos de <i>Eucalyptus</i> sob estresse hídrico, com e sem inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal.	52
Figura 7 - Crescimento diamétrico ao longo do ciclo experimental em cinco genótipos de <i>Eucalyptus</i> submetidos a estresse hídrico, avaliando o efeito da inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal.	53
Figura 8 - Dinâmica temporal do número de folhas em cinco genótipos de <i>Eucalyptus</i> sob estresse hídrico, com e sem inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal.	55
Figura 9 - Índice SPAD (teor relativo de clorofila) ao longo das avaliações para os genótipos de <i>Eucalyptus</i> sob condições de estresse hídrico.....	58
Figura 10 - Avaliação de Temperatura ao longo das avaliações para os genótipos de <i>Eucalyptus</i> sob condições de estresse hídrico.	61
Figura 11 - Avaliação de Sobrevivência (%) ao longo das avaliações para os genótipos de <i>Eucalyptus</i> sob condições de estresse hídrico.	64
Figura 12 - Características de crescimento dos genótipos G13, G14, G30, G104 e G106: (A) altura de plantas (cm), (B) diâmetro do coleto (mm), (C) número de folhas (unidade planta ⁻¹) e (D) índice SPAD.....	67
Figura 13 - Massa fresca de raízes (A) e massa seca de raízes (B) de cinco genótipos de <i>Eucalyptus</i> submetidos aos tratamentos sem inoculação e com inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV).	70
Figura 14 - Massa fresca total (A) e massa seca total (B) de folhas de genótipos de <i>Eucalyptus</i>	

submetidos aos tratamentos sem inoculação e com inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), sob condição de estresse hídrico.....71

Figura 15 - Massa fresca (A, C), massa seca (B, D) e massa total (E, F) de folhas e caule de cinco genótipos de *Eucalyptus* submetidos aos tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*.73

Figura 16 - Nitrogênio (N) das folhas e raízes (A, B), Fósforo (P) em folhas e raízes (C, D) e Potássio nas folhas (E) de cinco genótipos de *Eucalyptus* submetidos aos tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*.76

Figura 17 - Teores de prolina (A), açúcares solúveis na raiz – GLU (B), clorofila b (C), clorofilas totais (D), atividade da ascorbato peroxidase (APX) (E), e Catalase (F) em cinco genótipos de *Eucalyptus* submetidos aos tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*.80

Figura 18 - Teores de açúcares solúveis totais na folha (GLU) (A) e vitamina C (B) em cinco genótipos de *Eucalyptus* submetidos aos tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*.81

Figura 19 - Teores de açúcares solúveis totais na folha (GLU) (A), carotenoides (B), clorofila a (C) e vitamina C (D) nos genótipos G13, G14, G30, G104 e G106 de *Eucalyptus*.82

Figura 20 - Micrografias eletrônicas de varredura (MEV) evidenciando a colonização radicular de cinco genótipos de *Eucalyptus* por *Bacillus aryabhattai*, nos tratamentos Controle e Inoculado83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades químicas e físicas do substrato (solo arenoso) utilizado na condução do experimento em condição simulada de campo com inoculação por <i>Bacillus aryabhattai</i> em clones de <i>Eucalyptus</i>	38
Tabela 2. Propriedades físicas e classe textural do substrato (solo arenoso) utilizado no experimento em condição simulada de campo com inoculação por <i>Bacillus aryabhattai</i> em clones de <i>Eucalyptus</i>	38
Tabela 3. Caracterização físico-química da água de irrigação utilizada no experimento em condição simulada de campo com inoculação por <i>Bacillus aryabhattai</i> em clones de <i>Eucalyptus</i>	38
Tabela 4. Enraizamento final, aos 28 dias, de cinco genótipos de <i>Eucalyptus</i> sob tratamentos com e sem inoculação com <i>Bacillus aryabhattai</i>	46
Tabela 5. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para altura das plantas ao longo do tempo, considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação) e a interação avaliação × inoculação.	49
Tabela 6. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para diâmetro das plantas ao longo do tempo, considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação) e a interação avaliação × inoculação. . Erro! Indicador não definido.	
Tabela 7. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para número de folhas das plantas ao longo do tempo, considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação) e a interação avaliação × inoculação.	53
Tabela 8. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para SPAD das plantas ao longo do tempo, considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação) e a interação avaliação × inoculação.	56
Tabela 9. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para temperatura das folhas das plantas ao longo do tempo, considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação) e a interação avaliação × inoculação.	59
Tabela 10. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para sobrevivência das folhas das plantas ao longo do tempo, considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação) e a interação avaliação × inoculação.	62
Tabela 11. P-valor da ANOVA avaliando o efeito da inoculação, genótipo e a interação entre Inoculação e o genótipo para Altura, Diâmetro do Coleto, Número de Folhas, Área Foliar, SPAD, Temperatura Foliar e Sobrevivência.	65
Tabela 12. P-valor da ANOVA avaliando o efeito da inoculação, genótipo e a interação entre Inoculação e o genótipo para Massa Fresca da folha, caule raiz e total, e Massa seca de folha, Caule, Raiz e total.	68
Tabela 14. P-valor da ANOVA avaliando o efeito da inoculação com <i>Bacillus aryabhattai</i> ,	

genótipo e a interação entre inoculação e o genótipo para prolina, açúcares (GLU), clorofilas a, b e total, carotenoides, vitamina C, ascorbato Peroxidase (APX), Catalase 78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	1-Aminociclopropano-1-Carboxilato
AIA	Ácido Indolacético (Auxina)
ANOVA	Análise de Variância (do inglês <i>Analysis of Variance</i>)
APX	Ascorbato Peroxidase
ARFs	Fatores de Resposta à Auxina (do inglês <i>Auxin Response Factors</i>)
BPCV	Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal
CAT	Catalase
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPS	Exopolissacarídeos
HR	Razão de Riscos Instantâneos (do inglês <i>Hazard Ratio</i>)
IAM	Indol-3-Acetamida
IBÁ	Indústria Brasileira de Árvores
IC	Intervalo de Confiança
IPA	Ácido Indol-3-Pirúvico
ISR	Indução de Resistência Sistêmica (do inglês <i>Induced Systemic Resistance</i>)
K	Potássio
LBDs	Domínios de Limite de Órgãos Laterais (do inglês <i>Lateral Organ Boundaries Domain</i>)
N	Nitrogênio
ONU	Organização das Nações Unidas
OR	Razão de Chances (do inglês <i>Odds Ratio</i>)
P	Fósforo
p	Nível descritivo de probabilidade (significância estatística)
pH	Potencial Hidrogeniônico
PINs	Transportadores de efluxo de auxina (Proteínas PIN)
rpm	Rotações por minuto
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio (do inglês <i>Reactive Oxygen Species</i>)
SOD	Superóxido Dismutase
SPAD	Índice de clorofila (do inglês <i>Soil Plant Analysis Development</i>)
TFK	Tampão Fosfato de Potássio

UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semiárido
WOX	Homeobox relacionada a WUSCHEL (do inglês <i>WUSCHEL-related homeobox</i>)

LISTA DE SÍMBOLOS

©	Copyright
®	Marca registrada
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO GERAL	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 MINIESTAQUIA NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE <i>EUCALYPTUS</i>	21
2.2 UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS NA PRODUÇÃO DE MUDAS	23
2.3 EFEITO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA PRODUÇÃO DE MUDAS: BASES FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E MOLECULARES DA INTERAÇÃO PLANTA–MICRORGANISMO NO ENRAIZAMENTO E CRESCIMENTO	26
2.4 EFEITO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA RESISTÊNCIA A FATORES ABIÓTICOS E SOBREVIVÊNCIA DE PLANTAS EM CAMPO	28
2.5 COMO AS BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO PODEM AUXILIAR NA PRODUÇÃO FLORESTAL NO SEMIÁRIDO?	33
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 LOCALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS	35
3.2 SUSPENSÃO LÍQUIDA CONCENTRADA DO INÓCULO.....	35
3.3 COLETA DAS BROTAÇÕES E PREPARO DAS MINIESTACAS.....	36
3.4 INOCULAÇÃO DAS MINIESTACAS	36
3.5 PROCEDIMENTOS DE VIVEIRO: ENRAIZAMENTO, RUSTIFICAÇÃO E ACLIMATAÇÃO.....	37
3.6 TRANSPLANTIO DAS MUDAS PARA OS VASOS	37
3.7 AVALIAÇÕES.....	39
3.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	42
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
4 RESULTADOS.....	44
4.1 DINÂMICA TEMPORAL E EFICIÊNCIA DO ENRAIZAMENTO	44
4.2 EFEITO DA INOCULAÇÃO NO CRESCIMENTO EM ALTURA E DIÂMETRO DAS MUDAS.....	46
4.3 DINÂMICA DE CRESCIMENTO EM ALTURA, DIÂMETRO E NÚMERO DE FOLHAS DE MUDAS DE HÍBRIDOS DE <i>EUCALYPTUS</i> INOCULADAS COM <i>BACILLUS ARYABHATAI</i> NA FASE PÓS-TRANSPLANTIO	48
4.4 VARIAÇÃO DO ÍNDICE SPAD E TEMPERATURA EM FUNÇÃO DOS TRATAMENTOS (COM E SEM INOCULAÇÃO) E ESTRESSE HÍDRICO	56
4.5 ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA DE PLANTAS INOCULADAS E NÃO INOCULADAS EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO.....	62
4.6 EFEITO DA INOCULAÇÃO COM <i>BACILLUS ARYABHATAI</i> PARA OS CARACTERES DE CRESCIMENTO E ÍNDICE DE SPAD	63
4.7 ACÚMULO DE BIOMASSA: MASSA FRESCA E SECA DE FOLHAS, CAULE E RAÍZES	67
4.8 INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO COM <i>BACILLUS ARYABHATAI</i> NA ABSORÇÃO E ACÚMULO DE NUTRIENTES ..	74
4.9 MODULAÇÃO DO METABOLISMO ANTIOXIDANTE E OSMOPROTETORES EM RESPOSTA À INOCULAÇÃO BACTERIANA	77

4.10 COLONIZAÇÃO RADICULAR POR <i>BACILLUS ARYABHATAI</i> EM GENÓTIPOS DE <i>EUCALYPTUS</i> : EVIDÊNCIAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA NAS RAÍZES (MEV)	80
5. DISCUSSÃO	84
5.1 DINÂMICA TEMPORAL E EFICIÊNCIA DO ENRAIZAMENTO	84
5.2 EFEITO DA INOCULAÇÃO NO CRESCIMENTO EM ALTURA E DIÂMETRO DAS MUDAS NA FASE DE ENRAIZAMENTO	87
5.3 DINÂMICA DE CRESCIMENTO EM ALTURA, DIÂMETRO E NÚMERO DE FOLHAS DE MUDAS DE CLONES DE <i>EUCALYPTUS</i> INOCULADAS COM <i>BACILLUS ARYABHATAI</i> NA FASE PÓS-TRANPLANTIO	87
5.4. VARIAÇÃO DO ÍNDICE SPAD E TEMPERATURA EM FUNÇÃO DOS TRATAMENTOS (COM E SEM INOCULAÇÃO) EM GENÓTIPOS DE <i>EUCALYPTUS</i> SOB ESTRESSE HÍDRICO	91
5.5 ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA DE PLANTAS INOCULADAS E NÃO INOCULADAS EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO.....	92
5.6 ACÚMULO DE BIOMASSA: MASSA FRESCA E SECA DE FOLHAS, CAULE E RAÍZES	94
5.7 INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO COM <i>BACILLUS ARYABHATAI</i> NA ABSORÇÃO E ACÚMULO DE NUTRIENTES ...	96
5.8 MODULAÇÃO DO METABOLISMO ANTIOXIDANTE E OSMOPROTETORES EM RESPOSTA À INOCULAÇÃO BACTERIANA COM <i>BACILLUS ARYABHATAI</i>	98
6. CONCLUSÃO.....	101
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102
APENDICE A	102

1. INTRODUÇÃO GERAL

As florestas plantadas constituem um pilar importante para conciliar o desenvolvimento econômico do setor florestal com a conservação dos ecossistemas naturais, especialmente em um cenário em que a demanda global por produtos madeireiros tende a crescer e a pressão antrópica sobre os recursos naturais tende a aumentar (Kaur; Monga, 2021; Lima *et al.*, 2022). Dentre as espécies utilizadas para suprir essa necessidade, destacam-se as espécies do gênero *Eucalyptus*, que é originário da Austrália e está distribuído por diferentes zonas climáticas e, em razão de suas características como rápido crescimento, adaptabilidade e propriedades tecnológicas da madeira, é um gênero que apresenta espécies elegíveis para plantações em larga escala (de Almeida *et al.*, 2015; Bayle, 2019; Amrutha *et al.*, 2021; Felice *et al.*, 2024).

No Brasil, o setor de florestas equiâneas é dominado pelo gênero *Eucalyptus*, que ocupa aproximadamente 76% da área de florestas plantadas, e se destaca pela alta produtividade, ciclos rotacionais curtos e versatilidade de uso (IBÁ, 2025; Lima *et al.*, 2022). Para assegurar a uniformidade e os ganhos genéticos obtidos com os materiais de elite, a silvicultura moderna baseia-se na propagação clonal. Nesse contexto, a técnica da miniestaquia consolida-se como uma metodologia base para a multiplicação de genótipos selecionados, superando métodos convencionais, como a estaquia, ao oferecer uniformidade, alta taxa de multiplicação, rapidez e manutenção da identidade genética (Dias *et al.*, 2015; Almeida *et al.*, 2017; Baccarin *et al.*, 2015; Felice *et al.*, 2024).

Entretanto, a eficiência e a sustentabilidade deste sistema são desafiadas por fatores bióticos e abióticos. Entre os fatores bióticos intrínsecos, destaca-se a recalcitrância ao enraizamento adventício apresentada por alguns clones, fenômeno que é influenciado por fatores ontogenéticos, nutricionais e genéticos (Brondani *et al.*, 2014; Wendling; Trueman; Xavier, 2014; Vilasboa; Costa; Fett-Neto, 2022). Paralelamente, a crescente ocorrência de eventos climáticos extremos, notadamente os períodos de estresse hídrico, impõe um dos principais limites abióticos ao sucesso da produção de mudas e ao estabelecimento inicial no campo, visto que a deficiência hídrica pode comprometer processos fisiológicos essenciais e o desenvolvimento radicular pós-enraizamento (Bartlett *et al.*, 2014; Amrutha *et al.*, 2021).

Em busca de soluções sustentáveis e alinhadas com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ONU, 2015), o uso de estratégias biotecnológicas utilizando bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) tem ganhado notoriedade. Esses microrganismos, estabelecem associações benéficas com as plantas, auxiliando-as por meio de benefícios diretos, como a produção de fitormônios, (auxinas) e a solubilização de nutrientes (fósforo), e de benefícios

indiretos que envolvem a Indução de Resistência Sistêmica (ISR), às condições de estresse (Wang *et al.*, 2014; Goswami; and Dhandhukia, 2016; Jakubowska; Gradowski; Dobrzyński, 2025).

Conforme apresentado na literatura, grupos de microrganismos considerados promotores de crescimento, que pertencem aos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* têm ganhado destaque em alguns consórcios bacterianos e já demonstraram potencial para aumentar a taxa de enraizamento, a qualidade radicular e a produção de biomassa em clones de *Eucalyptus* (Teixeira *et al.*, 2007; Nwigwe; Fossey; de Smidt, 2023).

Dentre as BPCV, a espécie *Bacillus aryabhatai* tem se destacado pelo seu efeito na promoção de crescimento, atenuando o estresse hídrico em diversas culturas agrícolas (May *et al.*, 2019; Shin *et al.*, 2019; Sousa *et al.*, 2023). Seus mecanismos de ação envolvem a síntese de exopolissacarídeos, a modulação da produção de fitormônios vegetais e a eficiente solubilização de fosfatos (Park *et al.*, 2017; Sansinenea, 2019; Xu *et al.*, 2022; Mun *et al.*, 2024). Além disso, a aplicação deste bioinoculante pode melhorar a qualidade do solo e a eficiência no uso da água, uma vez que é uma tecnologia alinhada aos princípios de uma silvicultura de baixo impacto (Ren *et al.*, 2020; Mun *et al.*, 2024).

Apesar do potencial das BPCV, como *Bacillus aryabhatai*, em mitigar estresses abióticos (Park *et al.*, 2017; May *et al.*, 2019; Sousa *et al.*, 2023), sua interação com clones de *Eucalyptus* ainda é pouco explorada, especialmente durante as fases de produção de mudas por miniestaquia e crescimento inicial em campo, reconhecidas como altamente sensíveis a limitações hídricas (Vellini *et al.*, 2008; Xavier *et al.*, 2013; Brondani *et al.*, 2014).

Especificamente na miniestaquia, poucos estudos abordam diretamente a interação entre bactérias benéficas e o processo de enraizamento. A inoculação de rizobactérias e bactérias do filoplano pode favorecer o enraizamento e o crescimento de miniestacas de *Eucalyptus*, indicando que microrganismos associados ao sistema radicular podem exercer um papel relevante na rizogênese (Spassin *et al.* 2016).

Pesquisas com rizobactérias de cactáceas nativas mostram que microrganismos adaptados ao semiárido mantêm sua funcionalidade sob estresse hídrico, atuando na resiliência de suas plantas hospedeiras (Kavamura *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2020). Esse conhecimento pode ser estrategicamente transferido para a silvicultura em regiões semiáridas, incluindo o cultivo de genótipos de *Eucalyptus*. Portanto, o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) adaptadas à aridez surge como uma abordagem promissora para melhorar o estabelecimento, o crescimento inicial e a sobrevivência de mudas de *Eucalyptus*, contribuindo para a sustentabilidade de plantios florestais em regiões semiáridas.

Diante desse potencial e da necessidade de desenvolvimento de estratégias biotecnológicas sustentáveis para otimizar a produção de mudas de *Eucalyptus* e melhorar seu estabelecimento em ambientes semiáridos, este trabalho contempla as seguintes hipóteses: i) a inoculação com *Bacillus aryabhattai* promove a produção de mudas com maior índice de enraizamento e crescimento, devido ao melhor ajuste hormonal e nutricional; ii) a inoculação com *Bacillus aryabhattai* induz um estado de “priming” fisiológico e bioquímico em clones híbridos de *Eucalyptus* caracterizado pela modulação positiva do sistema antioxidante enzimático e pela manutenção da integridade de processos fotossintéticos sob condições de estresse hídrico, quando comparado a plantas não inoculadas; e iii) a inoculação confere maior tolerância ao estresse hídrico, por meio da modulação de respostas fisiológicas, promovendo maior sobrevivência e crescimento em condições simuladas de campo, sendo tais efeitos dependentes do genótipo, com variabilidade de resposta entre clones híbridos de *Eucalyptus*.

Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar os efeitos da inoculação com *Bacillus aryabhattai* e a resposta bioquímica, enzimática, fisiológica e de desenvolvimento de cinco clones híbridos de *Eucalyptus* desde a produção de mudas até o estabelecimento inicial em condições simuladas de campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. R. et al. Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. **Trees**, v. 31, n. 5, p. 1377–1390, 2017. DOI:10.1007/s00468-017-1550-6.
- AMRUTHA, S. et al. Characterization of *Eucalyptus camaldulensis* clones with contrasting response to short-term water stress response. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 43, n. 1, p. 14, 2021. DOI:10.1007/s11738-020-03175-0.
- BACCARIN, F. J. B. et al. Vegetative rescue and cloning of *Eucalyptus benthamii* selected adult trees. **New Forests**, v. 46, n. 4, p. 465–483, 2015. DOI: 10.1007/s11056-015-9472-x.
- BARTLETT, M. K. et al. Global analysis of plasticity in turgor loss point, a key drought tolerance trait. **Ecology Letters**, v. 17, n. 12, p. 1580–1590, 2014. DOI: 10.1111/ele.12374.
- BAYLE, G. K. Ecological and social impacts of *Eucalyptus* tree plantation on the environment. **Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management**, 2019. DOI: 10.3329/jbcbm.v5i1.42189.
- BRONDANI, G. E. et al. Miniestaca de *Eucalyptus benthamii*: efeito do genótipo, AIB, zinco, boro e coletas de brotações. **CERNE**, v. 20, p. 147–156, 2014. DOI: 10.1590/S0104-77602014000100018.
- DE ALMEIDA, M. R. et al. A análise transcricional comparativa fornece novas informações sobre a base molecular da recalcitrância do enraizamento adventício em eucalipto. **Plant Science**, v. 239, p. 155–165, 2015. DOI: 10.1016/j.plantsci.2015.07.022.
- DIAS, P. C. et al. Tipo de miniestaca e de substrato na propagação vegetativa de angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan). **Ciência Florestal**, v. 25, n. 4, p. 909–919, 2015. DOI: 10.5902/1980509820593.
- FELICE, F. E. F. de et al. Mini-cutting technique for the propagation of a *Eucalyptus camaldulensis* clone selected in a semiarid region. **Forest Systems**, v. 33, n. 3, p. 20905–20905, 2024. DOI: 10.5424/fs/2024333-20905.
- GOSWAMI, D.; Thakker, Janki N.; DHANDHUKIA, P. C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 1127500, 2016. DOI: 10.1080/23311932.2015.1127500.
- IBÁ. **Instituto Brasileiro de Florestas - IBF**, 2025. Disponível em: <https://www.ibflorestas.org.br/>. Acesso em: 21 jan. 2026.
- JAKUBOWSKA, Z.; GRADOWSKI, M.; DOBRZYŃSKI, J. Role of plant growth-promoting bacteria (PGPB) in enhancing phenolic compounds biosynthesis and its relevance to abiotic stress tolerance in plants: a review. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 118, n. 9, p. 123, 2025. DOI: 10.1007/s10482-025-02130-8.
- KAUR, A.; MONGA, R. Eucalyptus Trees Plantation: A Review on Suitability and their Beneficial Role. **International Journal of Bio-resource and Stress Management**, v. 12, n. Feb, 1, p. 016–025, 2021. DOI: 10.23910/1.2021.2174.
- LIMA, M. S. de et al. Mini-cutting technique application in *Corymbia* and *Eucalyptus*: effects of mini-tunnel use across seasons of the year. **New Forests**, v. 53, n. 1, p. 161–179, 2022. DOI:10.1007/s11056-021-09851-4.
- MAY, A. et al. Induction of drought tolerance by inoculation of *Bacillus aryabhattai* on sugarcane seedlings. **Portal Embrapa**, 2019. DOI: 10.15361/1984-5529.2019v47n4p400-410.
- MUN, B.-G. et al. (PDF) The PGPR *Bacillus aryabhattai* promotes soybean growth via nutrient and chlorophyll maintenance and the production of butanoic acid. **ResearchGate**, v. 15, p. 1341993, 2024. DOI: 10.3389/fpls.2024.1341993.
- NWIGWE, C.; FOSSEY, A.; DE SMIDT, O. Effects of Plant Growth Promoting Rhizospheric Bacteria (PGPR) on Survival, Growth and Rooting Architecture of *Eucalyptus* Hybrid Clones. **Forests**, v. 14, n. 9, p. 1848, 2023. DOI: 10.3390/f14091848.

ONU. **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável | As Nações Unidas no Brasil.**, 2015. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 21 jan. 2026.

PARK, Y.-G. et al. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PLOS ONE**, v. 12, n. 3, p. e0173203, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0173203.

REN, H. et al. Responses of soil enzyme activities and plant growth in a *Eucalyptus* seedling plantation amended with bacterial fertilizers. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 6, p. 1381–1396, 2020. DOI: 10.1007/s00203-020-01849-4.

SANSINENEA, E. *Bacillus* spp.: As Plant Growth-Promoting Bacteria. Cingapura: **Springer**, 2019. p. 225–237. DOI: 10.1007/978-981-13-5862-3_11.

SHIN, D. J. et al. Effect of *Bacillus aryabhattai* H26-2 and *B. siamensis* H30-3 on Growth Promotion and Alleviation of Heat and Drought Stresses in Chinese Cabbage. **The Plant Pathology Journal**, v. 35, n. 2, p. 178–187, 2019. DOI: 10.5423/PPJ.NT.08.2018.0159.

SOUSA, H. C. et al. *Bacillus aryabhattai* Mitigates the Effects of Salt and Water Stress on the Agronomic Performance of Maize under an Agroecological System. **Agriculture**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 1150, 2023. DOI: 10.3390/agriculture13061150.

TEIXEIRA, D. A. et al. Rhizobacterial promotion of *Eucalyptus* rooting and growth. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 118–123, 2007. DOI: 10.1590/S1517-83822007000100025.

VELLINI, A. L. T. T. et al. Respostas fisiológicas de diferentes clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação. **Revista Árvore**, v. 32, p. 651–663, 2008. DOI: 10.1590/S0100-67622008000400006.

VILASBOA, J.; COSTA, C. T. D.; 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, p. 3281, 2022. DOI: 10.3390/plants11233281.

WANG, S. S. et al. Estudo sobre bactérias promotoras de resistência à seca em plantas da espécie *Populus euphratica*, árvore que vive em área árida | Indian Journal of Microbiology | **Springer Nature.**, 2014. DOI: 10.1007/s12088-014-0479-3.

WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry—part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. **New Forests**, v. 45, n. 4, p. 473–486, 2014. DOI:10.1007/s11056-014-9415-y.

XU, H. et al. Bactéria endofítica *Bacillus aryabhattai* induz novas alterações transcriptômicas para estimular o crescimento de plantas. **PLOS One**. 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0272500.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Miniestaquia na produção de mudas de *Eucalyptus*

A miniestaquia é uma técnica que revolucionou a propagação vegetativa das espécies que fazem parte do gênero *Eucalyptus*, sendo essencial para o melhoramento genético e para a produção de mudas clonais de alta qualidade, tornando-se o principal método adotado pelos viveiros florestais para a clonagem de *Eucalyptus* (Wendling; Xavier, 2005; Oliveira *et al.*, 2012; Brondani *et al.*, 2012; Patiño *et al.*, 2022). Essa técnica permite multiplicar genótipos superiores previamente selecionados em programas de melhoramento, visando ao aumento da produtividade e da uniformidade dos plantios (Brondani *et al.*, 2012; Fernandes *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2022).

Para viabilizar essa multiplicação em larga escala, a miniestaquia destaca-se como uma técnica eficiente, sobretudo pela utilização de propágulos com elevado grau de juvenilidade provenientes de brotações de matrizes mantidas em minijardins clonais (Stuepp *et al.*, 2018; Kuppusamy *et al.*, 2019). Esse material juvenil favorece o enraizamento das miniestacas e resulta em maior homogeneidade e qualidade das mudas produzidas (Almeida *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2022; Felice *et al.*, 2024). Dessa forma, ao conciliar a preservação da base genética de matrizes elite com elevadas taxas de multiplicação e uniformidade morfológica e genética, essa técnica se configura como uma resposta operacional à necessidade de capturar e produzir, em larga escala, os ganhos obtidos em programas de melhoramento genético (Baccarin *et al.*, 2015; Brondani *et al.*, 2017).

Essa eficiência fica evidente quando comparada a métodos convencionais, como a semeadura ou a estaquia tradicional, pois a miniestaquia apresenta vantagens como maior uniformidade entre plantas, maior produtividade clonal, redução do tempo de produção e possibilidade de propagação eficiente de clones superiores (Jannat *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2022).

No entanto, o sucesso da técnica depende diretamente da capacidade de formação de raízes adventícias, processo influenciado por fatores como genótipo, estado fisiológico do propágulo, condições nutricionais e juvenilidade do material vegetativo (Wendling; Trueman; Xavier, 2014; Vilasboa; Costa; Fett-Neto, 2022). De modo geral, brotos juvenis, especialmente sob adequado balanço nutricional e com o uso criterioso de reguladores de crescimento, apresentam maior potencial de enraizamento, enquanto materiais mais maduros tendem a mostrar uma redução progressiva dessa capacidade (Wendling; Trueman; Xavier, 2014; Stuepp *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2022).

Apesar de sua ampla adoção em empresas florestais, a adaptação de protocolos de miniestaquia a diferentes materiais genéticos ainda representa um desafio, sobretudo em híbridos de *Eucalyptus* considerados de difícil propagação (Bryant *et al.*, 2015; Trueman; Hung; Wendling, 2018). Esses materiais frequentemente apresentam recalcitrância ao enraizamento, caracterizada pela baixa capacidade de formar raízes adventícias a partir de tecidos não especializados durante a propagação clonal (Almeida *et al.*, 2017).

Diante dessas limitações, a integração entre a miniestaquia e o uso de reguladores de crescimento tem se mostrado uma estratégia importante para superar obstáculos como a recalcitrância ao enraizamento em clones selecionados, ampliando a aplicabilidade da técnica (Stuepp *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2022).

Adicionalmente, fatores ontogenéticos são determinantes na resposta ao enraizamento, uma vez que a maturidade fisiológica reduz gradualmente a competência rizogênica, enquanto materiais juvenis, como brotações epicórmicas basais, tendem a enraizar com maior eficiência (Baccarin *et al.*, 2015; Almeida *et al.*, 2017). Também é importante considerar que condições ambientais, como disponibilidade hídrica, temperatura e época de coleta das miniestacas, influenciam diretamente a formação e o desenvolvimento do sistema radicular (Brondani *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2022).

Para o setor florestal, em síntese, a miniestaquia tem se mostrado uma técnica eficaz e capaz de maximizar a produção clonal de *Eucalyptus*, permitindo reduzir o tempo de implantação dos plantios e acelerar a captura dos ganhos. Quando implementada em escala operacional, contribui para um sistema produtivo mais eficiente, com maior uniformidade dos povoamentos e melhor desempenho silvicultural em campo. Ainda assim, persistem desafios relacionados à otimização de protocolos sob condições ambientais adversas, como estresse hídrico, salinidade ou variações térmicas típicas de diferentes regiões de cultivo (Santos *et al.*, 2020; Nwigwe; Fossey; de Smidt, 2023).

Nesse cenário de busca por maior eficiência, a inoculação de miniestacas com microrganismos benéficos, em especial rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), tem emergido como estratégia complementar para elevar as taxas de enraizamento e a qualidade morfológica das mudas produzidas via miniestaquia (Teixeira *et al.*, 2007; Goswami; and Dhandhukia, 2016; Radhakrishnan; Hashem; Abd_Allah, 2017).

Ensaios com rizobactérias isoladas da rizosfera de *Eucalyptus* demonstraram incrementos significativos na porcentagem de miniestacas enraizadas, bem como no número, no comprimento de raízes e na biomassa radicular, sobretudo em clones de difícil enraizamento, sugerindo que esses microrganismos podem mitigar limitações fenotípicas da rizogênese

adventícia (Teixeira *et al.*, 2007; Zarpelon *et al.*, 2016). Resultados convergentes obtidos com isolados de *Bacillus subtilis* em miniestacas de espécies florestais reforçam que a colonização radicular por esses microrganismos está associada à produção de auxinas, à melhoria da nutrição e ao aumento da tolerância a estresses, refletindo-se em mudas mais vigorosas (Peralta *et al.*, 2012; Raasch; Bonaldo; Oliveira, 2013; Hashem; Tabassum; Fathi Abd_Allah, 2019).

Apesar dos resultados promissores, estudos que avaliam de forma sistemática o impacto da inoculação microbiana na produção de mudas de *Eucalyptus* via miniestaquia ainda são relativamente escassos, concentrando-se em poucos grupos de pesquisa e, muitas vezes, conduzidos em condições experimentais específicas, como ambientes controlados, genótipos restritos e protocolos de inoculação particulares, o que pode limitar a aplicação prática para condições operacionais de viveiro. De fato, a maior parte das evidências disponíveis envolve um número limitado de clones, espécies ou ambientes de viveiro, o que ressalta a necessidade de ampliar a investigação quanto à seleção de microrganismos eficientes, às metodologias de inoculação (submersão das miniestacas, aplicação no substrato, fertirrigação) e à resposta de diferentes materiais genéticos (Backer *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2020; Nwigwe; Fossey; de Smidt, 2023).

Nesse contexto, a integração entre a miniestaquia e a inoculação com microrganismos promotores de crescimento surge como uma fronteira promissora para tornar os protocolos de produção de mudas mais eficientes, sustentáveis e economicamente competitivos na silvicultura moderna (Goswami; and Dhandhukia, 2016; Radhakrishnan; Hashem; Abd_Allah, 2017; Hashem; Tabassum; Fathi Abd_Allah, 2019).

2.2 Utilização de microrganismos na produção de mudas

A relação simbiótica entre plantas e microrganismos constitui um fenômeno evolutivo de longa data, no qual diferentes grupos microbianos atuam como promotores do crescimento vegetal por meio de interações mutualísticas que influenciam positivamente a fisiologia, o desenvolvimento e a adaptação das plantas cultivadas (Almeida *et al.*, 2017; Backer *et al.*, 2018). Em sistemas de viveiro, bactérias rizosféricas, fungos endofíticos e micorrizas colonizam naturalmente a rizosfera e os tecidos internos das plantas, estabelecendo associações funcionais que favorecem o enraizamento, o crescimento inicial e a qualidade das mudas, o que reflete diretamente em maior vigor e uniformidade dos lotes produzidos (Olanrewaju; Glick; Babalola, 2017; Zhang; Shen; Vivanco, 2017).

Dentre esses microrganismos, destacam-se as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), também denominadas rizobactérias promotoras de crescimento em plantas

(BPCV), as quais podem ser classificadas em rizosféricas, que colonizam a rizosfera e do rizoplane, e endofíticas, que habitam os tecidos internos das plantas. Muitas espécies, entretanto, apresentam capacidade de transição entre esses nichos, ampliando sua eficiência ecológica e funcional (Santoyo *et al.*, 2016, 2021).

Embora rizobactérias e endófitos compartilhem mecanismos semelhantes de promoção de crescimento, como a síntese de fitormônios e a solubilização de nutrientes, os microrganismos endofíticos destacam-se por oferecerem maior proteção contra variações hídricas e competição microbiana, possibilitando uma colonização estável de tecidos vasculares e meristemáticos durante a fase crítica de enraizamento, o que fundamenta sua aplicação estratégica na produção clonal de mudas florestais (Olanrewaju; Glick; Babalola, 2017; Backer *et al.*, 2018).

Quando inoculados em raízes ou substratos, esses microrganismos estimulam o desenvolvimento das mudas por mecanismos diretos associados a processos metabólicos específicos, tais como: (i) a fixação biológica do nitrogênio atmosférico (N_2) em formas assimiláveis pela planta; (ii) a solubilização de fosfatos insolúveis por meio da excreção de ácidos orgânicos e fosfatases; e (iii) a síntese de fitormônios, especialmente auxinas (AIA), giberelinas e citocininas, que regulam o alongamento celular, a divisão mitótica e a morfogênese radicular (Wang *et al.*, 2014; Goswami; and Dhandhukia, 2016; Olanrewaju; Glick; Babalola, 2017). Esses processos são mediados por exsudatos radiculares, como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos, que atuam como fontes de carbono e sinais químicos, estimulando a quimiotaxia bacteriana e a colonização eficiente da rizosfera (Radhakrishnan; Hashem; Abd_Allah, 2017; Wu *et al.*, 2023).

Em espécies florestais, como *Eucalyptus* spp., a produção de AIA por BPCV pode exercer um papel central na indução da rizogênese adventícia, promovendo a diferenciação e o alongamento de raízes, inclusive em clones considerados recalcitrantes ao enraizamento, o que reforça a relevância desses microrganismos para a propagação clonal em viveiro (Díaz-Sala, 2021; Lan *et al.*, 2023).

Além dos efeitos diretos, os mecanismos indiretos ampliam significativamente a resiliência das mudas frente a condições adversas típicas do ambiente de viveiro, como estresse hídrico, fermentos e desequilíbrios nutricionais. Esses mecanismos incluem a produção de enzimas antioxidantes (catalase, superóxido dismutase) que neutralizam espécies reativas de oxigênio; a síntese de osmólitos, como prolina e trealose, que estabilizam membranas e proteínas; e a atividade da enzima ACC-desaminase, que reduz a síntese de etileno, hormônio

associado à inibição do crescimento radicular e ao estresse fisiológico (Orozco-Mosqueda; Glick; Santoyo, 2020; Bonatelli *et al.*, 2021; Gamalero; Glick, 2022).

A atuação conjunta desses mecanismos resulta em impactos mensuráveis na produção de mudas, como aumento nas taxas de enraizamento, maior número e comprimento de raízes, incremento da biomassa radicular e redução da mortalidade inicial (Zarpelon *et al.*, 2016; Olanrewaju; Glick; Babalola, 2017). Estudos conduzidos por Nwigwe, Fossey e de Smidt (2023) demonstraram que consórcios bacterianos formados por espécies dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, capazes de produzir AIA e solubilizar fosfatos, promoveram maior fibrosidade e arquitetura radicular em miniestacas de híbridos de *Eucalyptus*, alcançando percentuais de enraizamento superiores a 80% em condições de viveiro.

Entre os gêneros bacterianos com maior aplicabilidade prática, *Bacillus* spp. destacam-se pela formação de endósporos, elevada tolerância a estresses, produção de sideróforos e exopolissacarídeos, os quais contribuem para a melhoria da estrutura do substrato e da retenção hídrica (Teixeira *et al.*, 2007; Hashem; Tabassum; Fathi Abd_Allah, 2019; Liu; Mei; Salles, 2023). Em híbridos de *Eucalyptus grandis*, isolados de *Bacillus subtilis* proporcionaram aumentos expressivos na frequência de enraizamento e na biomassa radicular, evidenciando seu potencial para otimizar a qualidade das mudas produzidas (Teixeira *et al.*, 2007).

Conforme demonstrado por Teixeira *et al.* (2007), os ganhos fisiológicos se refletem em uma maior porcentagem de enraizamento e de massa seca, com aumentos de 110% na formação de raízes e 250% na biomassa radicular em estacas de *Eucalyptus* inoculadas com dez isolados.

Apesar dos avanços, a adoção em larga escala de inoculantes microbianos ainda apresenta desafios, como a especificidade entre clones e microrganismos, a variabilidade de respostas em diferentes substratos e a ausência de protocolos padronizados de inoculação em viveiros comerciais (Zarpelon *et al.*, 2016; Hashem; Tabassum; Fathi Abd_Allah, 2019). Como perspectiva, o uso de consórcios microbianos, envolvendo *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp., surge como estratégia promissora para ampliar a eficiência produtiva, reduzir a dependência de insumos químicos e aumentar a resiliência climática das mudas (Santoyo *et al.*, 2021; Liu; Mei; Salles, 2023).

Dessa forma, os microrganismos promotores de crescimento podem ser considerados ferramentas biotecnológicas promissoras para a produção de mudas de alta qualidade, com potencial para contribuir para maior uniformidade, vigor, eficiência de enraizamento e sobrevivência no campo, em consonância com sistemas de produção florestal mais sustentáveis e tecnicamente robustos. Contudo, a utilização de mudas inoculadas ainda não constitui uma

prática consolidada, sendo necessária a ampliação de estudos que avaliem sua eficiência em diferentes condições edafoclimáticas e genótipos.

2.3 Efeito de bactérias promotoras de crescimento na produção de mudas: bases fisiológicas, bioquímicas e moleculares da interação planta-microrganismo no enraizamento e crescimento

As raízes adventícias podem se originar a partir de tecidos vasculares diferenciados, especialmente da região cambial e do parênquima associado aos feixes vasculares, em locais onde previamente não existiam meristemas radiculares organizados (Goulart *et al.*, 2014; Otiende *et al.*, 2021).

Embora raízes embrionárias e laterais apresentem origens ontogenéticas distintas, o desenvolvimento dessas estruturas compartilha vias regulatórias comuns, que são fortemente moduladas pelo equilíbrio entre auxinas, citocininas e etileno, assim como pela ativação coordenada de fatores de transcrição, como Auxin Response Factors (ARFs), Lateral Organ Boundaries Domain (LBDs) e WUSCHEL-related homeobox (WOX) (Liu *et al.*, 2024).

O processo de enraizamento adventício em estacas e miniestacas é caracterizado por fases fisiologicamente interligadas, sendo elas indução, iniciação, formação de primórdios e emergência das raízes, cada uma com demandas metabólicas e hormonais específicas. Esse processo envolve a reorganização do citoesqueleto, a reprogramação transcricional, a redistribuição polar de auxinas por transportadores como PINs e AUX/LAX, a remodelação da parede celular e intensa atividade de divisão e diferenciação celular (Li, 2021; Otiende *et al.*, 2021).

Nesse contexto, as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) estabelecem associações íntimas com a base das estacas e a rizosfera em formação, modulando o microambiente hormonal, nutricional e redox no qual a rizogênese adventícia e o crescimento inicial das mudas ocorrem. Essas bactérias colonizam o rizoplane e a rizosfera, e em muitos casos também invadem tecidos internos como endófitos, formando biofilmes e estabelecendo comunicação molecular com a planta por meio de sinais, como N-acil-homoserina lactonas e outros compostos (Santoyo *et al.*, 2016; Olanrewaju; Glick; Babalola, 2017).

A planta, por sua vez, exerce controle ativo sobre a composição do seu microbioma por meio da liberação de exsudatos radiculares ricos em açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, flavonoides e fenóis, que funcionam não apenas como fonte de carbono, mas também como sinais que regulam a expressão gênica bacteriana e selecionam grupos microbianos funcionalmente adequados (Feng *et al.*, 2024; Wankhade *et al.*, 2025). Compostos exsudados

influenciam quimiotaxia, motilidade, formação de biofilme, produção de fitohormônios e expressão de genes associados à colonização e à interação simbiótica (Shafi; Shahid, 2025; Yang *et al.*, 2025b)

Do ponto de vista bioquímico, um dos mecanismos mais bem descritos pelos quais as BPCV estimulam o enraizamento adventício é a produção de fitohormônios, especialmente o ácido indolacético (AIA), sintetizado a partir de L-triptofano por vias como a do ácido indol-3-pirúvico (IPA), indol-3-acetamida (IAM) e triptamina (Patten; Glick, 2002; Chieb; Gachomo, 2023). A auxina bacteriana pode complementar níveis subótimos de auxina endógena na base das estacas, intensificando a ativação de vias de sinalização hormonal que regulam a reentrada do ciclo celular, a formação de calos competentes e a diferenciação dos primórdios radiculares (Santoyo *et al.*, 2016; Backer *et al.*, 2018).

As melhorias na captação de água e nutrientes pela raiz em desenvolvimento também são frequentemente relatadas como consequência indireta da produção bacteriana de fitohormônios e moduladores metabólicos (Chieb; Gachomo, 2023).

Entretanto, concentrações excessivas de auxina ou de etileno podem inibir etapas posteriores da rizogênese. Nesse sentido, muitas BPCV expressam a enzima ACC-desaminase, que catalisa a conversão do 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC), precursor imediato do etileno, em α -cetobutirato e amônia, reduzindo assim as concentrações internas de etileno. A diminuição de etileno atenua a inibição de processos de alongação celular, favorece a atividade de expansinas e aquaporinas e modula positivamente a expressão de genes relacionados ao alongamento radicular e à tolerância ao estresse hídrico e oxidativo (Orozco-Mosqueda; Glick; Santoyo, 2020).

Além da regulação hormonal, as BPCV influenciam diretamente o metabolismo redox e a sinalização por espécies reativas de oxigênio (ROS). A presença bacteriana pode induzir a expressão de enzimas antioxidantes endógenas, como superóxido dismutase, catalase e peroxidases, ajustando os níveis de ROS que atuam como segundos mensageiros na ativação de vias de diferenciação celular e na formação de primórdios radiculares (Santos *et al.*, 2018; Neshat *et al.*, 2022). Paralelamente, metabólitos bacterianos, como sideróforos, aumentam a disponibilidade de ferro e outros micronutrientes essenciais, favorecendo o funcionamento da cadeia respiratória mitocondrial e o suprimento energético necessário à intensa divisão celular (Cantabella *et al.*, 2022).

Em nível genético e transcriptômico, estudos têm mostrado que a inoculação de plantas com BPCV pode reprogramar globalmente a expressão gênica, incluindo genes associados à biossíntese e transporte de auxinas, regulação do ciclo celular, organização do citoesqueleto,

metabolismo de carboidratos, aquaporinas e vias de sinalização de hormônios como jasmonato, ácido salicílico e etileno (Stringlis *et al.*, 2017; González-Morales *et al.*, 2021). Essa reprogramação contribui para um estado fisiológico mais favorável ao enraizamento e ao crescimento inicial das mudas, mesmo sob condições de estresse hídrico ou nutricional.

Do ponto de vista ecológico e em campo, o crescimento de plantas ocorre em estreita associação com as comunidades microbianas complexas ao redor das raízes. A comunidade de microrganismos presentes são influenciadas por exsudatos e sinais das raízes, que desempenham um papel central na aquisição de nutrientes, na modulação de respostas hormonais, na proteção contra patógenos e na adaptação a estresses ambientais, contribuindo diretamente para a saúde e o desempenho da planta (Kazarina *et al.*, 2025).

A composição da comunidade microbiológica das raízes é dinâmica e depende do genótipo da planta, do estágio de desenvolvimento, das condições edafoclimáticas e do perfil de exsudatos radiculares, que atuam como filtros ecológicos e sinais moleculares seletivos (Wu *et al.*, 2023; Zhou *et al.*, 2023). Além disso, a comunicação microbiana via sistemas de quorum sensing coordena a expressão de genes envolvidos em colonização, produção de metabólitos secundários e interação com o hospedeiro (planta), reforçando o caráter coevolutivo dessa associação planta-microrganismo (Pantigoso; Newberger; Vivanco, 2022).

2.4 Efeito de bactérias promotoras de crescimento vegetal na resistência a fatores abióticos e sobrevivência de plantas em campo

Em condições naturais, as plantas não devem ser compreendidas como organismos isolados, uma vez que estabelecem interações dinâmicas e contínuas com comunidades microbianas associadas à rizosfera, à filosfera e aos tecidos internos (Santoyo, 2025). Esse conjunto de microrganismos constitui o microbioma vegetal e, em associação funcional com a planta hospedeira, forma o holobionte, unidade biológica integrada cuja atuação influencia processos fisiológicos, nutricionais e adaptativos, especialmente sob condições ambientais adversas (Bulgarelli *et al.*, 2015; Backer *et al.*, 2018). Dessa forma, a resposta das plantas aos estresses abióticos em campo deve ser analisada considerando não apenas seus mecanismos intrínsecos, mas também a contribuição dos microrganismos benéficos que compõem seu microbioma.

Em ambientes de cultivo e em ecossistemas naturais, as plantas estão frequentemente expostas a estresses abióticos, como déficit hídrico, salinidade, temperaturas extremas e baixa disponibilidade de nutrientes, fatores que podem comprometer o crescimento, o estabelecimento inicial, a produção de biomassa e, em casos mais severos, a sobrevivência das

mudas (Vurukonda *et al.*, 2016; Sá *et al.*, 2023). Nesse contexto, as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) assumem papel estratégico, uma vez que são capazes de modular respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas por meio de mecanismos diretos e indiretos (Figura 1), contribuindo para a atenuação dos efeitos desses estresses (Vurukonda *et al.*, 2016; Goswami; Dhandhukia, 2016).

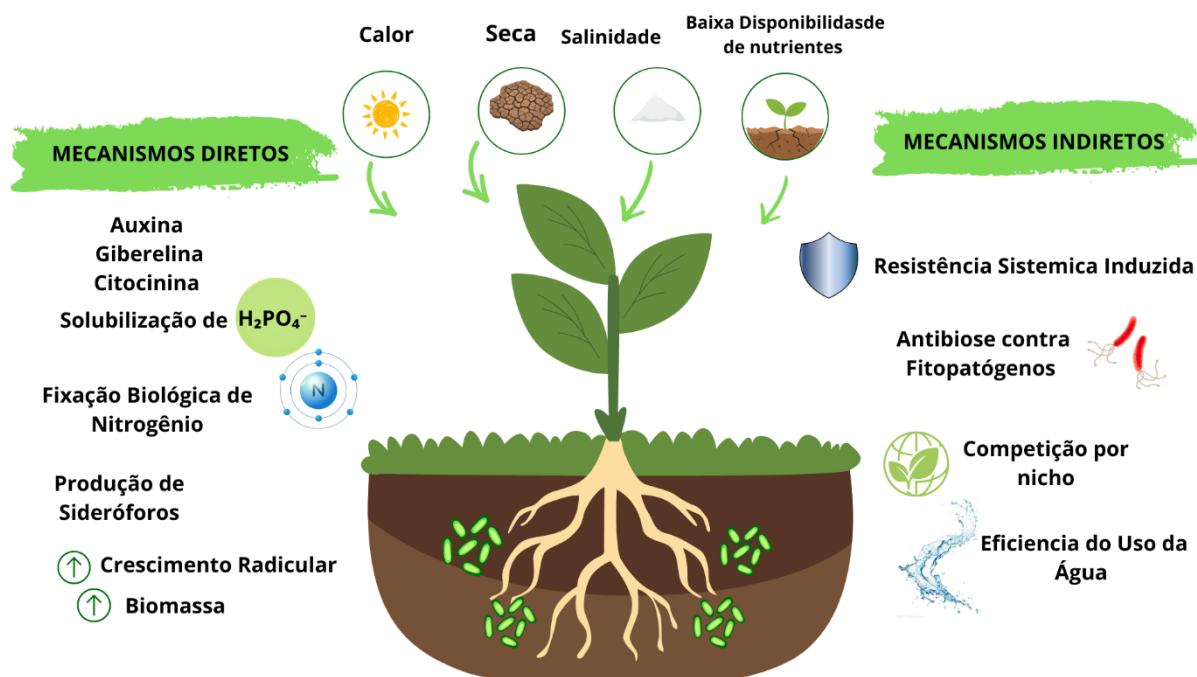


Figura 1-Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento por bactérias promotoras do crescimento vegetal. A figura esquemática apresenta mecanismos diretos (ex.: produção de auxinas, giberelinas, citocininas, fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfatos e sideróforos) e indiretos (ex.: resistência sistêmica induzida, antibiose contra fitopatógenos, competição por nicho, aumento de crescimento radicular, eficiência no uso da água e biomassa), sob estresses como calor, seca, baixa disponibilidade de nutriente. **Fonte:** A autora.

As BPCV atuam diretamente pela produção de fitormônios, como auxinas, giberelinas, citocininas e ácido abscísico, pela solubilização de fósforo; pela fixação biológica de nitrogênio e pela síntese de sideróforos, aumentando a disponibilidade e a absorção de nutrientes essenciais (Kenneth *et al.*, 2018). Indiretamente, promovem a indução de resistência sistêmica, a competição por nichos ecológicos, a antibiose e a produção de metabólitos secundários, como lipopeptídeos e policetídeos, além de enzimas hidrolíticas capazes de degradar estruturas celulares de fitopatógenos, reduzindo a incidência de doenças e favorecendo o desempenho das plantas sob condições limitantes (Cantabella *et al.*, 2022; Jakubowska; Gradowski; Dobrzyński, 2025).

Os efeitos da inoculação com BPCV sobre a resistência das plantas a estresses abióticos manifestam-se por meio de múltiplas vias fisiológicas e bioquímicas. Dentre os principais

efeitos observados, destacam-se a modulação do sistema antioxidante, com regulação da atividade de enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), reduzindo o dano oxidativo celular (Jha; Subramanian, 2014; Neshat *et al.*, 2022).

Como ilustrado na Figura 2, destacam-se a produção de exopolissacarídeos (EPS), que formam uma camada protetora ao redor das raízes, retendo umidade e melhorando a estrutura do solo na rizosfera; a regulação hormonal, com destaque para a degradação do ACC (1-aminociclopropano-1-carboxilato), precursor do etileno, pela enzima ACC desaminase, reduzindo os níveis de etileno sob estresse e promovendo o crescimento radicular (Orozco-Mosqueda; Glick; Santoyo, 2020; Duan *et al.*, 2021). Esses efeitos são somados a indução de osmorreguladores, como prolina, glicina betaína e açúcares solúveis, que auxiliam na manutenção do turgor celular; o estímulo ao desenvolvimento do sistema radicular, resultando em raízes mais profundas e eficientes na absorção de água e nutrientes; e a ativação de respostas sistêmicas, nas quais sinais desencadeados nas raízes promovem alterações fisiológicas na parte aérea, preparando a planta como um todo para enfrentar condições adversas (Vurukonda *et al.*, 2016; May *et al.*, 2019; Tiepo *et al.*, 2020).

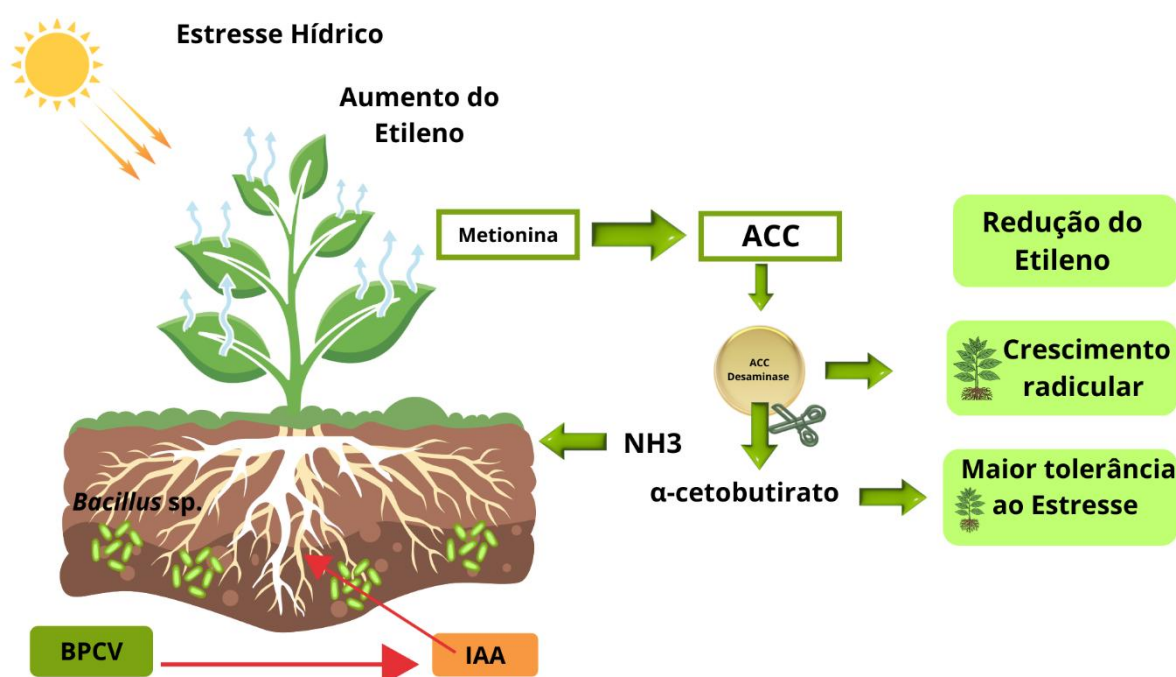


Figura 2-Mecanismo de redução do etileno por BPCV (bactérias promotoras do crescimento vegetal) sob estresse hídrico. Diagrama esquemático mostrando como bactérias do gênero *Bacillus* spp. (BPCV) diminuem os níveis de etileno em plantas estressadas pela seca, via metionina → ACC → etileno, com redução de ACC oxidase, NH₃ e α-cetobutirato, resultando em menor etileno, aumento do crescimento radicular e maior tolerância ao estresse. **Fonte:** A autora.

Na literatura, os estudos estão concentrados em espécies agrícolas, o que reflete o interesse econômico e a aplicabilidade imediata dessas tecnologias no setor produtivo. Nessas culturas, os efeitos das BPCV têm sido documentados em condições de campo e casa de vegetação. Estudos têm demonstrado que a inoculação com espécies de *Bacillus* pode aumentar significativamente a tolerância das plantas ao déficit hídrico e, conseqüentemente, sua sobrevivência em campo.

Park *et al.* (2017) observaram que plantas de pimenta inoculadas com *Bacillus licheniformis* apresentaram maior manutenção do estado hídrico e sobrevivência sob estresse, enquanto plantas não inoculadas não resistiram após 15 dias sem irrigação. Resultados semelhantes foram relatados por Xu *et al.* (2022), que verificaram incrementos significativos na biomassa fresca e seca de *Arabidopsis thaliana* e *Nicotiana tabacum* inoculadas com *Bacillus aryabhattai*, evidenciando maior eficiência fisiológica e crescimento mesmo em condições ambientais desfavoráveis.

Em experimentos com repolho chinês, a cepa H26-2 de *Bacillus aryabhattai* aumentou a biomassa fresca, manteve os níveis de clorofila e regulou o ABA para controle estomático sob temperatura de 35°C e déficit hídrico, resultando em maior tolerância fisiológica (Shin *et al.*, 2019). Sob condições de deficiência hídrica, *Bacillus aryabhattai* promove resistência fisiológica ao induzir sistemas radiculares mais profundos e eficientes na absorção de água e nutrientes, especialmente em mudas de cana-de-açúcar submetidas a intervalos de irrigação de 7 a 14 dias (May *et al.*, 2019).

Apesar da concentração de estudos com espécies agrícolas, também têm surgido pesquisas envolvendo espécies florestais, revelando o potencial das BPCV na mitigação de estresses abióticos, especialmente o déficit hídrico, durante as fases iniciais de estabelecimento das mudas em campo. Além dos ajustes fisiológicos primários, a inoculação com BPCV também influencia de forma expressiva os mecanismos de defesa antioxidante de espécies florestais.

Em estudos realizados com *Cecropia pachystachya* e *Cariniana estrellensis*, a presença de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* sp. reduziu a atividade de enzimas antioxidantes e os teores de compostos antioxidantes não enzimáticos. Esse resultado indica que o baixo dano oxidativo observado anteriormente em árvores nativas da Mata Atlântica sob condições de seca está relacionado à influência positiva das bactérias sobre as vias antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas. Isso evidencia uma resposta sistêmica induzida pela associação com BPCV,

uma vez que o tratamento foi aplicado nas raízes e os efeitos foram observados nas folhas. A resposta induzida variou conforme a espécie arbórea e a espécie bacteriana utilizada (Tiepo *et al.*, 2018, 2020).

Além de sua atuação na promoção do crescimento vegetal, as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), incluindo *Bacillus aryabhattai*, apresentam elevado potencial para aplicação em estratégias de fitorremediação e recuperação de áreas degradadas, favorecendo o estabelecimento inicial de mudas e a mitigação de estresses abióticos, como salinidade, estresse térmico e toxicidade por metais pesados (Park *et al.*, 2017; Siddika *et al.*, 2024). Esses microrganismos promovem alterações na rizosfera, aumentando a disponibilidade de nutrientes, a agregação e a estabilidade do solo, o que contribui para a melhoria das condições edáficas e para o desenvolvimento inicial das plantas (Glick, 2010; Rajkumar *et al.*, 2012).

Em sistemas florestais, esses efeitos são particularmente relevantes nos primeiros meses após o plantio, período crítico caracterizado por elevada mortalidade de mudas em função do déficit hídrico. Contudo, diferentemente do observado para culturas agrícolas, ainda não há, até o momento, estudos publicados envolvendo a cepa CMAA 1363 (*Bacillus aryabhattai*) em espécies florestais, o que representa uma lacuna a ser preenchida e uma oportunidade para pesquisas futuras, considerando o potencial dessa bactéria, originalmente isolada de um cacto nativo adaptado à seca.

Portanto, em busca de aumentar o crescimento, a sobrevivência e a tolerância a estresses abióticos, como déficit hídrico e salinidade, diversos gêneros bacterianos, como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Paenibacillus* e *Enterobacter*, têm sido relatados como promotores de crescimento em plantas lenhosas, atuando por meio da produção de fitormônios, solubilização de nutrientes e indução de resistência sistêmica (Zarpelon *et al.*, 2016; Al-Turki *et al.*, 2023).

Em espécies do gênero *Eucalyptus*, a inoculação com rizobactérias promotoras de crescimento, incluindo *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas spp.*, tem sido utilizada para aumentar o enraizamento e a biomassa radicular de clones híbridos, evidenciando o potencial desses microrganismos para sistemas florestais intensivos (Cunha; Alfenas, 2006).

Além disso, rizobactérias isoladas do semiárido brasileiro têm sido relatadas como promotoras de crescimento sob baixa disponibilidade hídrica, evidenciando mecanismos como

produção de fitormônios, ACC desaminase e compostos osmoprotetores (Braga; Cruz; de Melo, 2022).

Entretanto, apesar desses avanços, observa-se que, em sua maioria, os estudos com BPCV em espécies florestais são conduzidos em condições controladas de viveiro ou casa de vegetação, havendo uma lacuna significativa de estudos em condições de campo. Isso reforça a necessidade de pesquisas que avaliem a eficiência desses microrganismos em ambientes naturais e sob condições reais de estresse abiótico.

2.5 Como as bactérias promotoras de crescimento vegetal podem auxiliar na produção florestal no semiárido?

A produção florestal na região semiárida apresenta limitações abióticas, como a escassez hídrica prolongada, altas temperaturas, salinidade e baixa fertilidade dos solos. Essas condições podem resultar em baixas taxas de sobrevivência nos plantios e redução do crescimento vegetativo, comprometendo a viabilidade econômica e ecológica dos projetos silviculturais, uma vez que os fatores abióticos e bióticos impactam o crescimento das espécies e, conseqüentemente, na produção de madeira (Pinheiro *et al.*, 2024; Loiola *et al.*, 2025).

Esse cenário é particularmente preocupante no bioma Caatinga, que tem enfrentado uma crescente desertificação, afetando 85% de sua área em diferentes níveis de severidade (Vendruscolo *et al.*, 2021). Diante desse quadro, o estabelecimento de florestas comerciais adaptadas às condições edafoclimáticas locais surge como uma estratégia promissora para aliviar a pressão sobre as florestas nativas, atuando como medida atenuante diante dos processos de desertificação. No entanto, as mudanças climáticas impõem desafios adicionais, uma vez que têm intensificado a severidade das secas, afetando diretamente o crescimento e a sobrevivência das árvores (Santos *et al.*, 2024; Loiola *et al.*, 2025).

O estresse hídrico, principal fator limitante nesse contexto, compromete processos fisiológicos essenciais, como a fotossíntese, reduzindo a capacidade de resiliência das árvores. Isso representa um grande desafio tanto para a produtividade florestal quanto para os programas de melhoramento genético focados no desenvolvimento de materiais tolerantes à seca (Qiao *et al.*, 2024; Loiola *et al.*, 2025).

Nesse contexto, o uso de microrganismos promotores de crescimento em plantas surge como uma estratégia biotecnológica sustentável, uma vez que algumas espécies são capazes de atenuar os efeitos do estresse e modular processos fisiológicos para o desenvolvimento das árvores (Bonatelli *et al.*, 2021; Zaib *et al.*, 2023; Kotiyal; Sharma, 2024).

A eficácia dessa estratégia reside na capacidade dos microrganismos de estabelecer associações benéficas com as plantas, contribuindo decisivamente para a atenuação dos efeitos dos estresses abióticos e, influenciando positivamente a fisiologia, o desenvolvimento e a capacidade adaptativa das plantas hospedeiras (Bonatelli *et al.*, 2021). No entanto, esse promissor sistema de interação é profundamente modulado pelas condições climáticas. As alterações promovidas pelas mudanças climáticas, podem reconfigurar a dinâmica e as redes da comunidade microbiana, tanto pela modificação na composição dos exsudatos radiculares e foliares da planta quanto pela disponibilidade de outros insumos metabólicos no ambiente (Bhattacharyya *et al.*, 2021).

Como consequência direta das alterações climáticas, observa-se uma expansão global das áreas áridas e semiáridas, que já correspondem a aproximadamente 41% das terras do planeta e estão frequentemente associadas a solos com baixa disponibilidade de nutrientes (Gamalero *et al.*, 2020). Diante desse cenário, a sobrevivência e o desenvolvimento contínuo de plantas e microrganismos estão intrinsicamente vinculados ao fortalecimento de interações biológicas mutualísticas, tornando-as imprescindíveis para a superação das condições impostas por esses ambientes, onde a escassez hídrica e a pobreza nutricional configuram um meio fortemente limitante para a vida microbiana e vegetal (Omae; Tsuda, 2022).

Diante desse desafio, as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) isoladas da própria microbiota desses ambientes, a exemplo de *Bacillus* e *Pseudomonas* spp. emergem como aliadas biotecnológicas. Esses microrganismos expressam traços que potencializam a tolerância à seca, viabilizando, assim, iniciativas de restauração ecológica (Bonatelli *et al.*, 2021). Estudos demonstram que as BPCV melhoram a aquisição de água e nutrientes em árvores sob estresse hídrico, via regulação de hormônios e osmoprotetores, elevando as taxas de sobrevivência em plantios semiáridos (Gamalero; Glick, 2022; Singh *et al.*, 2023).

No semiárido brasileiro, espécies florestais como *Eucalyptus* spp., *Mimosa caesalpiniiifolia* (sabiá) e outras nativas ou exóticas adaptadas têm sido avaliadas como alternativas para a produção florestal, apresentando potencial econômico e ambiental relevante. Estudos de longo prazo na região demonstraram que o desempenho de *Eucalyptus* é fortemente condicionado pelo estresse térmico e hídrico, com reduções significativas na produtividade volumétrica em condições de déficit hídrico (Pinheiro *et al.*, 2024; Loiola *et al.*, 2025). Nesse contexto, a inoculação com microrganismos promotores de crescimento vegetal tem se destacado como uma abordagem promissora para mitigar os efeitos do estresse hídrico, uma vez que esses microrganismos podem melhorar a absorção de nutrientes, modular a produção de fitormônios e aumentar a tolerância fisiológica das plantas à seca (Bonatelli *et al.*, 2021).

Em *Eucalyptus*, estudos têm demonstrado que a inoculação com rizobactérias pode promover o crescimento inicial, aumentar a biomassa e melhorar parâmetros fisiológicos, como fotossíntese e área foliar, especialmente em condições limitantes (Santos *et al.*, 2023). Além disso, a seleção de microrganismos nativos, ao exemplo do *Bacillus aryabhattai*, encontrado no semiárido da Caatinga, pode representar uma vantagem adaptativa, uma vez que esses microrganismos apresentam maior tolerância às condições de estresse hídrico e térmico, potencializando sua eficiência na promoção do crescimento vegetal em ambientes extremos (Kavamura *et al.*, 2013; Fuga *et al.*, 2023). Assim, a utilização de bactérias promotoras de crescimento nativas associadas a híbridos de *Eucalyptus* surge como uma estratégia promissora para o desenvolvimento de sistemas florestais mais resilientes às mudanças climáticas no semiárido brasileiro.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização dos experimentos

O experimento foi conduzido na Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), campus Mossoró-RN. O clima local, segundo a classificação de Köppen, é do tipo BSw^h semiárido muito quente, com estação chuvosa concentrada no verão e estendendo-se até o outono. Dados históricos indicam temperatura média anual de 27,4 °C, precipitação média de 673,9 mm e umidade relativa do ar média de 68,9% (Freire *et al.*, 2013).

Na fase inicial, os propágulos foram mantidos em casa de enraizamento por 28 dias. Após o estabelecimento do sistema radicular, as mudas foram transferidas para uma casa de sombra por um período de 15 dias. Em seguida, foram submetidas a um processo de aclimação e rustificação a pleno sol, com duração aproximada de dois meses. Com o desenvolvimento completo, as mudas foram transplantadas para vasos. Na fase final, foram expostas a estresse hídrico durante 30 dias, de forma individual, para avaliação de suas respostas nos níveis morfológico, fisiológico e bioquímico.

3.2 Suspensão líquida concentrada do inóculo

Na condução do experimento, foi testado o produto comercial Auras[®] (Embrapa e NOOA Ciência e Tecnologia Agropecuária, Patos de Minas–Minas Gerais, Brasil) formulado com *Bacillus aryabhattai* CMAA 1363, licenciado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa, Jaguariúna–São Paulo, Brasil), obtido da rizosfera de *Cereus jamaracu*, uma cactácea presente no bioma Caatinga do semiárido brasileiro (Kamavura, 2012).

A bactéria pertence à classe dos inoculantes, com concentração de 1×10^8 UFC/mL (Fuga *et al.*, 2023).

3.3 Coleta das brotações e preparo das miniestacas

As brotações foram previamente produzidas em minijardim clonal, cultivadas em um canaletão com dimensões de 90 cm de altura x 60 cm de largura x 6 m de comprimento, no espaçamento de 10 cm x 10 cm, em substrato composto por areia. Foram usados cinco clones híbridos de *Eucalyptus* (*E. urophylla* x *E. tereticornis*; *E. urophylla* x *E. tereticornis*; *E. tereticornis* x *E. brassiana* x *E. grandis*; *E. urophylla* x *E. brassiana*; *E. tereticornis* x *E. brassiana* x *E. urophylla*). O minijardim utilizado para a coleta das brotações está localizado em uma área aberta, com incidência direta da luz solar.

Para a coleta das brotações, utilizou-se tesoura de poda previamente desinfestada com álcool 70%. As coletas foram realizadas no final da tarde para evitar o excesso de evapotranspiração e minimizar o estresse hídrico dos propágulos selecionados. Na confecção das miniestacas, utilizou-se a parte apical das brotações, com dimensões entre 6 e 8 cm, contendo dois pares de folhas, as quais foram reduzidas em 50% de sua área, visando minimizar as perdas de água por transpiração.

Foram utilizadas bandejas contendo tubetes de 55 cm³ preenchidos com substrato orgânico comercial Carolina Soil®, composto por turfa de *Sphagnum* (75%), vermiculita expandida (25%), calcário dolomítico, gesso agrícola. Seu pH é de 5,5 +/- 0,5, densidade de 145 kg/m³, capacidade de retenção de água de 55%, condutividade elétrica de 0,7 +/- 0,3. A adubação de base constituiu-se na mistura ao substrato do fertilizante de liberação controlada Osmocote®, na dosagem de 3 kg por metro cúbico de substrato, na seguinte concentração (16-8-12)+6, e o tempo de liberação ocorre de forma gradual por até seis meses. Antes de os tubetes serem preenchidos com substrato comercial, foi realizada uma limpeza com água e detergente neutro e, posteriormente, foram desinfestados em água a uma temperatura de 83°C durante 3 minutos.

3.4 Inoculação das miniestacas

A aplicação do inoculante foi realizada diretamente na base das miniestacas. Após a coleta dos propágulos, as bases foram imersas até 2 cm, por 3 minutos, nas soluções contendo o microrganismo e, pelo mesmo tempo, em água destilada para o tratamento controle (Raasch; Bonaldo; Oliveira, 2013). O inoculante *B. aryabhatai*, possui composição líquida e foi diluído em água, conforme as indicações do fabricante, mantendo a sua concentração de 1×10^8 UFC (Unidades Formadora de Colônias).

3.5 Procedimentos de viveiro: enraizamento, aclimação e rustificação

Após a fase de inoculação e o estaqueamento, as bandejas contendo as miniestacas foram levadas para uma miniestufa de enraizamento com cobertura plástica translúcida, nebulização intermitente variável de 20 a 25 mL/tubete/dia, e temperatura média de 30 °C a 32 °C e umidade relativa acima de 80 %, por 28 dias.

Para evitar contaminação cruzada entre os tratamentos, os propágulos inoculados e os não inoculados foram colocados em miniestufas diferentes para o enraizamento adventício, sob as mesmas condições ambientais. Assim, o experimento referente à fase de enraizamento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso dentro de cada miniestufa, com cinco repetições contendo 10 propágulos por parcela.

Após o enraizamento, as mudas foram transferidas para aclimação em casa de sombra (com 50% de redução da luz direta) por um período de 15 dias. Durante essa fase, a irrigação foi realizada três vezes ao dia. Em seguida, as plantas foram submetidas ao processo de rustificação por 60 dias, sob condições de pleno sol, com irrigação reduzida para duas vezes ao dia.

3.6 Transplântio das mudas para os vasos

A fase que simulou as condições de campo aconteceu no período de agosto a outubro. O substrato utilizado para o preenchimento dos vasos de 3,8 L foi areia lavada, a qual passou por análise laboratorial para caracterizações químicas (Tabela 1) e físicas (Tabela 2). O substrato recebeu adubação de base com Osmocote® (N16-P8-K12)+6, na concentração de 3 kg m⁻³ de substrato. Na ocasião do transplântio, foi realizada a poda de 2 cm da porção apical das raízes para eliminar possível enovelamento. Em seguida, as mudas foram reinoculadas utilizando a técnica de imersão no inoculante *Root-dip* ou *root-dipping*, em que o sistema radicular das mudas é mergulhado por alguns segundos, apenas até umedecer. Logo em seguida, realizou-se o plantio no vaso. Para as plantas do tratamento controle, foi utilizada a mesma técnica, contudo, elas foram mergulhadas em água de abastecimento (Nwigwe; Fossey; de Smidt, 2023; Ran, 2002; Xia *et al.*, 2023).

Tabela 1. Propriedades químicas e físicas do substrato (solo arenoso) utilizado na condução do experimento em condição simulada de campo com inoculação por *Bacillus aryabhattai* em clones de *Eucalyptus*.

N	pH	CE	M.O.	P	K ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	(H+Al)	SB	t	CTC	V	m	PST
g/kg	(água)	dS/m	g/kg	-----mg/dm3-----	-----mg/dm3-----	-----mg/dm3-----	-----mg/dm3-----	-----mg/dm3-----	-----cmol _c /dm3-----	-----cmol _c /dm3-----	-----cmol _c /dm3-----	-----cmol _c /dm3-----	-----cmol _c /dm3-----	-----cmol _c /dm3-----	-----cmol _c /dm3-----	%
6,10	0,09			65,0	44,0	12,4	1,48	1,31	0,00	0,00	2,96	2,96	2,96	100	0	2

Tabela 2. Propriedades físicas e classe textural do substrato (solo arenoso) utilizado no experimento em condição simulada de campo com inoculação por *Bacillus aryabhattai* em clones de *Eucalyptus*.

Areia Grossa	Areia Fina	Areia Total	Silte	Argila	Umidade (kg/kg)		Densidade (Kg/dm3)		Porosidade Total (%)	Classe Textural
					0,01 Mpa	1,5 Mpa	Aparente	Real		
0,48	0,29	0,78	0,1	0,12	-	-	-	-	-	Areia

O experimento foi conduzido em vasos, adotando-se espaçamento de 30 cm × 30 cm entre os indivíduos, durante um período total de três meses. Durante os primeiros sete dias após o transplante, período correspondente ao estabelecimento das mudas, a irrigação foi realizada três vezes ao dia, com volume de 250 mL por aplicação, totalizando 750 mL diários.

Após essa fase inicial, a irrigação passou a ser realizada uma vez ao dia, com volume de 400 mL, durante 20 dias. À medida que as plantas cresciam, o volume foi ajustado para 600 mL diários, mantendo-se esse regime até o final do experimento. Para a imposição do estresse hídrico, as plantas foram submetidas a um período de 30 dias com irrigação realizada em dias alternados (dia sim, dia não). A água utilizada para irrigação foi advinda de um poço e foi submetida à análise laboratorial (Tabela 3).

Tabela 3. Caracterização físico-química da água de irrigação utilizada no experimento em condição simulada de campo com inoculação por *Bacillus aryabhattai* em clones de *Eucalyptus*.

pH	CE	K ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	N	P	RAS	Dureza	Cátions	ânions
	dS/m	mmol/L							mg/L			mg/L	mmol/L	
7,7	0,11	4,9	66,61	0,3	0,03	0,80	0,00	0,6	-	-	154	16,5	71,8	1,40

As plantas foram cultivadas com fornecimento regular de nutrientes por meio de solução nutritiva, composta pelos seguintes elementos e concentrações: Ácido bórico (12,80 mg/L); Sulfeto de zinco (0,48 mg/L); Sulfeto de Mangânes (1,12 mg/L); molibdato de sódio (0,04 mg/L); Nitrato de Cálcio (0,02g/L); Fosfato de Potássio (0,242 g/L); Nitrato de Potássio (0,142

g/L); Sulfato de magnésio (0,36 g/L); Sulfato de ferro (0,04 g/L). Adicionalmente, a cada 15 dias, foi realizada adubação com 100 mL de cálcio e magnésio por vaso.

3.7 Avaliações

No período de produção de mudas, avaliou-se diariamente a quantidade de miniestacas com emissão de raízes aparentes no fundo do tubete (sendo consideradas miniestacas enraizadas). A sobrevivência foi caracterizada pelo enraizamento (estacas enraizadas foram classificadas também como sobreviventes). Os caracteres altura e DAP foram analisados ao final da fase de pleno sol.

As avaliações das plantas em vasos iniciaram após os primeiros 15 dias do transplântio, sendo realizadas a cada sete dias as medições de altura total da planta, utilizando régua graduada; diâmetro do coleto, com paquímetro digital; número de folhas, por contagem manualmente; e o índice de SPAD, utilizando clorofilog portátil, que mede a capacidade fotossintética presente nas folhas e a temperatura em °C. As medições para o índice de SPAD foram realizadas entre 07h e 09h, sendo selecionada uma folha completamente expandida localizada na parte média da planta, definida como o terço médio da parte aérea. Foi feita a leitura em uma folha de cada planta da parcela e o valor médio utilizado para análise estatística. Para o índice de sobrevivência das plantas, foram considerados indivíduos vivos aqueles com folhas verdes

O experimento teve duração de três meses. Ao final do experimento, foram determinadas as massas frescas e secas da parte aérea e das raízes, utilizando-se balança digital de precisão. Para a determinação da massa seca, as amostras de folhas, galhos e raízes foram acondicionadas em estufa de circulação forçada de ar a $60 \pm 5^\circ\text{C}$ até atingirem massa constante. Para a área foliar, todas as folhas das plantas foram fotografadas e analisadas por meio do software ImageJ.

Análises Bioquímicas

As análises bioquímicas e enzimáticas foram realizadas em amostras de tecido vegetal coletadas ao final do período experimental, as quais foram armazenadas em ultrafreezer até o momento das determinações. Todas as extrações e leituras espectrofotométricas seguiram protocolos estabelecidos na literatura, com adaptações quando necessário.

Na extração das enzimas antioxidantes, foi preparado um tampão de extração composto por fosfato de potássio (TFK) 0,1 M, pH 7,0 (Anderson; Prasad; Stewart, 1995). Paralelamente, foram preparadas soluções de EDTA (10 mM) e ácido ascórbico (200 mM). O mix de extração

foi, então, preparado misturando-se tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0), EDTA 10 mM e ácido ascórbico 200 mM em frasco âmbar protegido da luz (Anderson; Prasad; Stewart, 1995).

Para a extração, aproximadamente 0,10 a 0,20 g de tecido vegetal congelado (-80 °C) foram macerados em almofariz com 2 mL do mix de extração. O material foi transferido para tubos Eppendorf e centrifugado a 12.000 rpm por 23 minutos a 4 °C. O sobrenadante obtido foi utilizado para as determinações das atividades enzimáticas (Anderson; Prasad; Stewart, 1995).

A atividade da catalase foi determinada conforme a metodologia descrita por Havir e McHale (1987), baseada no consumo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) monitorado pela redução da absorbância a 240 nm. A metodologia segue protocolos clássicos para avaliação de enzimas antioxidantes em plantas, com adaptações conforme descrito por Anderson et al. (1995).

Para tanto, foi preparado tampão fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), dissolvendo-se 10,83 g de KH₂PO₄ e 20,98 g de K₂HPO₄ em 1 L de água destilada, com pH ajustado para 7,0. O tampão foi mantido a 27°C antes do início das reações. A solução de peróxido de hidrogênio foi obtida diluindo-se 260 µL de H₂O₂ em 10 mL de água mili-Q.

A reação foi conduzida em cubeta de quartzo, com volume final de 1 mL. Para o branco, utilizou-se 50 µL de água destilada no lugar da amostra. Os volumes de amostra e água foram ajustados conforme testes de linearidade prévios, mantendo-se o volume total de 50 µL. A reação foi iniciada pela adição de H₂O₂ imediatamente antes da leitura. A absorbância foi monitorada em espectrofotômetro a 240 nm, em modo cinético, por 90 segundos, com leituras a cada 10 segundos.

A atividade da ascorbato peroxidase foi determinada conforme a metodologia descrita por Nakano e Asada (1981), monitorando-se a oxidação do ácido ascórbico a 290 nm, conforme amplamente utilizado em estudos de estresse oxidativo em plantas (Anderson et al., 1995).

Para o preparo do tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), realizou-se a diluição do tampão 200 mM. Para 50 mL de tampão 50 mM, foram diluídos 12,5 mL do tampão 200 mM em 37,5 mL de água deionizada. O peróxido de hidrogênio 30 mM foi preparado a partir de H₂O₂ concentrado, considerando-se densidade de 1,11 g mL⁻¹ e massa molar de 34,01 g mol⁻¹. O ácido ascórbico foi adicionado ao tampão no dia da análise, uma vez que o mix de reação deve ser preparado imediatamente antes do uso.

Em tubo tipo Eppendorf, os reagentes foram pipetados na seguinte ordem, mantendo-se a incubação a 27 °C: 900 µL do mix de reação (TFK 50 mM + ácido ascórbico), 25 µL de amostra, 25 µL de tampão de extração (TFK 0,1 M, pH 7,0) e 50 µL de H₂O₂ (30 mM). A reação foi iniciada pela adição de H₂O₂ e a absorbância, monitorada a 290 nm, em modo cinético. O

cálculo da atividade enzimática considerou o coeficiente de extinção molar do ascorbato ($2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

A determinação de açúcares solúveis totais foi realizada pelo método de Dubois *et al.*, (1956), que se baseia na reação de carboidratos com fenol e ácido sulfúrico concentrado, formando compostos coloridos medidos espectrofotometricamente.

Para o preparo dos reagentes, foi utilizada solução de fenol 5%, obtida pela dissolução de 50 g de fenol em 700 mL de água deionizada, completando-se o volume para 1000 mL. A solução padrão de glicose ($180 \mu\text{g mL}^{-1}$ ou 1 mmol L^{-1}) foi preparada dissolvendo-se 0,018 g de glicose anidra em aproximadamente 70 mL de água deionizada, completando-se o volume para 100 mL.

Para a extração das amostras, aproximadamente 0,375 g de tecido vegetal foram homogeneizados com 1,5 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0). O homogenato foi centrifugado a 12.000 g por 15 minutos a 4°C , e o sobrenadante coletado. No procedimento analítico, uma alíquota do extrato foi transferida para tubo de ensaio, adicionando-se 0,5 mL de fenol 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após agitação, os tubos foram mantidos em repouso por 30 minutos para desenvolvimento da cor. A absorbância foi medida a 490 nm em espectrofotômetro, e a concentração de açúcares foi calculada com base em uma curva padrão de glicose.

Os teores de clorofilas *a*, *b* e carotenoides foram determinados conforme a metodologia descrita por Lichtenthaler (1987), com extração em acetona 80%. Foram coletados aproximadamente 200 mg de tecido foliar e imediatamente congelados em nitrogênio líquido. O tecido foi homogeneizado em almofariz com CaCO_3 , acetona 80%. O extrato foi centrifugado e o sobrenadante, transferido para balão volumétrico protegido da luz. As leituras foram realizadas a 470 nm, 646,8 nm e 663,2 nm, e as concentrações, calculadas pelas equações propostas por Lichtenthaler (1987).

Todas as análises espectrofotométricas foram realizadas em triplicata técnica, e os resultados, expressos como média $\pm$ desvio padrão. As curvas-padrão foram construídas com concentrações conhecidas dos respectivos padrões analíticos.

A determinação dos teores de nitrogênio (N), foi realizada utilizando-se o método Kjeldahl (1883). A análise de Fósforo (P) e Potássio (K) foi realizada em amostras de tecido vegetal seco e moído, seguindo metodologias padronizadas amplamente utilizadas em laboratórios de nutrição vegetal (SILVA, 2009). As amostras foram inicialmente secas em estufa de circulação forçada a $65\text{--}70^\circ\text{C}$ até peso constante e moídas em moinho tipo Wiley, utilizando peneira de 20 a 40 mesh.

Para avaliar a capacidade de colonização e adesão de *Bacillus aryabhatai* à superfície radicular, segmentos de raízes frescas foram coletados no dia da análise e secos ao ar. As amostras foram montadas em stubs, metalizadas com ouro e examinadas em microscópio eletrônico de varredura sob tensão de aceleração. A presença de células bacterianas aderidas à epiderme radicular, bem como possíveis alterações morfológicas na superfície da raiz, foram documentadas por meio de eletromicrografias (Curvelo *et al.*, 2010).

3.8 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido no delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 5 (genótipos) x 2 (sendo um tratamento controle e outro inoculado), totalizando 10 tratamentos, com nove repetições e três plantas por parcela.

3.9 Análise estatística

O tempo até o enraizamento foi analisado por meio de análise de sobrevivência. Para cada propágulo, registrou-se o tempo (em dias) desde o plantio até a primeira emissão visível de raízes. Os propágulos que não apresentaram enraizamento até o final do período experimental (28 dias) foram tratados como observações censuradas à direita. Curvas de Kaplan–Meier foram ajustadas para modelar o tempo até o enraizamento nos tratamentos controle (sem inoculação) e inoculado (com bactérias), separadamente para cada genótipo.

Para fins de apresentação gráfica, as estimativas de Kaplan–Meier foram expressas como a proporção acumulada de propágulos enraizados ao longo do tempo, por meio da função complementar ($1 - S(t)$), de modo a facilitar a interpretação biológica dos resultados. As diferenças entre as curvas foram avaliadas pelo teste de log-rank (Mantel–Cox), adotado como teste principal, e pelo teste de Gehan–Breslow–Wilcoxon, como análise complementar, por ser mais sensível a diferenças ocorridas nas fases iniciais do processo de enraizamento. O tamanho do efeito do tratamento foi estimado por meio da razão de riscos instantâneos (hazard ratio – HR), com respectivos intervalos de confiança de 95%, e o tempo mediano até o enraizamento foi estimado para cada tratamento.

Adicionalmente, os dados coletados aos 28 dias, os propágulos (enraizados vs. não enraizados) foram analisados por meio de modelo linear generalizado com distribuição binomial e função de ligação logito (regressão logística). O enraizamento ao final do período experimental foi codificado como variável binária (1 = enraizado; 0 = não enraizado). O modelo incluiu como efeitos fixos o tratamento (sem inoculação vs. com inoculação), o genótipo (13, 14, 30, 104 e 106) e a interação tratamento x genótipo, permitindo avaliar respostas diferenciais

dos genótipos à inoculação bacteriana. As estimativas de efeito foram expressas como razões de chances (odds ratios – OR) com respectivos intervalos de confiança de 95%, e a significância estatística dos efeitos foi avaliada por testes de Wald (ou de razão de verossimilhança), adotando-se nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

Considerando que a inoculação foi aplicada no nível da miniestufa para evitar contaminação cruzada entre tratamentos, os resultados referentes ao efeito da inoculação foram interpretados como evidência associativa sob condições experimentais adjacentes, devendo-se evitar inferência causal estrita ao nível do propágulo individual. As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism (versão 10.4.2) e no ambiente R (versão 4.5.1).

Os dados obtidos nas avaliações a pleno sol foram analisados em delineamento bifatorial, considerando os fatores inoculação e genótipos, bem como a interação inoculação x genótipos. Antes da análise de variância, verificaram-se os pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade de variâncias. A homogeneidade foi avaliada por meio do teste de Bartlett e a normalidade por Shapiro–Wilk. Atendidos os pressupostos, aplicou-se ANOVA de dois fatores (two-way ANOVA). Quando a interação foi significativa, o desdobramento foi realizado por meio de análise de efeitos simples e comparação de médias pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). Na ausência de interação, os efeitos principais foram interpretados e comparados por Tukey ($\alpha = 0,05$). As análises foram realizadas no software Prism (versão 10.4.2).

Os dados de crescimento (altura, diâmetro, número de folhas, SPAD e temperatura foliar) foram submetidos à análise de variância em esquema de parcelas subdivididas no tempo, por meio de ANOVA bifatorial com medidas repetidas, considerando-se o tempo de avaliação como fator intrassujeitos (medidas repetidas) e a inoculação como fator intersujeitos. As análises foram conduzidas separadamente para cada genótipo, de modo a permitir a interpretação dos efeitos da inoculação ao longo do tempo em cada material genético.

Quando detectados efeitos significativos, as médias dos tratamentos com e sem inoculação foram comparadas em cada tempo de avaliação por meio do teste de comparações múltiplas de Sidak, adotando-se nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Previamente às análises, os pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade de variâncias foram verificados. A correção de Geisser–Greenhouse foi aplicada quando a suposição de esfericidade não foi atendida. As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism (10.4.2). Para fins de representação gráfica e descrição das tendências de crescimento ao longo do período experimental, foram ajustadas regressões lineares simples às médias de altura e diâmetro ao longo do tempo. Já para o número de folhas nos genótipos G13, G30, G104 e G106, foram ajustadas regressões de logística; para o genótipo G14, a equação de melhor ajuste aos

dados foi a polinomial de segundo grau.

4 RESULTADOS

4.1 Dinâmica temporal e eficiência do enraizamento

A inoculação reduziu o tempo de enraizamento dos genótipos 13, 14 e 30, demonstrando aumento tanto na magnitude quanto na velocidade do processo (Figura 3 A, B, C). As curvas de Kaplan-Meier revelaram diferenças significativas no tempo até o enraizamento entre os tratamentos, especialmente para o genótipo 14 (log-rank: $\chi^2 = 9,872$; $p = 0,0017$), cujo tempo médio de enraizamento diminuiu de 20 dias no controle para 16 dias nas miniestacas inoculadas com *Bacillus aryabhattai*. Para os genótipos 13 e 30, embora também tenha havido redução no período de enraizamento, quando inoculados, as diferenças não foram estatisticamente significativas (log-rank: $\chi^2 = 0,00034$; $p = 0,9883$ e $\chi^2 = 0,7379$; $p = 0,3903$, respectivamente). O efeito promotor da bactéria foi corroborado pelas razões de risco instantâneo (HR: 0,997; IC95%: 0,71–1,41; HR: 1,817; IC95%: 1,232–2,679; HR: 1,140; IC95%: 0,828–1,521), com destaque para o genótipo 14.

Conforme apresentado na Figura 3 (A, C, E), os genótipos 13, 30 e 106 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, uma vez que suas curvas de Kaplan-Meier permaneceram sobrepostas ao longo do período avaliado. Observa-se que as curvas iniciam de forma coincidente e mantêm-se paralelas ao longo do tempo, reforçando a equivalência na resposta à inoculação. Já para os clones 14 e 104 (Figura 3 B, D), foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, com valores de $p = 0,0017$ e $p = 0,0069$, respectivamente ($p < 0,05$). Essa diferença foi evidenciada pela separação pronunciada das curvas ao longo do tempo, com o tratamento inoculado apresentando enraizamento mais acelerado desde os primeiros dias de avaliação para o genótipo 14. Contrariamente, o genótipo 104 apresenta redução da taxa de enraizamento ao longo do tempo no tratamento com inoculação. Tal comportamento indica efeito distinto quanto a responsividade desses clones à inoculação com *Bacillus aryabhattai*, sugerindo potencial para redução do ciclo de produção de mudas em viveiro em genótipos com menor índice de enraizamento, a exemplo do genótipo 14.

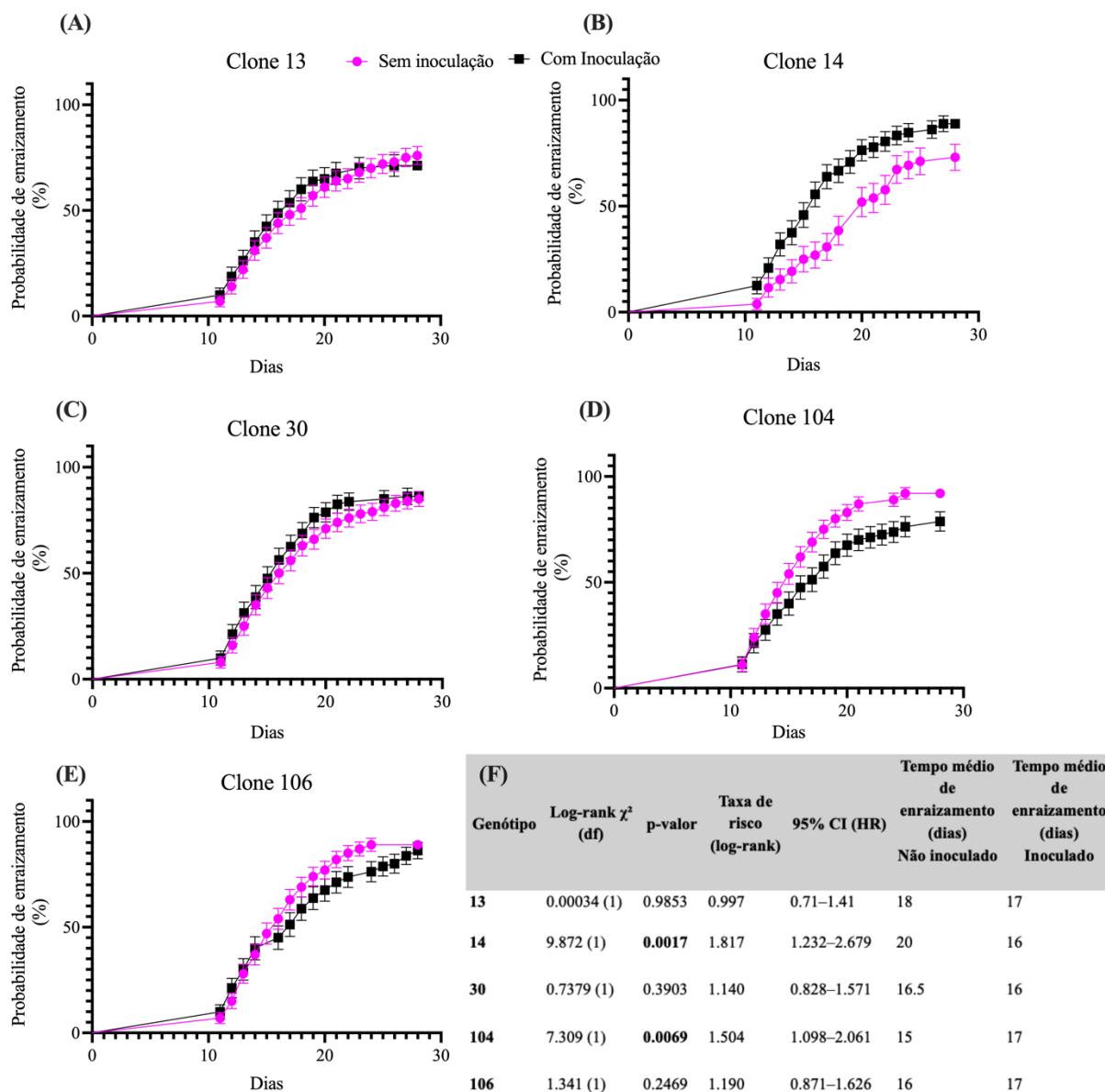


Figura 3 - Proporção acumulada de propágulos enraizados ao longo do tempo para os cinco genótipos de *Eucalyptus* sob os tratamentos controle (sem inoculação) e inoculado (com *Bacillus aryabhattai*). Os painéis correspondem a: (A) genótipo 13; (B) genótipo 14; (C) genótipo 30; (D) genótipo 104; e (E) genótipo 106. As curvas correspondem à função complementar das estimativas de Kaplan–Meier ($1 - S(t)$). Propágulos que não enraizaram até 28 dias foram considerados observações censuradas. (F) Tabela-resumo dos resultados das análises estatísticas (teste de log-rank, hazard ratio e tempo mediano até o enraizamento) para cada genótipo.

Aos 28 dias de experimento em casa de vegetação, os dados de enraizamento foram analisados por meio de modelo linear generalizado com distribuição binomial, sendo os efeitos dos tratamentos expressos como odds ratios (OR). Valores de OR inferiores a 1 indicaram redução na razão de chances de enraizamento em relação ao controle. Conforme a Tabela 4, os genótipos 13, 14 e 30 apresentaram OR de 0,41 (IC95%: 0,15–1,26), 0,049 (IC95%: 0,006–0,39) e 0,29 (IC95%: 0,09–0,95), respectivamente, em que apenas o genótipo 14 e 104 diferiram estatisticamente quanto a aplicação do inoculante. Esses resultados foram consistentes com as

porcentagens finais de enraizamento das miniestacas inoculadas com *Bacillus aryabhattai* que foi de 71,25% (genótipo 13), 88,88% (genótipo 14) e 86,25% (genótipo 30), com o genótipo 14 apresentando a maior taxa de enraizamento dentro os genótipos do tratamento com o inoculante bacteriano, com aumento de 20,5 % na taxa de enraizamento quando comparado ao tratamento sem inoculante. Observa-se na Tabela 4 que os genótipos com porcentagem de enraizamento no tratamento controle superior a 75% apresentam redução na taxa de enraizamento quando há aplicação do inoculante. O genótipo 104 apresentou taxa de enraizamento no tratamento controle de 92% e uma redução de 14, 4 % quando inoculado com *Bacillus aryabhattai*.

Tabela 4. Enraizamento final, aos 28 dias, de cinco genótipos de *Eucalyptus* sob tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*.

Genótipo	% Enraizamento (Controle)	% Enraizamento (Inoculado)	OR (Sem vs Com)	95% CI	p-value
13	76.0	71.25	0.41	0.13–1.26	0.120
14	73.0	88.88	0.049	0.016–0.153	<0.001
30	85.0	86.25	0.29	0.085–0.997	0.049
104	92.0	78.75	1.59	1.14–2.24	0.0069
106	89.0	86.25	1.19	0.87–1.63	0.247

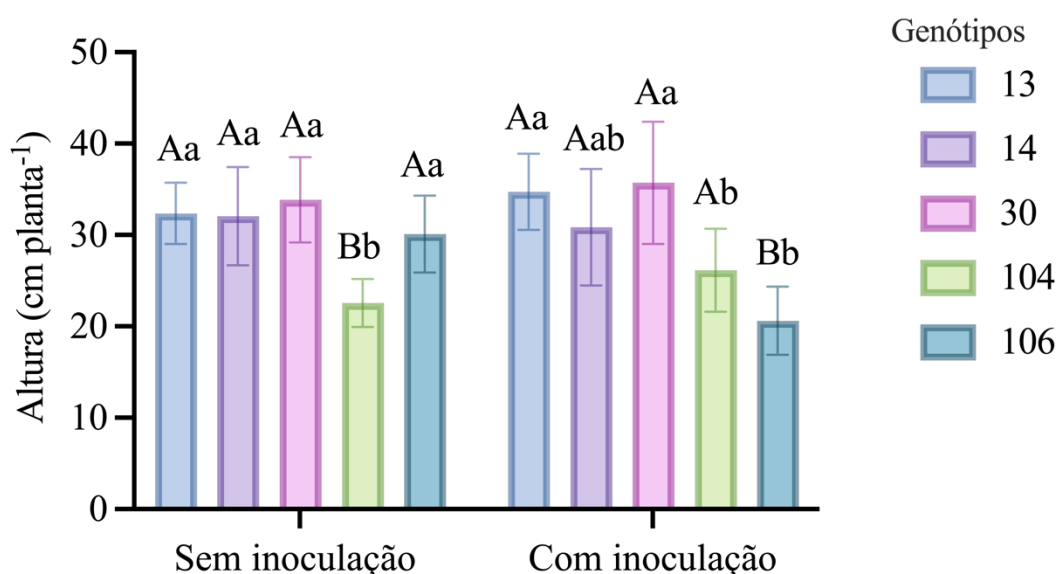
Nota: O enraizamento final (enraizado vs. não enraizado aos 28 dias) foi analisado utilizando um modelo linear generalizado binomial incluindo tratamento, genótipo e sua interação. As razões de chances (OR) são apresentadas para sem vs com (valores < 1 indicam maior probabilidade de enraizamento com a inoculação). Propágulos não enraizados foram considerados falhas no dia 28.

4.2 Efeito da inoculação no crescimento em altura e diâmetro das mudas

Na figura 4 não foi observado efeito significativo do fator inoculação isoladamente sobre a altura das mudas. No entanto, verificou-se interação significativa entre os fatores genótipo e inoculação ($p = 0,0002$), responsável por 12,69% da variação total observada. O fator genótipo, isoladamente, explicou 41,32% da variação total, evidenciando a forte influência da base genética sobre o crescimento das plantas.

A análise desdobrada da interação revelou comportamentos diferenciados entre os genótipos avaliados (Figura 4). Os híbridos 104 e 106 apresentaram diferenças estatisticamente significativas e divergentes entre os tratamentos controle e inoculado. No clone 104 há aumento de aproximadamente 4 cm na altura quando inoculado (22,5 cm tratamento sem inoculação e 26,15 cm quando inoculado). Já o clone 106, respondeu reduzindo em 10 cm a altura quando inoculado com *Bacillus aryabhattai* (30,1 cm no tratamento sem inoculação e 20,6 cm no

tratamento com inoculação). Por outro lado, para os clones 13, 14 e 30, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inoculação. O clone 104 apresentou o menor crescimento em altura entre os clones avaliados no tratamento sem inoculação.

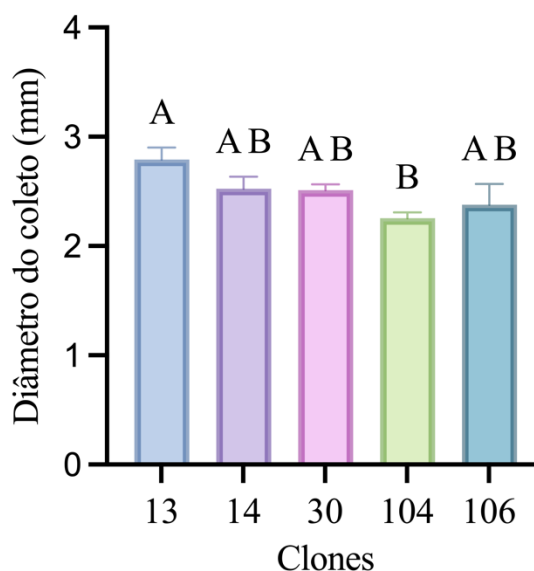


Fonte de variação	Variação total (%)	P – valor
Interação	12.69	0.0002
Tratamento (com e sem inoculação)	0.1885	0.5444
Genótipos	41.32	<0.0001

Figura 4 - Altura média (cm) de mudas de genótipos de *Eucalyptus urophylla* x *E. brassiana* (13); *E. tereticornis* x *E. brassiana* x *E. urophylla* (14); *E. tereticornis* x *E. brassiana* x *E. grandis* (30); e *E. urophylla* x *E. tereticornis* (104 e 106), nos tratamentos sem e com inoculação com *Bacillus aryabhattai*, avaliados após transferência para pleno sol. Barras representam médias $\pm$ barras de erro (desvio padrão). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inoculação para um mesmo genótipo, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos dentro de um mesmo tratamento de inoculação (teste de Tukey, $p < 0,05$). Tabela de análise de variância (ANOVA) com fontes de variação, porcentagem de variância total e valores de P.

Em relação ao diâmetro do coleto (Figura 5), não foi observado efeito significativo da inoculação bacteriana, tampouco interação significativa entre os fatores genótipo e inoculação ($p = 0,2336$). A interação explicou apenas 0,10% da variação total, confirmando a ausência de efeito conjunto entre os fatores avaliados. No entanto, foi detectado efeito significativo do fator genótipo isoladamente ($p < 0,0001$), responsável por 24,08% da variação total observada. A análise de comparação de médias revelou que os genótipos 104 apresentou menor média 2,4 mm e diferiu estatisticamente dos demais genótipos avaliados, evidenciando que as

características genéticas intrínsecas de cada híbrido influenciaram o diâmetro do coleto de forma independente da presença da bactéria.



Fonte de variação	Variação total (%)	P – valor
Interação	4.724	0.2336
Tratamento (com e sem inoculação)	0.1045	0.7237
Genótipos	24.08	<0.0001

Figura 5 -Diâmetro médio do coleto (cm) de mudas dos clones híbridos *E. urophylla* x *E. brassiana* (13); *E. tereticornis* x *E. brassiana* x *E. urophylla* (14); *E. tereticornis* x *E. brassiana* x *E. grandis* (30); *E. urophylla* x *E. tereticornis* (104 e 106), nos tratamentos sem e com inoculação de *Bacillus aryabhattai*, avaliados após transferência para pleno sol. Barras representam médias $\pm$ barras de erro (desvio padrão). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inoculação para um mesmo genótipo, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos dentro de um mesmo tratamento de inoculação (teste de Tukey, $p < 0,05$). Quadro com análise de variância (ANOVA) com fontes de variação, porcentagem de variância total e valores de P.

Durante a fase de crescimento e rustificação das mudas, não foram registradas mortalidades em nenhum dos tratamentos ou genótipos avaliados, resultando em 100% de sobrevivência das mudas ao longo de todo o período.

4.3 Dinâmica de crescimento em altura, diâmetro e número de folhas de mudas de clones de *Eucalyptus* com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai* na fase pós-transplântio

A inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), como *Bacillus aryabhattai*, tem se destacado como uma estratégia promissora para potencializar o crescimento e a resiliência em diferentes espécies. Nesse sentido é fundamental compreender os efeitos dessa associação ao longo do tempo.

Conforme mostrado na Tabela 5 e 6, a análise de variância com medidas repetidas indicou efeito significativo do tempo de avaliação sobre a altura e o diâmetro ($p < 0,0001$) para todos os genótipos testados, evidenciando o crescimento das plantas ao longo do período experimental. Não foi observado efeito significativo da inoculação, nem interação significativa entre tempo e inoculação, indicando que, no período avaliado, a dinâmica temporal de altura e diâmetro foi semelhante entre plantas com e sem inoculação.

Tabela 5. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para altura de clones de *Eucalyptus* ao longo de 3 meses, com avaliações a cada 7 dias, considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*) e a interação avaliação $\times$ inoculação. Valores de F e p obtidos por ANOVA de medidas repetidas. Quando aplicável, foi utilizada a correção de Geisser–Greenhouse para violação da esfericidade. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Genótipo	Fonte de variação	Gl (df)	F	p-valor
G13	Avaliação	3,160; 50,56	151,8	<0,0001
	Inoculação	1, 16	3,734	0,0712
	Avaliação $\times$ Inoculação	3,160; 50,56	1,246	0,3033
G14	Avaliação	2,838; 45,41	157,5	<0,0001
	Inoculação	1,16	0,9766	0,3377
	Avaliação $\times$ Inoculação	2,838; 45,41	0,9649	0,4138
G30	Avaliação	3,574; 57,18	181,0	<0,0001
	Inoculação	1, 16	1,832	0,1947
	Avaliação $\times$ Inoculação	3,574; 57,18	0,9486	0,4353
G104	Avaliação	2,173; 34,77	95,85	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,06157	0,8072
	Avaliação $\times$ Inoculação	2,173; 34,77	0,5314	0,6071
G106	Avaliação	2,592; 41,47	73,74	<0,0001
	Inoculação	1, 16	1,115	0,3066
	Avaliação $\times$ Inoculação	2,592; 41,47	0,6952	0,5402

Tabela 6. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para diâmetro das plantas ao longo do tempo, considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação) e a interação avaliação $\times$ inoculação. Valores de F e p obtidos por ANOVA de medidas repetidas. Quando aplicável, foi utilizada a correção de Geisser–Greenhouse para violação da esfericidade. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Genótipo	Fonte de variação	Gl (df)	F	p-valor
G13	Avaliação	3,485; 55,76	131,3	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,1481	0,7054
	Avaliação × Inoculação	3,485; 55,76	0,4317	0,7596
G14	Avaliação	3,082; 49,31	197,2	<0,0001
	Inoculação	1,16	2,421	0,1393
	Avaliação × Inoculação	3,082; 49,31	1,376	0,2606
G30	Avaliação	1,279; 20,46	29,63	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,008	0,9300
	Avaliação × Inoculação	1,279; 20,46	0,8074	0,4084
G104	Avaliação	2,639; 42,23	131,0	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,5399	0,4731
	Avaliação × Inoculação	2,639; 42,23	0,4244	0,7117
G106	Avaliação	2,910; 46,55	157,7	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,3221	0,5782
	Avaliação × Inoculação	2,910; 46,55	0,3385	0,7916

Antes do início do estresse hídrico (avaliações 1 a 6), observou-se aumento progressivo tanto da altura (Figura 6A-E) quanto do diâmetro do colo (Figura 7A-E) das plantas em todos os cinco genótipos de *Eucalyptus* avaliados (G13, G14, G30, G104 e G106), nos tratamentos sem e com inoculação. Nesse período, as médias de ambos os caracteres apresentaram trajetórias crescentes ao longo das avaliações iniciais, com proximidade entre os valores dos dois tratamentos e sobreposição frequente das barras de erro na maioria dos pontos amostrais.

Durante o período de estresse hídrico entre as avaliações 6 e 9 (Figura 6 e 7), tanto a altura quanto o diâmetro do colo continuaram a apresentar tendência de incremento para todos os genótipos e tratamentos. Não foram observadas mudanças abruptas nas trajetórias imediatamente após o início do estresse, e as séries dos tratamentos sem e com inoculação mantiveram-se próximas ao longo desse intervalo, com sobreposição parcial ou total das barras de erro em grande parte das avaliações. Destaca-se que, para o genótipo 14, tanto para altura quanto para diâmetro do colo, não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos; entretanto, observa-se uma tendência visual de valores ligeiramente superiores ao longo das avaliações sob estresse quando as plantas estão inoculadas com *Bacillus aryabhattai* (Figura 6 e 7).

Após o término do estresse hídrico nas avaliações 9 a 12 (Figura 6 e 7), manteve-se o padrão de incremento da altura e do diâmetro do colo em todos os genótipos avaliados, independentemente do tratamento. As diferenças visuais entre os tratamentos variaram entre genótipos nas avaliações finais, permanecendo, em geral, trajetórias semelhantes ao longo do tempo, com barras de erro frequentemente sobrepostas.

As curvas ajustadas por regressão linear descreveram o incremento temporal da altura e do diâmetro do colo ao longo das avaliações para ambos os tratamentos em todos os genótipos, com coeficientes de determinação (R^2) variando entre valores moderados e elevados, conforme indicado em cada painel das Figuras 6 e 7.

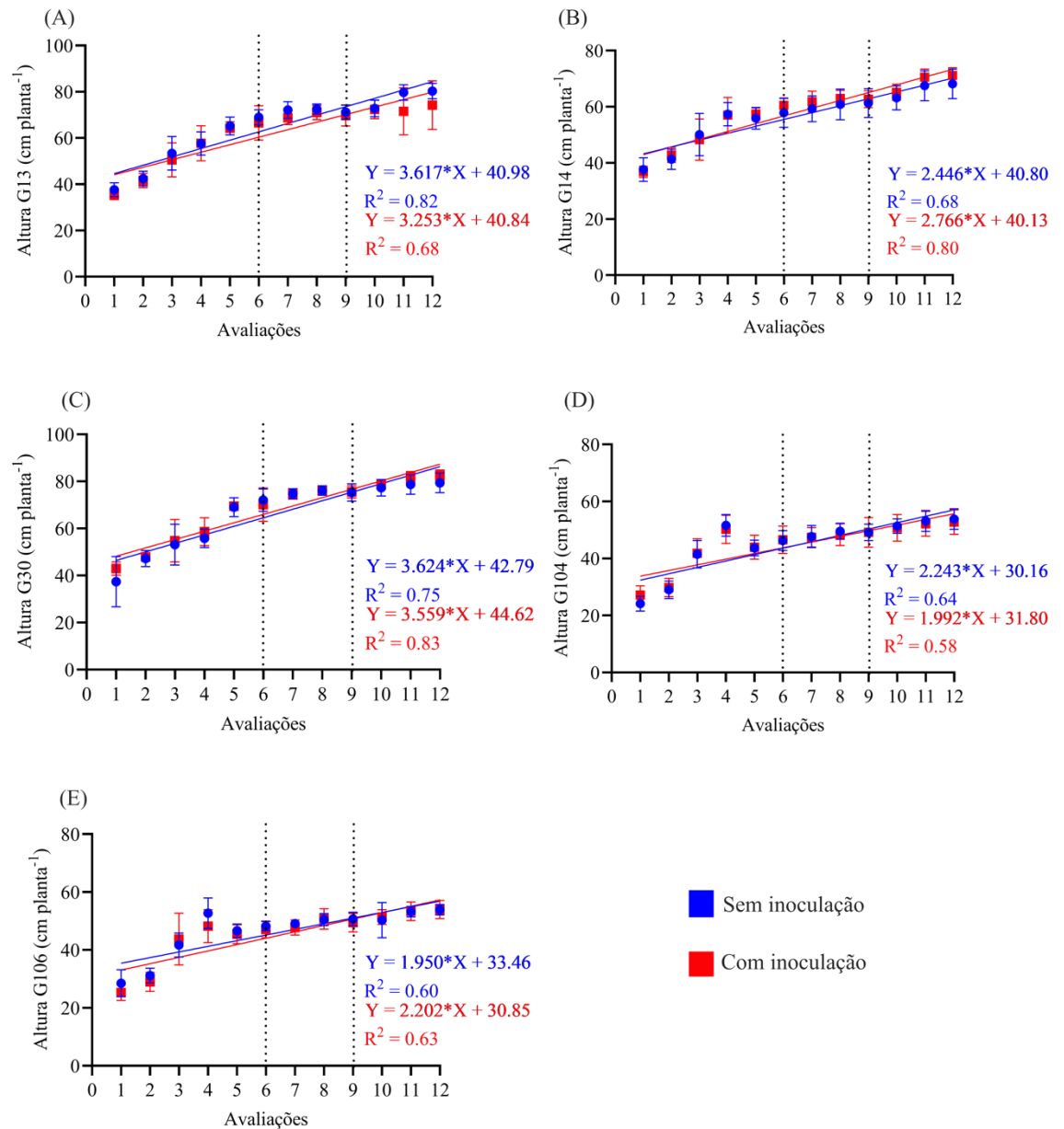


Figura 6 - Dinâmica temporal da altura de cinco genótipos de *Eucalyptus* sob estresse hídrico, com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*. O tratamento controle (não inoculado) está representado em azul e o tratamento inoculado em vermelho. As barras correspondem ao erro padrão da média. As linhas verticais pontilhadas indicam o início e o fim da imposição do estresse hídrico. As curvas representam o ajuste do modelo de regressão utilizado para descrever o crescimento em altura ao longo do tempo, com os coeficientes de determinação (R²) indicados.

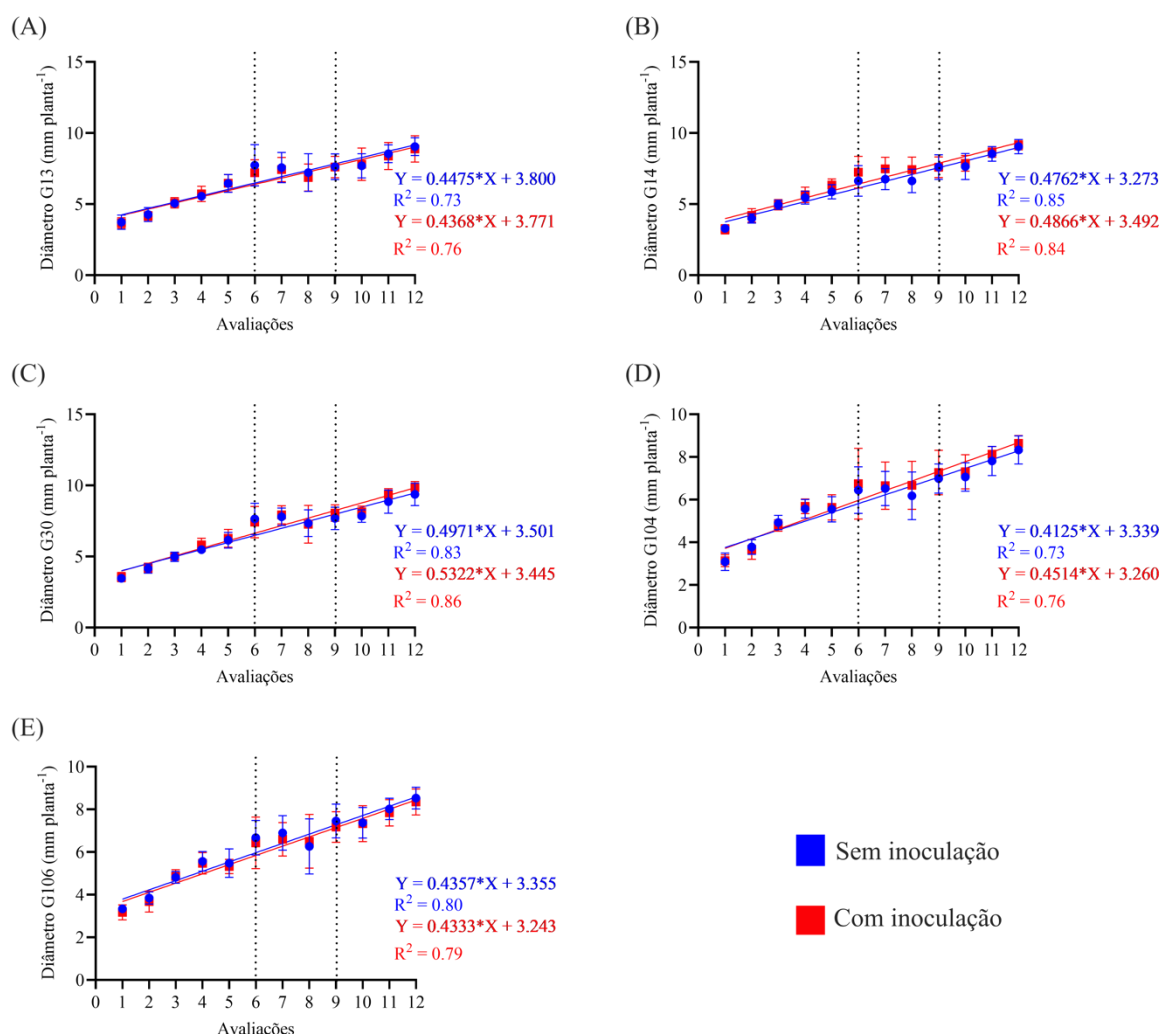


Figura 7 - Diâmetro do colo ao longo do ciclo experimental em cinco genótipos de *Eucalyptus* submetidos a estresse hídrico, avaliando o efeito da inoculação com *Bacillus aryabhattai*. Pontos azuis correspondem às plantas não inoculadas e pontos vermelhos às plantas inoculadas. As barras de erro representam o erro padrão da média, enquanto as linhas verticais pontilhadas indicam o início e o fim do estresse hídrico. As linhas ajustadas indicam o modelo de regressão utilizado para descrever a dinâmica de crescimento em diâmetro.

A análise de variância com medidas repetidas indicou efeito significativo do tempo de avaliação sobre o número de folhas ($p < 0,0001$), não houve efeito significativo da inoculação, nem da interação entre tempo e inoculação, indicando que dentro do período avaliado, a dinâmica temporal para o número de folhas foi semelhante entre plantas com e sem inoculação (Tabela 7).

Tabela 6. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para número de folhas de clones de *Eucalyptus* ao longo de 3 meses, com avaliações a cada 7 dias, considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*) e a interação avaliação $\times$ inoculação. Valores de F e p obtidos por ANOVA de medidas repetidas. Quando aplicável, foi utilizada a correção de Geisser–

Greenhouse para violação da esfericidade. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Genótipo	Fonte de variação	Gl (df)	F	p-valor
G13	Avaliação	2,753; 44,05	63,14	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,9671	0,3401
	Avaliação × Inoculação	2,753; 44,05	1,350	0,2709
G14	Avaliação	2,707; 43,31	63,44	<0,0001
	Inoculação	1,16	0,054	0,8188
	Avaliação × Inoculação	2,707; 43,31	0,7573	0,5118
G30	Avaliação	11, 96	47,23	<0,0001
	Inoculação	1,16	0,2918	0,5903
	Avaliação × Inoculação	11, 96	0,3845	0,9592
G104	Avaliação	4,221; 67,53	154,60	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,1184	0,7352
	Avaliação × Inoculação	4,221; 67,53	0,2865	0,8943
G106	Avaliação	3,474; 55,58	97,64	<0,0001
	Inoculação	1, 16	1,507	0,2373
	Avaliação × Inoculação	3,474; 55,58	0,5722	0,6603

Antes do início do estresse hídrico (avaliações 1 a 6), observou-se aumento progressivo no número de folhas por planta em todos os cinco genótipos de *Eucalyptus* avaliados (G13, G14, G30, G104 e G106), tanto no tratamento sem inoculação quanto no tratamento com inoculação (Figura 8A-E). Nesse período, os valores médios de número de folhas apresentaram trajetória ascendente ao longo das avaliações iniciais, com proximidade entre os dois tratamentos e sobreposição frequente das barras de erro.

Durante o período de estresse hídrico (entre as avaliações 6 e 9), o número de folhas manteve-se relativamente estável ou apresentou incremento discreto na maioria dos genótipos, com variações entre genótipos quanto à magnitude das oscilações ao longo das avaliações. As séries dos tratamentos sem e com inoculação permaneceram próximas nesse intervalo, com sobreposição parcial ou total das barras de erro em grande parte dos pontos. Entretanto, visualmente na oitava avaliação, durante o período de estresse, para os genótipos 14 e 106 há sutil incremento visual do número de folhas quando as plantas são inoculadas com *Bacillus aryabhattai* (Figura 8).

Após o término do estresse hídrico (avaliações 9 a 12), observou-se manutenção dos valores de número de folhas ou pequenas variações ao longo das avaliações finais, sem mudanças abruptas de padrão em relação ao período anterior. As diferenças visuais entre os tratamentos variaram entre genótipos nas avaliações finais, mantendo-se, em geral, trajetórias semelhantes ao longo do tempo, com barras de erro frequentemente sobrepostas (Figura 8).

As curvas ajustadas aos dados descreveram a dinâmica temporal do número de folhas ao longo das avaliações para ambos os tratamentos em todos os genótipos, com coeficientes de determinação (R^2) variando entre aproximadamente 0,68 e 0,85, conforme indicado na Figura 8.

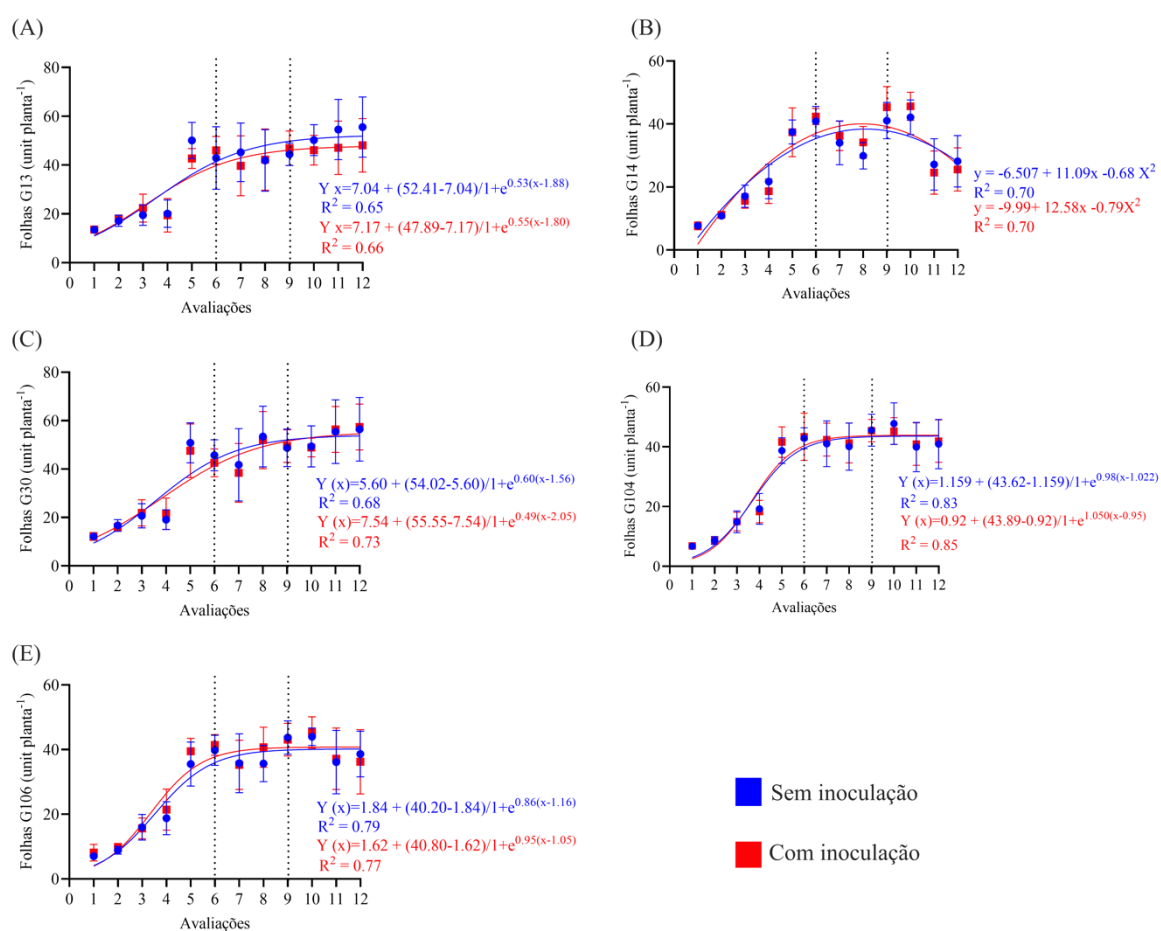


Figura 8 - Dinâmica temporal do número de folhas em cinco genótipos de *Eucalyptus* sob estresse hídrico, com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*. O tratamento controle (não inoculado) está representado em azul e o tratamento inoculado em vermelho. As barras correspondem ao erro padrão da média, e as linhas verticais pontilhadas indicam o início e o fim da imposição do estresse hídrico. As curvas representam o ajuste do modelo de regressão para cada tratamento, com os respectivos coeficientes de determinação (R^2) apresentados no gráfico.

4.4 Índice SPAD e temperatura em genótipos de *Eucalyptus* em função dos tratamentos (com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*) e estresse hídrico

Na Tabela 8, para os genótipos G13, G14, G30, G104 e G106, o índice SPAD foi significativamente influenciado pelas épocas de avaliação ($p < 0,0001$), indicando variação temporal ao longo do ciclo experimental. No entanto, não houve efeito significativo da interação avaliação x inoculação, sendo os valores relativamente estável ao longo do período experimental. Contudo, para o genótipo G13, o índice SPAD foi significativamente influenciado pelo fator inoculação com a bactéria *Bacillus aryabhattai* ($p = 0,0346$).

Tabela 7. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para SPAD de clones de *Eucalyptus* ao longo de 3 meses (avaliações a cada 7 dias), considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*) e a interação avaliação x inoculação. Valores de F e p obtidos por ANOVA de medidas repetidas. Quando aplicável, foi utilizada a correção de Geisser–Greenhouse para violação da esfericidade. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Genótipo	Fonte de variação	Gl (df)	F	p-valor
G13	Avaliação	3,237; 51,79	56,00	<0,0001
	Inoculação	1, 16	5,333	0,0346
	Avaliação × Inoculação	3,237; 51,79	2,186	0,0962
G14	Avaliação	5, 80	57,15	<0,0001
	Inoculação	1,16	0,2941	0,8221
	Avaliação × Inoculação	5, 80	0,2941	0,9149
G30	Avaliação	3,637; 58,20	63,06	<0,0001
	Inoculação	1,16	0,016	0,9011
	Avaliação × Inoculação	3,637; 58,20	0,3935	0,7950
G104	Avaliação	2,858; 45,73	55,68	<0,0001
	Inoculação	1, 16	1,652	0,2169
	Avaliação × Inoculação	2,858; 45,73	1,452	0,2411
G106	Avaliação	3,547; 56,76	88,83	<0,0001
	Inoculação	1, 16	1,377	0,2578
	Avaliação × Inoculação	3,547; 56,76	0,3177	0,8439

Durante o período inicial de estresse, foram observadas alterações nas respostas dos cinco genótipos avaliados (Figura 9 A, B, C, D, E). No genótipo G13, no início do estresse, o tratamento sem inoculação apresentou média de 14,70 planta⁻¹, sendo superior ao tratamento inoculado com *Bacillus aryabhattai* registrou um valor médio de 11,62 planta⁻¹. Ao longo das

avaliações, verificou-se incremento no índice SPAD a partir da terceira avaliação para todos os genótipos de *Eucalyptus*. No G13, as médias foram de 35,32 planta⁻¹ (sem inoculação) e 33,44 planta⁻¹ (inoculado); no G14, 35,68 planta⁻¹ (sem inoculação) e 34,80 planta⁻¹(inoculado); no G30, 35,70 planta⁻¹(sem inoculação) e 35,26 planta⁻¹(inoculado); no G104, 34,41 planta⁻¹ (sem inoculação) e 30,83 planta⁻¹(inoculado); e no G106, 33,59 planta⁻¹ (sem inoculação) e 36,41 planta⁻¹ (inoculado com *B. aryabhattai*) (Figura 9 A, B, C, D, E).

Ao final do período de estresse, observou-se declínio no índice SPAD em ambos os tratamentos nos cinco genótipos, entretanto, apenas o genótipo G13 (Figura 9 A) diferiu estatisticamente com as seguintes médias para o tratamento sem inoculação (31,68 planta⁻¹) que foi estatisticamente superior ao inoculado (23,66 planta⁻¹). Após o período de estresse, o índice SPAD manteve-se estável para o tratamento sem inoculação, com médias entre 26,15 planta⁻¹ e 24,85 planta⁻¹ nas avaliações 5 e 6, respectivamente, enquanto o tratamento inoculado apresentou médias entre 25,13 planta⁻¹ e 26,11 planta⁻¹.

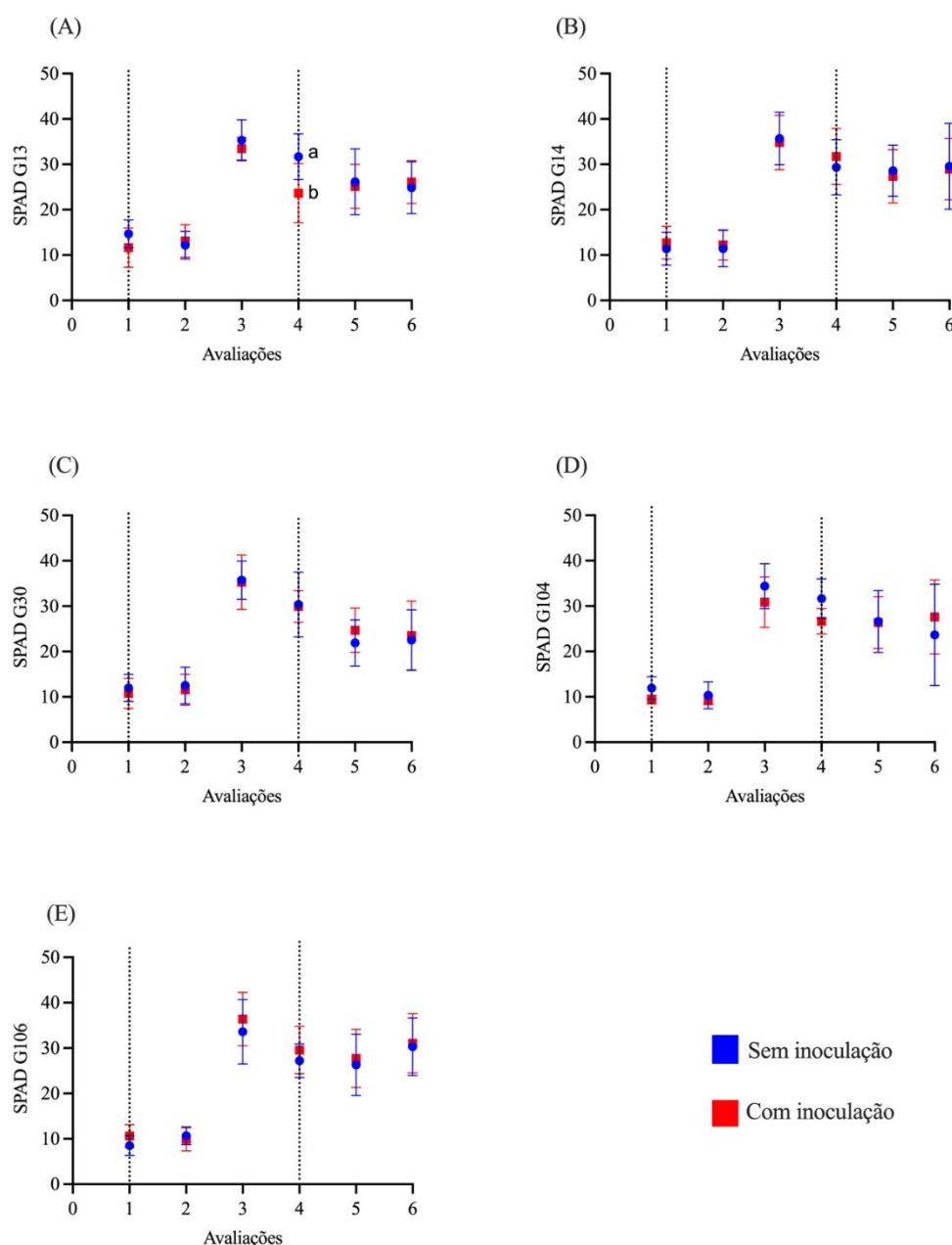


Figura 9 - Índice SPAD ao longo de seis avaliações para os genótipos de *Eucalyptus* sob condições de estresse hídrico inoculados ou não com *Bacillus aryabhattai*. Pontos azuis representam plantas não inoculadas (controle) e pontos vermelhos representam plantas inoculadas com *Bacillus aryabhattai*. As barras de erro indicam o erro padrão da média. As linhas verticais pontilhadas indicam o início do período de estresse hídrico.

Quanto a temperatura, houve diferença significativa para o fator avaliação do caractere temperatura ao longo do tempo dentre os genótipos estudados, entretanto, para os fatores inoculação e interação entre Avaliação x Inoculação com a *Bacillus aryabhattai* não houve diferenças estatísticas de forma significativa (Tabela9). Para fator Inoculação não houve efeito significativo em nenhum dos genótipos, com valores de F variando entre 0,0002 e 0,2348 e p-valores superiores a 0,63. Especificamente, os p-valores observados foram 0,6345 (G13),

0,6722 (G14), 0,6976 (G30), 0,9886 (G104) e 0,7228 (G106), indicando que a inoculação bacteriana não influenciou a temperatura das folhas.

Da mesma forma, a interação entre Avaliação x Inoculação não foi significativa para nenhum genótipo, com valores de F variando de 0,9263 a 1,429 e p-valores entre 0,2553 e 0,4312. Em conjunto, os resultados evidenciam que a temperatura foi significativamente influenciada pelo tempo, enquanto a inoculação bacteriana, isoladamente ou em interação com o fator Avaliação, não apresentou efeito estatisticamente detectável.

Tabela 8. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para temperatura de clones de *Eucalyptus* ao longo de 3 meses (avaliações a cada 7 dias), considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*) e a interação avaliação × inoculação. Valores de F e p obtidos por ANOVA de medidas repetidas. Quando aplicável, foi utilizada a correção de Geisser–Greenhouse para violação da esfericidade. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Genótipo	Fonte de variação	Gl (df)	F	p-valor
G13	Avaliação	2,672; 42,76	62,08	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,2348	0,6345
	Avaliação × Inoculação	2,672; 42,76	1,333	0,2765
G14	Avaliação	2,363; 37,81	46,71	<0,0001
	Inoculação	1,16	0,1858	0,6722
	Avaliação × Inoculação	2,363; 37,81	1,185	0,3225
G30	Avaliação	2,828; 45,25	43,94	<0,0001
	Inoculação	1,16	0,157	0,6976
	Avaliação × Inoculação	2,828; 45,25	0,9263	0,4312
G104	Avaliação	2,159; 34,54	48,12	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,0002	0,9886
	Avaliação × Inoculação	2,159; 34,54	1,237	0,3050
G106	Avaliação	1,794; 28,70	43,24	<0,0001
	Inoculação	1, 16	0,1304	0,7228
	Avaliação × Inoculação	1,794; 28,70	1,429	0,2553

Todos os grupos apresentaram aumento da temperatura foliar a partir da segunda avaliação, coincidindo com o início do estresse hídrico (Figura 10A-E). Na avaliação inicial, as temperaturas médias situaram-se próximas a 30–31 °C em ambos os tratamentos. Com a imposição do déficit hídrico, observou-se elevação térmica, com valores variando predominantemente entre 32 e 34 °C durante as avaliações 2 a 4 (Figura 10 A, E).

No grupo G13 (Figura 10-A), tanto plantas inoculadas quanto não inoculadas apresentaram incremento térmico durante o estresse, mantendo valores semelhantes entre si ao longo do período. Após o estresse (avaliações 5 e 6), as temperaturas permaneceram relativamente estáveis, com discreta variação entre os tratamentos.

Comportamento semelhante foi observado em G14 (Figura 10 B), no qual a elevação da temperatura ocorreu imediatamente após a indução do estresse hídrico. As médias térmicas mantiveram-se próximas entre plantas inoculadas e não inoculadas, com sobreposição das barras de erro ao longo das avaliações, inclusive no período pós-estresse.

Para o grupo G30 (Figura 10 C), a temperatura foliar aumentou durante o estresse hídrico, alcançando valores próximos a 33–34 °C. A comparação entre tratamentos indicou diferenças pontuais e de pequena magnitude, sem tendência consistente de superioridade térmica para plantas inoculadas ou não inoculadas. Na sexta avaliação, observou-se amplitude superior das barras de erro, indicando variabilidade.

No grupo G104 (Figura 10 D), verificou-se padrão semelhante aos anteriores, com incremento térmico durante o período de estresse e manutenção de valores elevados até a quarta avaliação. As médias entre os tratamentos permaneceram próximas em todas as fases experimentais. Após o estresse, as temperaturas mantiveram-se na mesma faixa observada durante o déficit hídrico.

Em G106 (Figura 10 E), a elevação da temperatura foliar também coincidiu com o período de restrição hídrica. As plantas inoculadas e não inoculadas apresentaram comportamento térmico semelhante ao longo das avaliações, com diferenças pouco expressivas entre tratamentos. Assim como nos demais grupos, a última avaliação apresentou maior variabilidade nos dados.

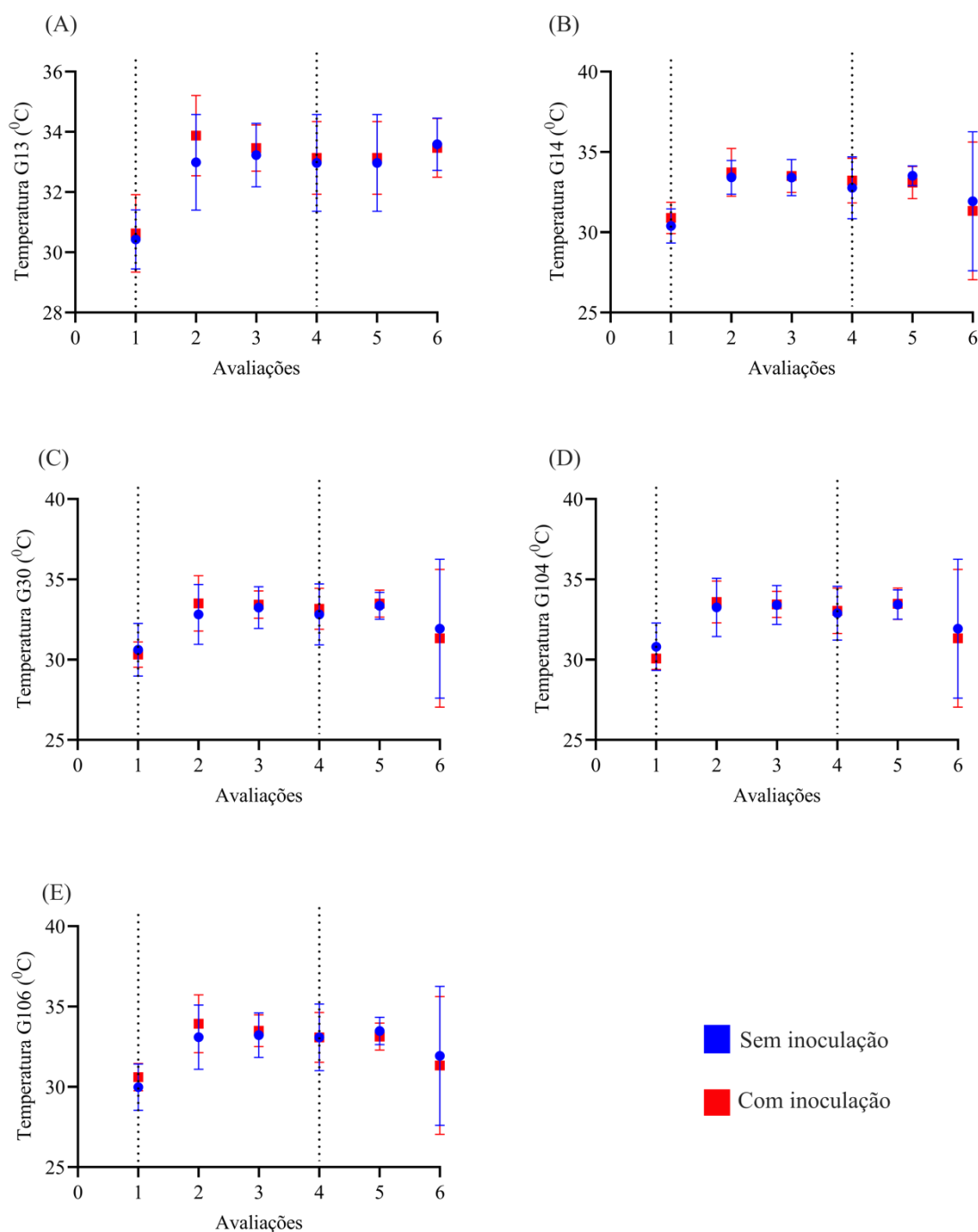


Figura 10 - Temperatura ao longo de seis avaliações para cinco genótipos de *Eucalyptus* sem e com inoculação com *Bacillus aryabhattai*, sob condições de estresse hídrico. Pontos azuis representam plantas não inoculadas (controle) e pontos vermelhos representam plantas inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). As barras de erro indicam o erro padrão da média. As linhas verticais pontilhadas indicam o início do período de estresse hídrico.

4.5 Análise de sobrevivência de plantas inoculadas e não inoculadas com *Bacillus aryabhattai* em condições de déficit hídrico

Pode-se observar na Tabela 10 que a análise de variância revelou efeito significativo do fator Avaliação para os genótipos G13, G30 e G104. Por outro lado, o genótipo G14 não apresentou efeito significativo do fator Avaliação ($F = 0,8608$; $p = 0,4108$), indicando estabilidade da sobrevivência ao longo das condições experimentais.

O fator Inoculação não apresentou efeito significativo para nenhum dos genótipos avaliados, com valores de p variando de 0,2267 a $>0,9999$, evidenciando que a inoculação bacteriana não influenciou a sobrevivência. Da mesma forma, a interação entre Avaliação e Inoculação não foi significativa para nenhum genótipo, com p -valores superiores a 0,36, indicando que a resposta dos genótipos ao longo das avaliações foi independente da inoculação. O genótipo G106 não apresentou resultados estimados pelo modelo, devido à ausência de variação dos dados.

Tabela 9. Resultados da análise de variância bifatorial com medidas repetidas para sobrevivência de clones de *Eucalyptus* ao longo de 3 meses (avaliações a cada 7 dias), considerando-se os efeitos de avaliação (tempo), inoculação (com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*) e a interação avaliação x inoculação. Valores de F e p obtidos por ANOVA de medidas repetidas. Quando aplicável, foi utilizada a correção de Geisser–Greenhouse para violação da esfericidade. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Genótipo	Fonte de variação	Gl (df)	F	p-valor
G13	Avaliação	1,635; 26,16	6,131	0,0096
	Inoculação	1, 16	1,488	0,2401
	Avaliação × Inoculação	1,635; 26,16	0,7477	0,4580
G14	Avaliação	1,578; 25,25	0,8608	0,4108
	Inoculação	1,16	0,8780	0,3627
	Avaliação × Inoculação	1,578; 25,25	0,4557	0,5935
G30	Avaliação	1,648; 26,37	3,602	0,0492
	Inoculação	1, 16	1,581	0,2267
	Avaliação × Inoculação	1,648; 26,37	1,000	0,3672
G104	Avaliação	1,000; 16,00	4,571	0,0483
	Inoculação	1, 16	5,449e-027	$>0,9999$
	Avaliação × Inoculação	1,000; 16,00	1,090e-027	0,9999

G106	Avaliação	-	-	-
	Inoculação	-	-	-
	Avaliação × Inoculação	-	-	-

**Para o genótipo G106, não foi observada variação na característica sobrevivência ao longo das avaliações, impossibilitando a estimativa de variância e a realização de comparações inferenciais.

Todos os grupos apresentaram 100% de sobrevivência nas avaliações iniciais, anteriores à imposição do estresse hídrico, independentemente da inoculação bacteriana (Figura 11 A, E). Durante o período de restrição hídrica, a sobrevivência manteve-se elevada na maioria dos grupos, não sendo observadas reduções imediatas expressivas.

No grupo G13 (Figura 11 A), a sobrevivência permaneceu próxima a 100% até as avaliações posteriores ao estresse. Entretanto, nas últimas avaliações observou-se redução nos percentuais, com maior variabilidade no tratamento sem inoculação. As plantas inoculadas apresentaram valores ligeiramente superiores nas avaliações finais, embora com sobreposição das barras de erro.

Para o grupo G14 (Figura 11B), a sobrevivência manteve-se estável e só a partir das avaliações posterior ao estresse hídrico, observou-se redução nos percentuais em ambos os tratamentos. O tratamento com inoculação apresentou queda mais precoce em relação ao não inoculado, porém com ampla variabilidade entre as repetições, evidenciada pela amplitude das barras de erro.

No grupo G30 (Figura 11C), a sobrevivência manteve-se em 100% até o término do período de estresse hídrico. Após essa fase, verificou-se redução mais acentuada no tratamento sem inoculação, enquanto as plantas inoculadas mantiveram percentuais de sobrevivência relativamente superiores nas avaliações finais, apesar da sobreposição dos intervalos de variação. O grupo G104 (Figura 11D) apresentou 100% de sobrevivência ao longo da maior parte do experimento, independentemente do tratamento. Apenas nas últimas avaliações observou-se aumento da variabilidade, sem diferenças evidentes entre plantas inoculadas e não inoculadas.

Para G106 (Figura 11E), a sobrevivência manteve-se em 100% durante todas as avaliações, não sendo observadas reduções ou variações associadas ao estresse hídrico ou ao tratamento com inoculação bacteriana.

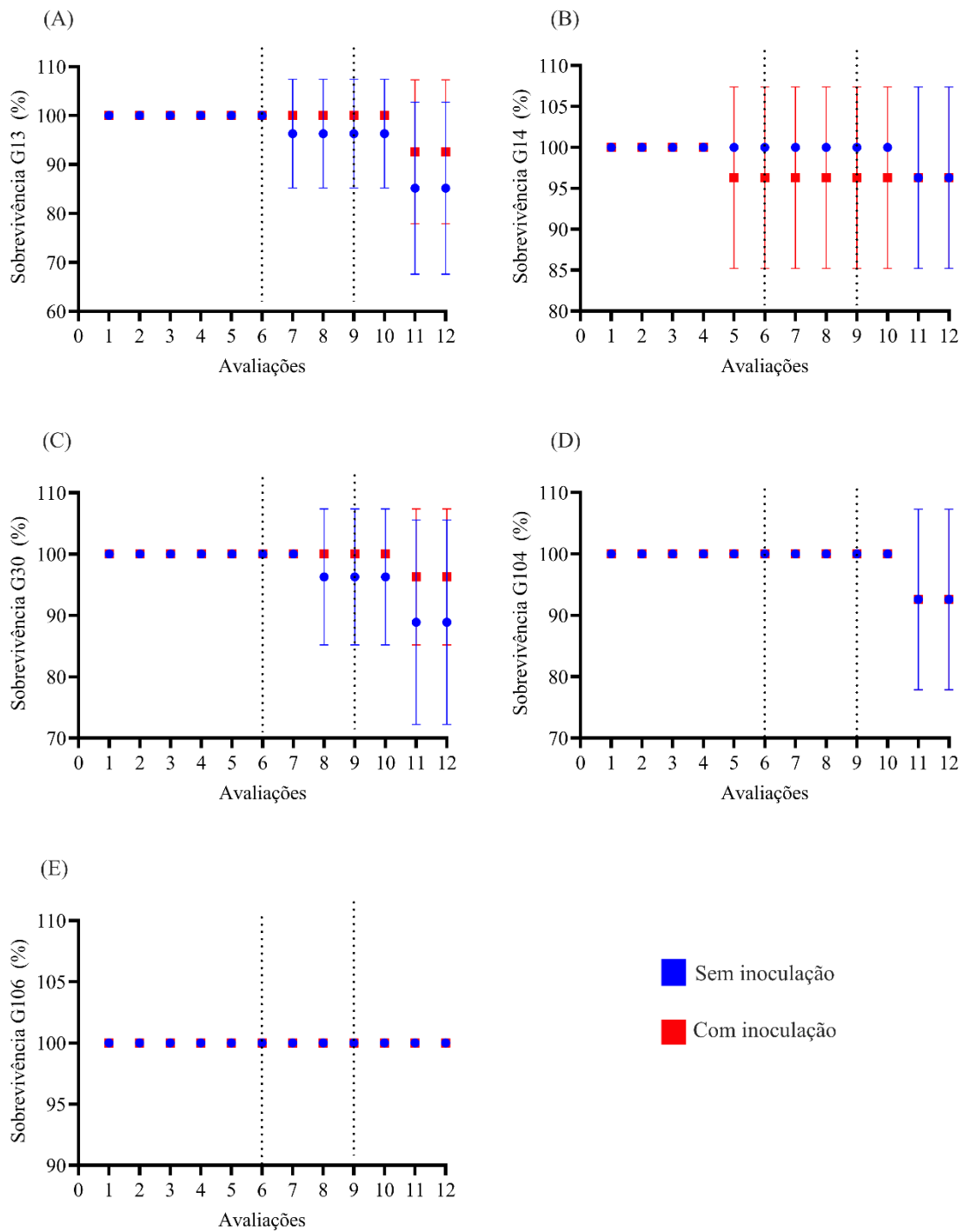


Figura 11 - Sobrevivência (%) ao longo das doze avaliações para os genótipos de *Eucalyptus* sem e com inoculação com *Bacillus aryabhattai*, sob condições de estresse hídrico. Pontos azuis representam plantas não inoculadas (controle) e pontos vermelhos representam plantas inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). As barras de erro indicam o erro padrão da média. As linhas verticais pontilhadas indicam o início do período de estresse hídrico.

4.6 Avaliação dos efeitos da inoculação, genótipo e interação entre os caracteres avaliados

Para o caractere altura, não foi observada interação genótipo x tratamento, nem efeito significativo do tratamento. No entanto, houve efeito significativo de genótipo, com uma variação de 91,42% ($p < 0,0001$). Resultados semelhantes foram observados para o diâmetro com uma variação de 35,19% e o número de folhas com 49 %, indicando influência significativa do fator genótipo sobre esses caracteres (Tabela 11). O índice SPAD, que estima indiretamente a clorofila nas plantas, também apresentou variação genotípica significativa de 14,36% ($p = 0,0142$). Por outro lado, não foram detectadas diferenças significativas para área foliar, temperatura foliar e sobrevivência das plantas.

Tabela 10. P-valor da ANOVA avaliando o efeito da inoculação, genótipo e a interação entre Inoculação e o genótipo para Altura, Diâmetro do Coleto, Número de Folhas, Área Foliar, SPAD, Temperatura Foliar e Sobrevivência. Valores estatisticamente significativos ($p < 0,05$) estão em negrito.

Caracteres	Fonte de variação	% da variação total	P-valor
Altura	Inoculação × Genótipos	0,5664	0,2370
	Inoculação	0,1128	0,2918
	Genótipos	91,42	<0,0001
Diâmetro do coleto	Inoculação × Genótipos	3,203	0,3866
	Inoculação	0,6318	0,3653
	Genótipos	35,19	<0,0001
Número de folhas	Inoculação × Genótipos	1,179	0,7515
	Inoculação	0,5317	0,3557
	Genótipos	49,00	<0,0001
Área foliar	Inoculação × Genótipos	3,608	0,8426
	Inoculação	0,00042	0,9898
	Genótipos	18,84	0,1505
SPAD	Inoculação × Genótipos	0,2288	0,9946
	Inoculação	0,2171	0,6549
	Genótipos	14,36	0,0142
Temperatura foliar	Inoculação × Genótipos	1,672	0,8487

	Inoculação	0,6946	0,4531
	Genótipos	1,085	0,9254
Sobrevivência	Inoculação × Genótipos	5,405	0,3045
	Inoculação	3,041	0,1000
	Genótipos	3,716	0,5001

Para os caracteres avaliados na Figura 12, observou-se que o genótipo G30 apresentou desempenho superior aos demais em altura e número de folhas (Figuras 12 A e 12 C), com médias de 80,94 cm e 56,88 folhas por planta, respectivamente. O G30 diferiu estatisticamente dos genótipos G14 (76,62 cm; 29,44 folhas por planta), G104 (53,30 cm; 41,44 folhas por planta) e G106 (53,93 cm; 37,55 folhas por planta) para ambos os caracteres. Quanto ao diâmetro (Figura 12B), o G30 diferiu significativamente de G13, G104 e G106, mas não apresentou diferença estatística em relação ao G14, assumindo a média de 9,60 mm. Em contraste, para o índice SPAD (Figura 12D), o G30 apresentou valor médio inferior de 23,02 em comparação ao G106, não diferindo estatisticamente dos demais genótipos avaliados.

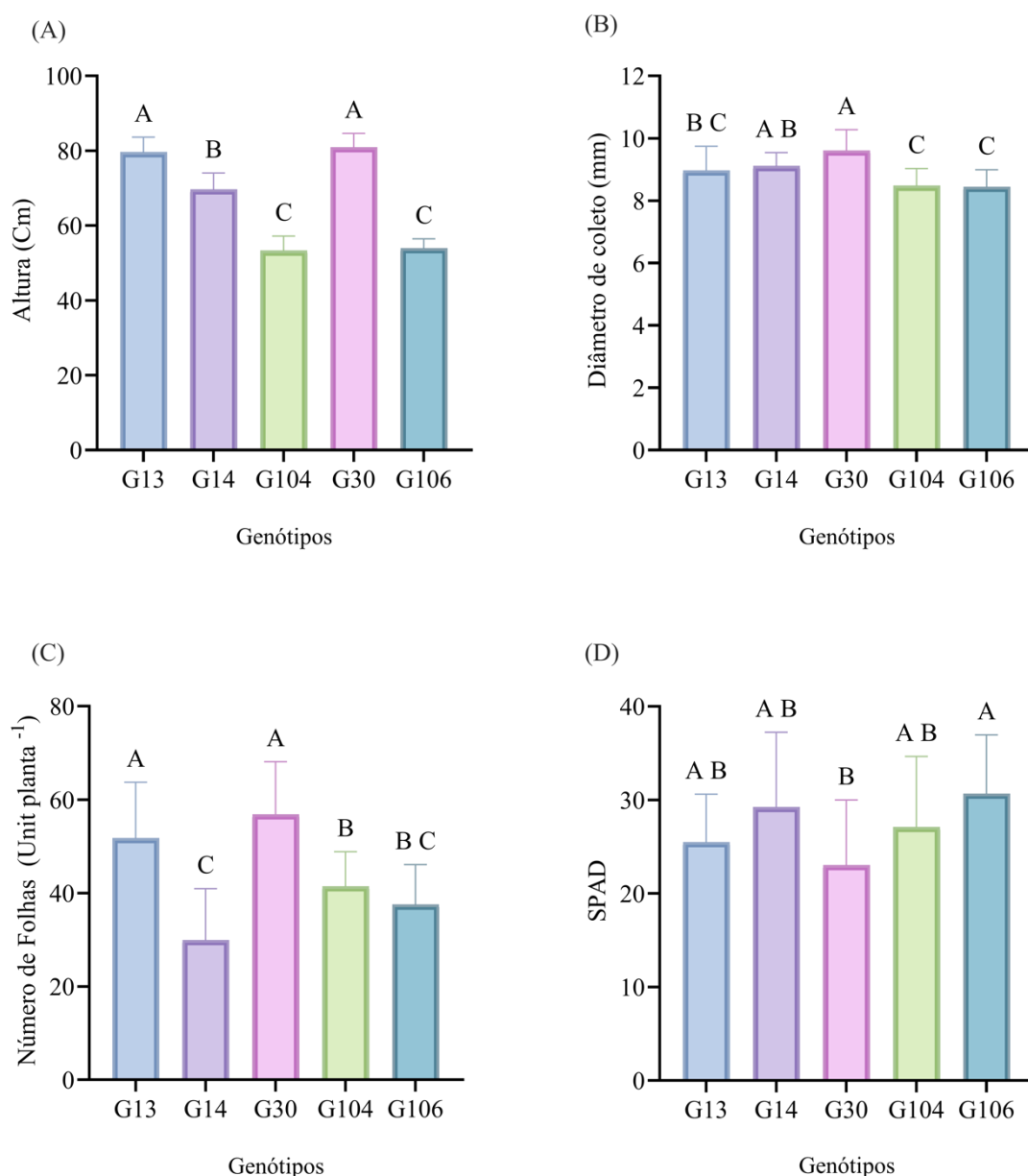


Figura 12 - Características de crescimento dos genótipos de *Eucalyptus* G13, G14, G30, G104 e G106: (A) altura de plantas (cm), (B) diâmetro do coleto (mm), (C) número de folhas (unidade planta⁻¹) e (D) índice SPAD. As barras representam médias $\pm$ erro padrão. Letras distintas indicam diferença significativa entre genótipos para cada variável, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

4.7 Acúmulo de biomassa: massa fresca e seca de folhas, caule, raízes e total

O genótipo foi o principal fator responsável pela variação na produção de biomassa, apresentando efeito significativo para os caracteres avaliados ($p < 0,05$) e explicando uma elevada proporção da variação total observada (Tabela 12). Para a massa fresca de folhas, o genótipo apresentou 25,74% da variação ($p = 0,0013$), enquanto o efeito da inoculação foi marginalmente significativo ($p = 0,0573$) e a interação entre inoculação e genótipo não foi significativa. Resultado semelhante foi observado para a massa fresca do caule, na qual o

genótipo respondeu por 42,81% da variação ($p < 0,0001$), enquanto a inoculação apresentou efeito marginal e a interação não foi significativa.

Por outro lado, para a massa fresca de raízes, além do efeito significativo do genótipo (44,54%; $p < 0,0001$), foi observada interação significativa entre inoculação e genótipo (10,70%; $p = 0,0231$), indicando que os genótipos responderam de forma diferenciada à inoculação. Na massa fresca total, tanto a inoculação quanto o genótipo apresentaram efeitos significativos (54,48% e 20,13% da variação, respectivamente; $p < 0,0001$), sem interação significativa entre os fatores.

Para a massa seca de folhas, verificou-se efeito significativo tanto do genótipo (30,49%; $p = 0,0002$) quanto da inoculação (6,77%; $p = 0,0164$), enquanto a interação não foi significativa. Na massa seca do caule, o genótipo foi novamente o principal fator explicativo, respondendo por 53,46% da variação total ($p < 0,0001$), sem efeito significativo da inoculação ou da interação. Em relação à massa seca de raízes, observou-se efeito significativo do genótipo (42,75%; $p < 0,0001$) e da interação entre inoculação e genótipo (20,96%; $p = 0,0003$), evidenciando respostas específicas dos genótipos à inoculação. Por fim, para a massa seca total, apenas o genótipo apresentou efeito significativo (49,89%; $p < 0,0001$), enquanto a inoculação e a interação não influenciaram significativamente em relação a massa seca total.

Tabela 11. P-valor da ANOVA avaliando o efeito da inoculação, genótipo e a interação entre Inoculação e o genótipo para massa fresca da folha, caule raiz e total, e massa seca de folha, caule, raiz e total. Valores estatisticamente significativos ($p < 0,05$) estão em negrito.

Caracteres	Fonte de variação	% da variação total	P-valor
Massa fresca folha	Inoculação × Genótipos	8,728	0,1454
	Inoculação	4,614	0,0573
	Genótipos	25,74	0,0013
Massa fresca caule	Inoculação × Genótipos	2,232	0,7017
	Inoculação	4,003	0,0530
	Genótipos	42,81	<0,0001
Massa fresca raiz	Inoculação × Genótipos	10,70	0,0231
	Inoculação	1,774	0,1571
	Genótipos	44,54	<0,0001
Massa fresca total	Inoculação × Genótipos	2,889	0,1877
	Inoculação	54,48	<0,0001
	Genótipos	20,13	<0,0001

	Inoculação × Genótipos	7,797	0,1488
Massa seca folha	Inoculação	6,774	0,0164
	Genótipos	30,49	0,0002
	Inoculação × Genótipos	8,783	0,0683
Massa seca caule	Inoculação	0,7590	0,3704
	Genótipos	53,46	<0,0001
	Inoculação × Genótipos	20,96	0,0003
Massa seca raiz	Inoculação	1,294	0,2059
	Genótipos	42,75	<0,0001
	Inoculação × Genótipos	6,281	0,2239
Massa seca total	Inoculação	1,623	0,2221
	Genótipos	49,89	<0,0001

Na Figura 13A é observado que a massa fresca de raízes foi influenciada de forma significativa pelo genótipo, com destaque para o genótipo 30, que diferiu estatisticamente e apresentou os respectivos valores de 273,16 g/planta para o controle e 328,26 g/planta no tratamento com inoculação. Entretanto, para o genótipo 14, é observado uma redução na quantidade de biomassa fresca assumindo os respectivos valores médios de 228 g/planta para o controle e 171,38 para o tratamento com a *B. aryabhattai*. Para os demais genótipos não houve diferenças significativas, mas é possível observar uma redução na quantidade de massa fresca entre o tratamento sem inoculação e com inoculação da *Bacillus aryabhattai*, respectivamente G13 (218,96 g/planta; 180,31 g/planta), G104 (199,73 g/planta; 193,85 g/planta), G106 (228,48 g/planta; 195,03 g/planta). Ao observado para a massa fresca, o genótipo G30 manteve incremento na massa seca da raiz quando inoculado com *Bacillus aryabhattai*, apresentando médias de 47,36 g/planta (sem inoculação) e 60,69 g/planta (com inoculação). Em contrapartida, os genótipos G13 e G14 apresentaram redução nos valores de massa seca da raiz sob inoculação. Para o G13, as médias foram de 46,38 g/planta (sem inoculação) e 38,00 g/planta (com inoculação); já para o G14, os valores foram de 40,86 g/planta (sem inoculação) e 32,79 g/planta (com inoculação). Os genótipos G104 e G106 não apresentaram diferenças

significativas entre os tratamentos (Figura13B).

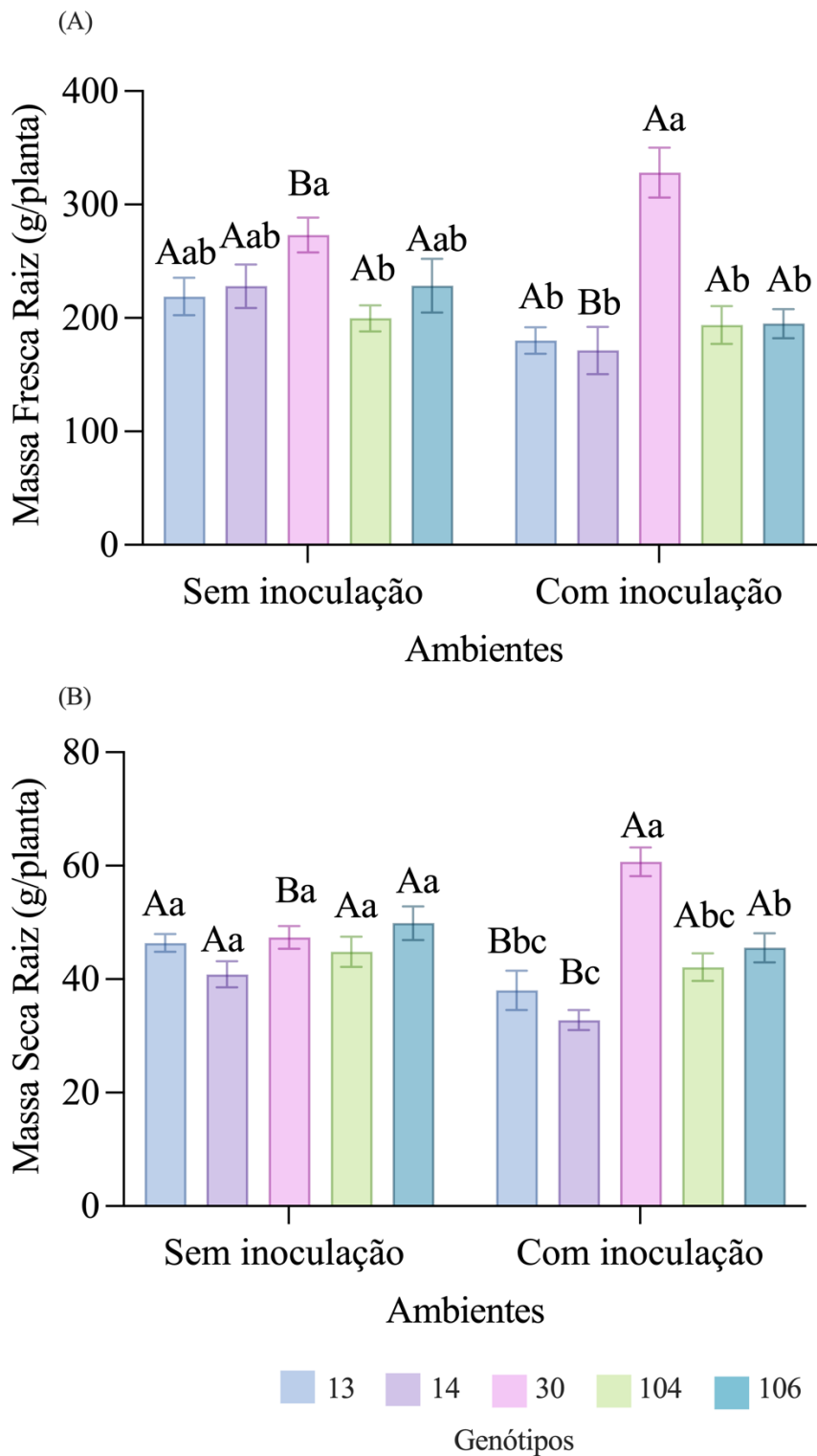


Figura 13 - Massa fresca de raízes (A) e massa seca de raízes (B) de cinco genótipos de *Eucalyptus* submetidos aos tratamentos sem inoculação e com inoculação com *Bacillus aryabhattai*. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inoculação para um mesmo genótipo, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos dentro de um mesmo tratamento de inoculação (teste de Tukey, $p < 0,05$).

A massa fresca total das folhas apresentou maiores valores nas plantas não inoculadas (361,72 g planta) em comparação às plantas inoculadas (213,77 g planta), evidenciando efeito negativo da inoculação sobre o acúmulo de biomassa fresca total nas condições avaliadas (Figura 14 A). De forma semelhante, a massa seca das folhas apresentou menor valor nas plantas inoculadas com *Bacillus aryabhattai* (20,22 g), em comparação às não inoculadas (23,07 g), indicando menor acúmulo de biomassa foliar no tratamento inoculado (Figura 14 B).

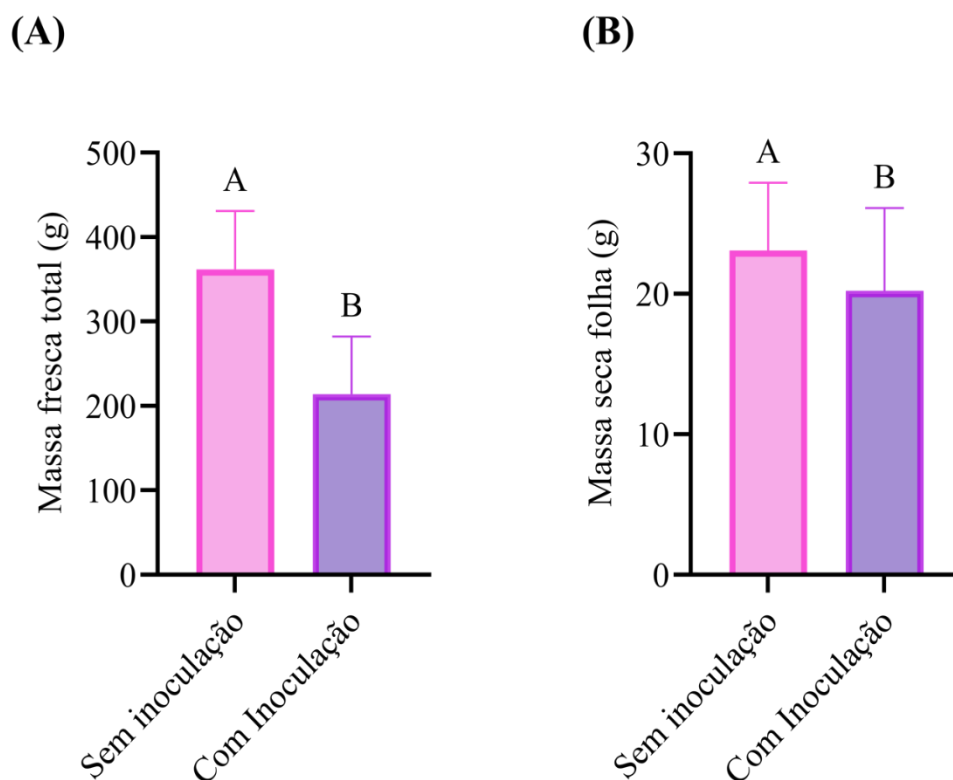


Figura 14 - Massa fresca total (A) e massa seca total (B) de folhas de genótipos de *Eucalyptus* submetidos aos tratamentos sem inoculação e com inoculação com *Bacillus aryabhattai*, sob condição de estresse hídrico. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

A biomassa foi significativamente influenciada pelo genótipo em todas as frações avaliadas, tanto para massa fresca quanto para massa seca (Figura 15). De maneira consistente, o genótipo G30 apresentou acúmulo consistente de biomassa foliar, caulinar e total (Figura 15 A, B, C, D, E, F).

Para a massa fresca das folhas (Figura 15 A), G30 apresentou valores aproximadamente 30% superiores aos genótipos de menor desempenho. Esse padrão foi mantido na massa seca foliar (Figura 15 B), indicando que a superioridade de G30 não se restringe ao conteúdo hídrico, mas reflete maior deposição estrutural de biomassa. Situação semelhante foi observada para a fração caulinar (Figuras 15 C, D), em que G30 novamente apresentou os maiores valores,

especialmente na massa seca, diferindo dos genótipos G14, G104 e G106. A massa total (Figuras 15 E, F) reforça esse padrão, com G30 mantendo superioridade tanto em termos de biomassa acumulada quanto na consistência entre massa fresca e seca.

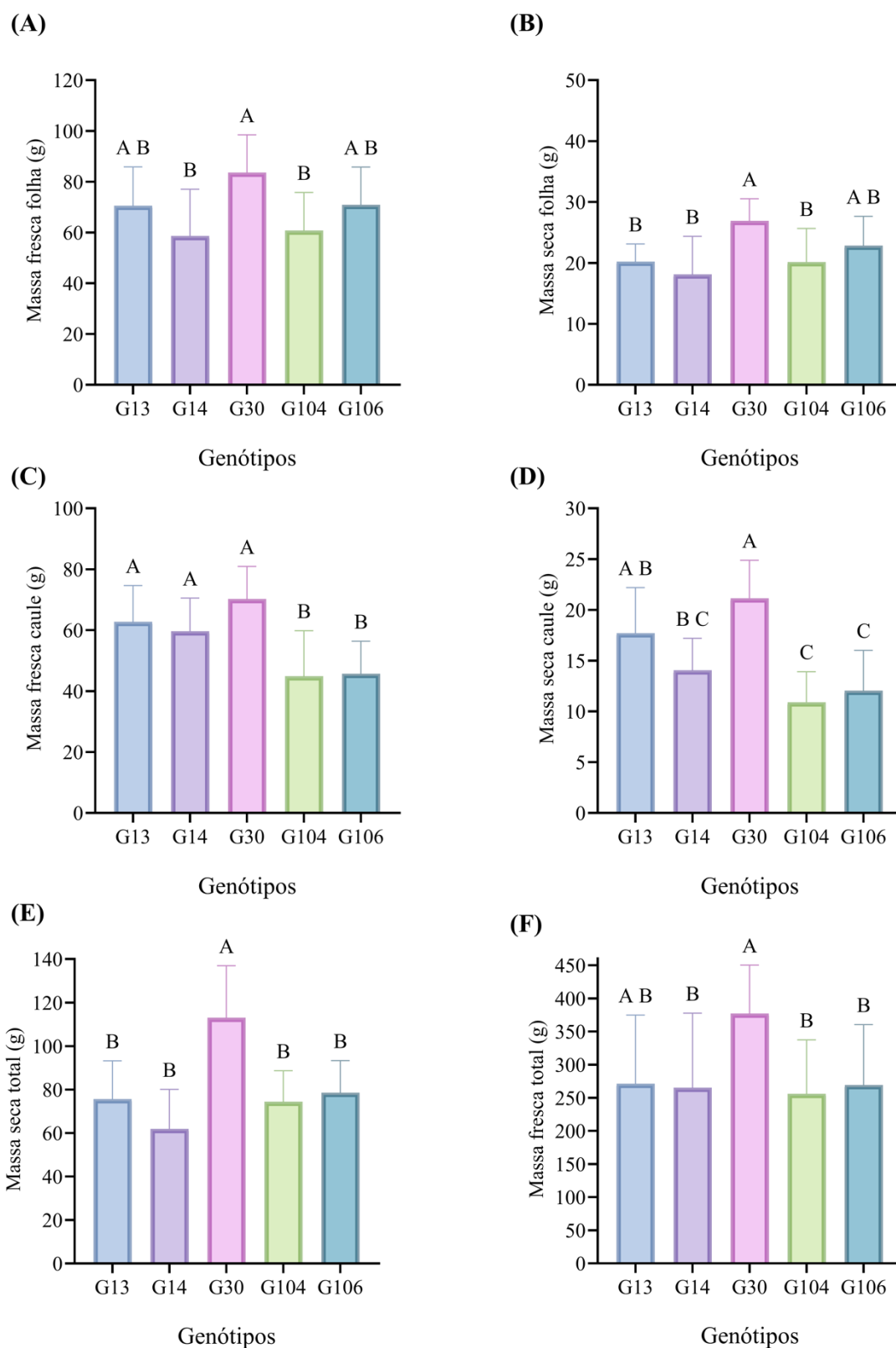


Figura 15 - Massa fresca (A, C), massa seca (B, D) e massa total (E, F) de folhas e caule de cinco genótipos de *Eucalyptus* submetidos aos tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhatai*. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os genótipos, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.8 Influência da inoculação com *Bacillus aryabhattai* na absorção e acúmulo de nutrientes

Para o nitrogênio foliar, a maior proporção da variação foi explicada pelos genótipos (43,18%; $p = 0,0015$), seguida pela interação Inoculação x Genótipos (20,78%; $p = 0,0368$), enquanto o efeito isolado da inoculação não foi significativo (3,04%; $p = 0,1896$) (Tabela 13). Contudo, o nitrogênio na raiz, observa-se efeito significativo da interação Inoculação x Genótipos (35,18%; $p = 0,0056$) e da inoculação (22,74%; $p = 0,0017$), enquanto o efeito dos genótipos não foi significativo (7,27%; $p = 0,4089$), indicando forte influência da inoculação bacteriana na absorção radicular de nitrogênio (Tabela 13).

Quanto ao fósforo foliar, foram observados efeitos significativos da interação Inoculação x Genótipos (29,62%; $p = 0,0259$) e dos genótipos (27,78%; $p = 0,0325$), sem efeito significativo do fator inoculação isoladamente (0,05%; $p = 0,8737$). Em contraste, o fósforo na raiz apresentou efeitos significativos da interação (34,84%; $p = 0,0078$) e da inoculação (19,17%; $p = 0,0044$), sem efeito do fator genótipos (8,84%; $p = 0,3456$) (Tabela 13).

Para o potássio foliar, apenas o efeito dos genótipos foi significativo, explicando 32,49% da variação total ($p = 0,0295$), enquanto a interação (19,09%; $p = 0,1377$) e a inoculação (0,02%; $p = 0,9295$) não foram significativas. Para o potássio na raiz, não foram observados efeitos significativos da interação, da inoculação ou dos genótipos ($p > 0,05$), embora tenha sido observada tendência de efeito da inoculação (11,11%; $p = 0,0775$) (Tabela 13).

Tabela 12. P-valor da ANOVA avaliando o efeito da inoculação, genótipo e a interação entre Inoculação e o genótipo para os nutrientes: N folha, N raiz, P folha, P raiz, K folha, K raiz. Valores estatisticamente significativos ($p < 0,05$) estão em negrito.

Caracteres	Fonte de variação	% da variação total	P-valor
N folha	Inoculação × Genótipos	20,78	0,0368
	Inoculação	3,042	0,1896
	Genótipos	43,18	0,0015
N raiz	Inoculação × Genótipos	35,18	0,0056
	Inoculação	22,74	0,0017
	Genótipos	7,275	0,4089
P folha	Inoculação × Genótipos	29,62	0,0259
	Inoculação	0,05519	0,8737
	Genótipos	27,78	0,0325
P raiz	Inoculação × Genótipos	34,84	0,0078

	Inoculação	19,17	0,0044
	Genótipos	8,839	0,3456
	Inoculação × Genótipos	19,09	0,1377
K folha	Inoculação	0,01940	0,9295
	Genótipos	32,49	0,0295
	Inoculação × Genótipos	18,16	0,2651
K raiz	Inoculação	11,11	0,0775
	Genótipos	6,575	0,7273
	Inoculação × Genótipos		

O genótipo 106 foi o único a reduzir de forma significativamente o teor de nitrogênio foliar com a inoculação com *Bacillus aryabhattai*, em que as médias foram de 23,24 g/kg no tratamento controle enquanto o inoculado reduziu para 11,72 g/kg (Figura 16 A). A concentração de nitrogênio na raiz foi significativamente aumentada pela inoculação com *Bacillus aryabhattai* nos genótipos G13 e G30 (Figura 16 B). O incremento observado em G13 e G30 ultrapassou 100% em relação ao controle não inoculado com valor de 4,14 g/kg, já o inoculado com média de 11,37 g/kg, evidenciando forte modulação genótipo-dependente da resposta nutricional à inoculação.

Em relação ao fósforo nas folhas, no tratamento sem inoculação, os genótipos G13 e G104 apresentaram os maiores teores de P foliar, apresentando as seguintes médias respectivamente 3,77 g/kg e 3,48 g/kg; não diferindo estatisticamente entre si, enquanto G30 apresentou valor significativamente inferior ao genótipo G13. Contudo, no tratamento com inoculação bacteriana, verificou-se alteração no padrão de resposta entre os genótipos (Figura 16 C). O G13 apresentou redução no teor foliar de P de 2,27 g/kg, passando a integrar o grupo de menor acúmulo. Em contrapartida, o G30 apresentou incremento no teor foliar sob inoculação de 3,08 g/kg, deixando de compor o grupo de menor resposta observado na ausência de inoculação (Figura 16 C).

A inoculação com *Bacillus aryabhattai* promoveu aumento significativo na concentração de fósforo radicular no genótipo G106 que foi de 2,93 g/kg no sem inoculação e 5,23 g/kg inoculado com a *B. aryabhattai* (Figura 16 D), com incremento aproximado de 40% em relação ao controle. Esse aumento alterou a posição estatística do genótipo entre os tratamentos, evidenciando resposta nutricional positiva a *Bacillus aryabhattai* dependente do material genético.

Para o potássio K é possível observar que o G13 e G14 diferiram dos demais genótipos com médias de 26,40 g/kg e 26,24 g/kg respectivamente, apresentando valores inferiores ao G30, G104 e G106 que obtiveram médias de 31,08 g/kg, 31,41 g/kg, 32,69 g/kg.

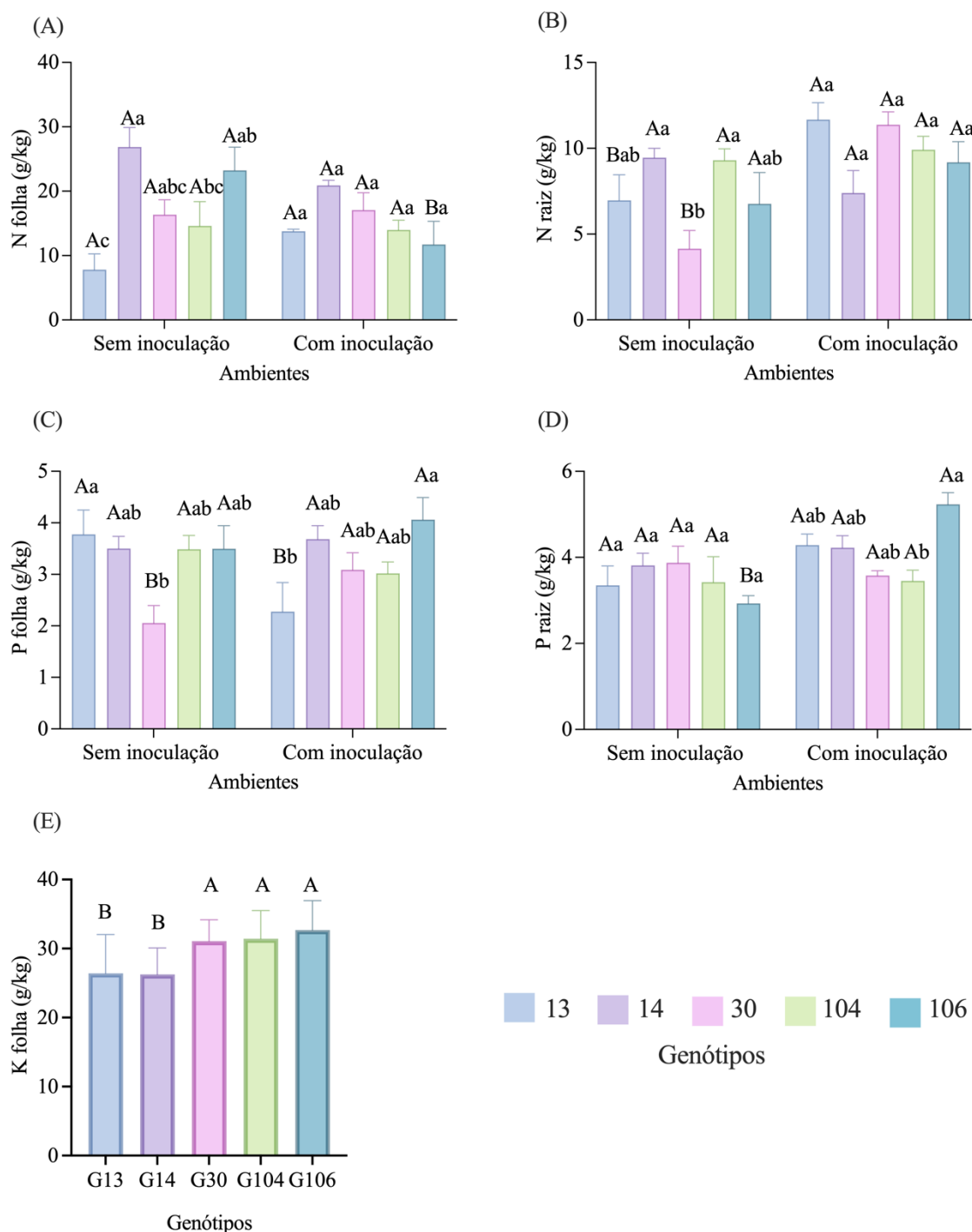


Figura 16 -Nitrogênio (N) das folhas e raízes (A, B), Fósforo (P) em folhas e raízes (C, D) e Potássio nas folhas (E) de cinco genótipos de Eucalyptus submetidos aos tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inoculação para um mesmo genótipo nas figuras A, B, C, e D, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos dentro de um mesmo

tratamento de inoculação (teste de Tukey, $p < 0,05$). Na figura E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os genótipos, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.9 Modulação do metabolismo antioxidante e osmoprotetores em resposta à inoculação bacteriana

Pode-se observar na Tabela 14 que a análise de variância revelou efeito significativo da inoculação, dos genótipos e da interação Inoculação x Genótipos para diversos caracteres fisiológicas e bioquímicas. Para o teor de prolina, foram observados efeitos significativos da interação Inoculação x Genótipos ($F = 35,48$; $p < 0,0001$), da inoculação ($F = 20,51$; $p < 0,0001$) e dos genótipos ($F = 27,76$; $p = 0,0003$), indicando que o acúmulo desse osmólito foi influenciado tanto pela inoculação bacteriana quanto pelas diferenças genéticas entre clones.

Quanto a glicose na folha, houve efeito significativo da inoculação ($F = 20,78$; $p = 0,0058$) e dos genótipos ($F = 27,55$; $p = 0,0361$), sem interação significativa, sugerindo que a inoculação afetou o teor de glicose foliar de forma consistente entre os genótipos. Em contraste, a glicose na raiz apresentou efeitos altamente significativos da interação inoculação x genótipos ($F = 32,48$; $p < 0,0001$), da inoculação ($F = 19,43$; $p < 0,0001$) e dos genótipos ($F = 37,18$; $p < 0,0001$), evidenciando resposta diferencial dos clones à inoculação bacteriana.

Para os pigmentos fotossintéticos, a clorofila *a* apresentou efeito significativo apenas dos genótipos ($F = 30,80$; $p = 0,0068$), enquanto a clorofila *b* e a clorofila total apresentaram efeitos significativos da interação inoculação x genótipos ($F = 22,58$; $p = 0,0131$; $F = 21,62$; $p = 0,0082$, respectivamente) e dos genótipos ($F = 30,55$; $p = 0,0029$; $F = 39,61$; $p = 0,0002$, respectivamente), sem efeito isolado da inoculação. Para os carotenoides, observou-se efeito significativo dos genótipos ($F = 32,85$; $p = 0,0025$), com tendência de efeito da inoculação ($p = 0,0523$) e da interação ($p = 0,0895$).

Quanto ao sistema antioxidante, a atividade da ascorbato peroxidase (APX) apresentou efeitos altamente significativos da interação inoculação x genótipos ($F = 12,50$; $p < 0,0001$), da inoculação ($F = 13,41$; $p < 0,0001$) e dos genótipos ($F = 66,87$; $p < 0,0001$). A vitamina C apresentou efeito significativo da inoculação ($F = 12,63$; $p = 0,0051$) e dos genótipos ($F = 21,94$; $p = 0,0101$), sem interação significativa. A catalase apresentou efeito significativo da interação ($F = 8,56$; $p = 0,0455$), da inoculação ($F = 7,21$; $p = 0,0047$) e dos genótipos ($F = 61,01$; $p < 0,0001$). Esses resultados indicam que a inoculação com *Bacillus aryabhattai* influenciou

significativamente o metabolismo osmótico, energético e antioxidante das plantas, com respostas dependentes do genótipo.

Tabela 13. P-valor da ANOVA avaliando o efeito da inoculação com *Bacillus aryabhattai*, genótipo e a interação entre inoculação e o genótipo para prolina, açúcares (GLU), clorofilas *a*, *b* e total, carotenoides, vitamina C, Ascorbato Peroxidase (APX), Catalase. Valores estatisticamente significativos ($p < 0,05$) estão em negrito.

Caracteres	Fonte de variação	% da variação total	P-valor
Prolina	Inoculação × Genótipos	35,48	<0,0001
	Inoculação	20,51	<0,0001
	Genótipos	27,76	0,0003
GLU folha	Inoculação × Genótipos	8,166	0,4619
	Inoculação	20,78	0,0058
	Genótipos	27,55	0,0361
GLU raiz	Inoculação × Genótipos	32,48	<0,0001
	Inoculação	19,43	<0,0001
	Genótipos	37,18	<0,0001
Clorofila a	Inoculação × Genótipos	15,89	0,0881
	Inoculação	0,1659	0,7617
	Genótipos	30,80	0,0068
Clorofila b	Inoculação × Genótipos	22,58	0,0131
	Inoculação	2,150	0,2391
	Genótipos	30,55	0,0029
Clorofila total	Inoculação × Genótipos	21,62	0,0082
	Inoculação	0,05444	0,8387
	Genótipos	39,61	0,0002
Carotenoídes	Inoculação × Genótipos	13,93	0,0895
	Inoculação	6,376	0,0523
	Genótipos	32,85	0,0025
APX	Inoculação × Genótipos	12,50	<0,0001
	Inoculação	13,41	<0,0001

	Genótipos	66,87	<0,0001
	Inoculação × Genótipos	7,993	0,2542
Vitamina C	Inoculação	12,63	0,0051
	Genótipos	21,94	0,0101
Catalase	Inoculação × Genótipos	8,560	0,0455
	Inoculação	7,212	0,0047
	Genótipos	61,01	<0,0001

O acúmulo de prolina foi modulada pela inoculação de forma genótipo-dependente (Figura 17 A). Na condição não inoculada, os clones G30 e G106 apresentaram concentrações significativamente superiores às dos demais genótipos. Contudo, a inoculação com *Bacillus aryabhatai* promoveu redução expressiva nos teores de prolina desses mesmos clones, eliminando as diferenças estatísticas previamente observadas.

Para os açúcares solúveis totais (Figura 17 B), observou-se resposta dependente do genótipo à inoculação. No tratamento controle, G13 e G104 apresentam média superior aos genótipos G30 e G106. A inoculação resultou em redução significativa nos teores de açúcares em G13 e G30, enquanto G14 apresentou aumento expressivo em relação ao seu respectivo controle, diferindo também dos demais genótipos sob inoculação com *Bacillus aryabhatai*.

A concentração de clorofila b e clorofila total não foi significativamente afetada pela inoculação com *Bacillus aryabhatai* para a maioria dos genótipos (Figuras 17 C, D). Apenas G104 apresentou redução significativa desses pigmentos sob inoculação. De modo geral, a ausência de efeito da inoculação para os demais genótipos sugere influência limitada desse fator sobre os pigmentos fotossintéticos nas condições avaliadas.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) apresentou interação significativa entre genótipo e inoculação (Figura 17 E), indicando resposta diferencial entre os materiais genéticos. A inoculação promoveu aumento significativo da atividade enzimática em G30, G104 e G106, com incremento aproximado de 50% em relação aos respectivos controles. Por outro lado, G13 e G14 não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhatai*.

Quanto à atividade da Catalase (Figura 17 F), os genótipos G13 e G106 diferiram significativamente entre os tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhatai*, com valores superiores no tratamento inoculado em relação ao controle. Os demais genótipos mantiveram resposta estatisticamente semelhante entre os tratamentos com e sem inoculação.

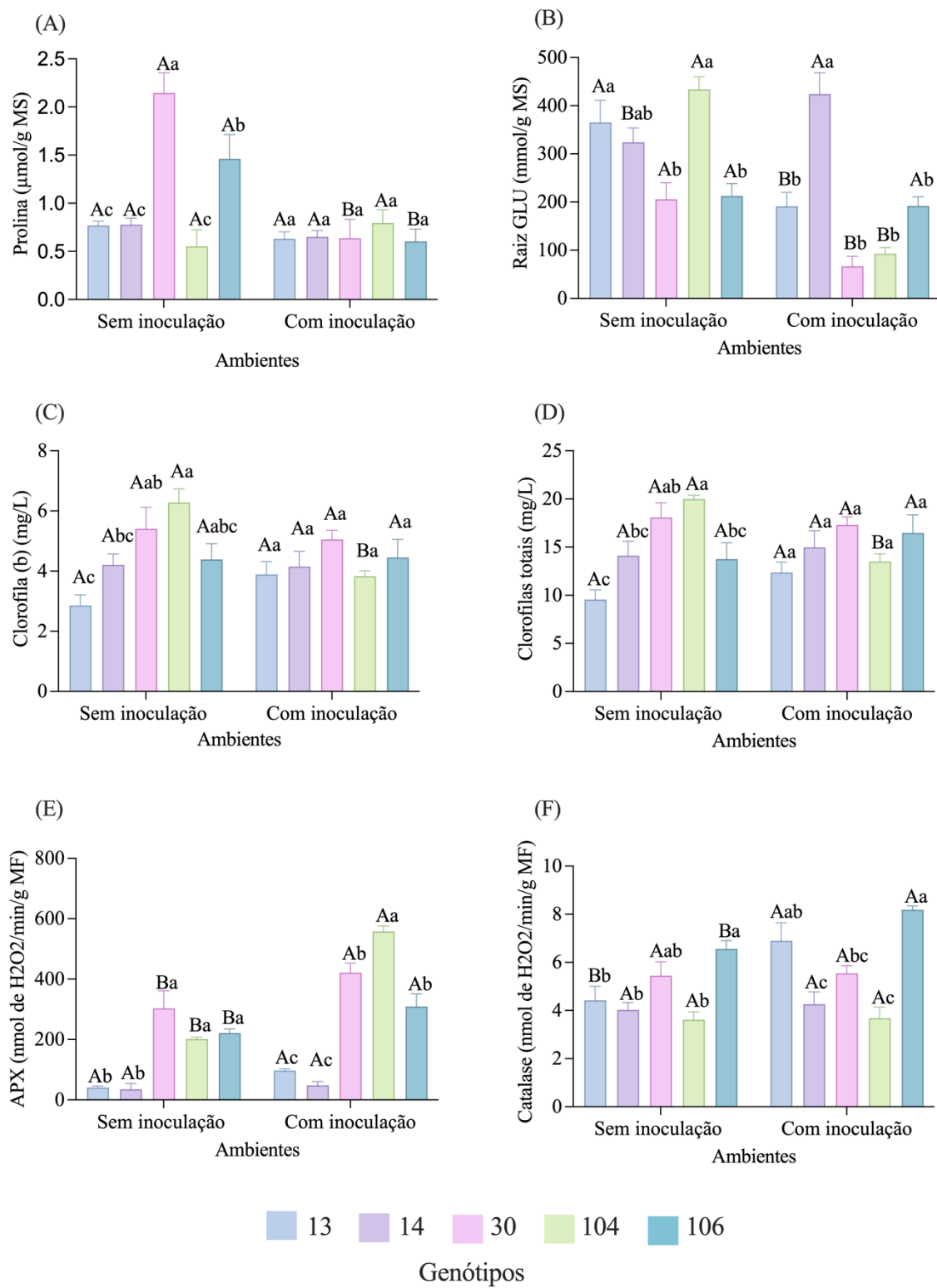


Figura 17 - Teores de prolina (A), açúcares solúveis na raiz – GLU (B), clorofila b (C), clorofilas totais (D), atividade da ascorbato peroxidase (APX) (E), e Catalase (F) em cinco genótipos de *Eucalyptus* submetidos aos tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*. As barras representam médias $\pm$ erro padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inoculação para um mesmo

genótipo nas figuras A, B, C, e D, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos dentro de um mesmo tratamento de inoculação (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Na Figura 18 observa-se que os teores de açúcares solúveis totais nas folhas e de vitamina C diferiram estatisticamente entre os tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*. A concentração de açúcares foi superior no tratamento com inoculação, evidenciando, de modo geral, uma resposta metabólica das plantas às condições às quais foram submetidas (Figura 18 A). Por outro lado, o teor de vitamina C foi superior no tratamento sem inoculação (Figura 18 B).

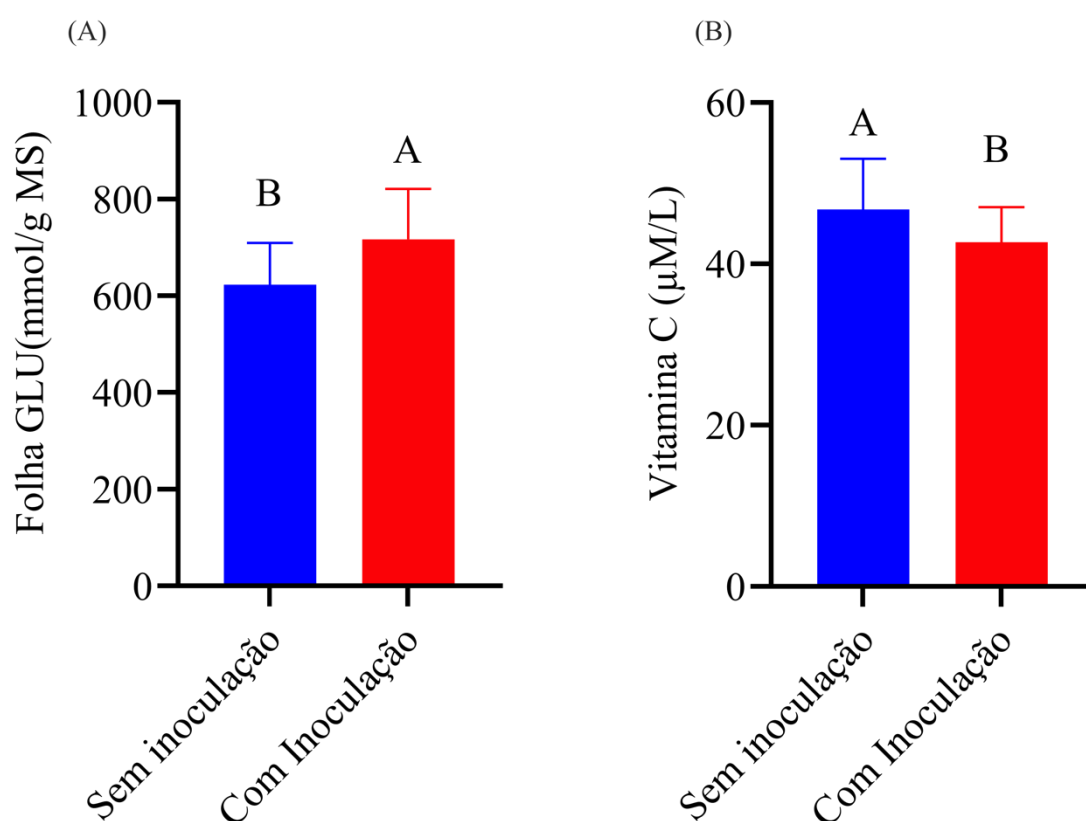


Figura 18 - Teores de açúcares solúveis totais na folha (GLU) (A) e vitamina C (B) em cinco genótipos de *Eucalyptus* submetidos aos tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*. As barras representam médias $\pm$ erro padrão. Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

Na Figura 19A, observa-se diferença significativa nos teores de açúcares solúveis totais entre os genótipos. G30 (708 mmol MS⁻¹) e G106 (753,86 mmol MS⁻¹) apresentaram valores superiores, diferindo estatisticamente de G13 (600,77 mmol MS⁻¹), G14 (634,20 mmol MS⁻¹) e G104 (652,80 mmol MS⁻¹).

Para a clorofila a os genótipos G30 e G104 diferiram estatisticamente apenas de G13, não sendo observadas diferenças significativas em relação aos demais genótipos (Figura 19 B).

Quanto aos carotenoides (Figura 19 C), verificou-se diferença significativa entre G30 e G104, enquanto os demais genótipos não apresentaram variações estatísticas entre si. Os genótipos G104 e G106 diferiram de G30 para o teor de vitamina C, porém não se distinguiram estatisticamente dos demais genótipos (Figura 19 D).

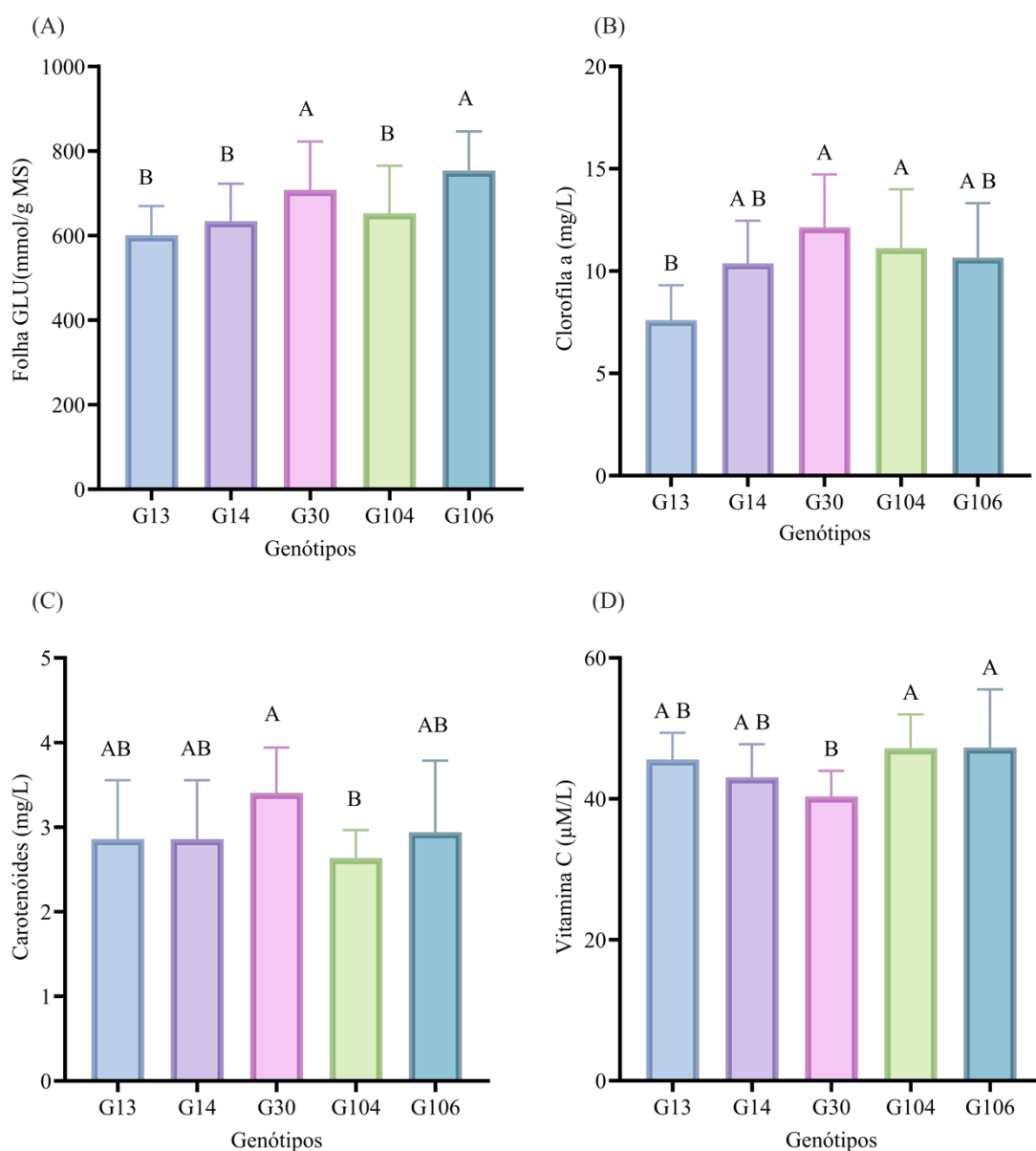


Figura 19 - Teores de açúcares solúveis totais na folha (GLU) (A), carotenoides (B), clorofila a (C) e vitamina C (D) nos genótipos G13, G14, G30, G104 e G106 de *Eucalyptus*. As barras representam médias $\pm$ erro padrão. Letras distintas indicam diferença significativa entre genótipos para cada variável, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

4.10 Colonização radicular por *Bacillus aryabhatai* em genótipos de *Eucalyptus*: Evidências por microscopia eletrônica de varredura nas raízes (MEV)

As micrografias eletrônicas de varredura evidenciaram diferenças na superfície radicular entre os tratamentos com e sem inoculação com *Bacillus aryabhatai* para os cinco genótipos de *Eucalyptus* avaliados (G13, G14, G30, G104 e G106). Nas raízes do tratamento controle (Figura 20 A, C, E, G e I), observou-se superfície radicular lisa, sem a presença de estruturas bacterianas aderidas. Em contraste, nas raízes do tratamento inoculado com *Bacillus aryabhatai* (Figura 20 B, D, F, H e J), foi possível visualizar células bacterianas aderidas à epiderme radicular, organizadas em agregados ou em estruturas compatíveis com a formação de biofilme, conforme indicado pelas micrografias, em todos os genótipos avaliados.

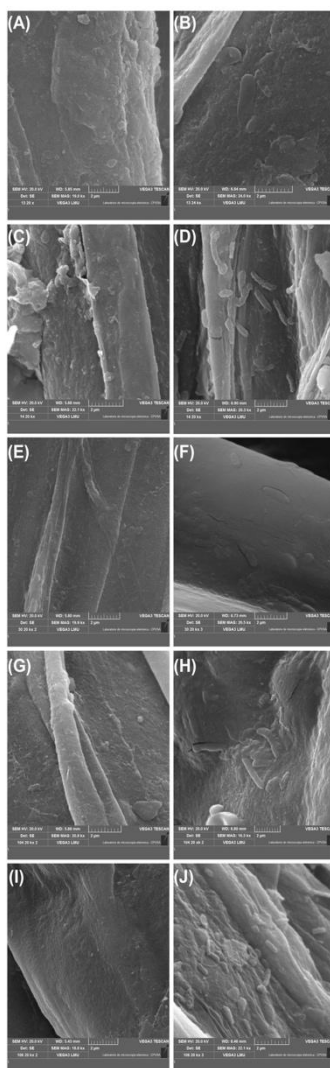


Figura 20 - Micrografias eletrônicas de varredura (MEV) evidenciando a colonização radicular de cinco genótipos de *Eucalyptus* por *Bacillus aryabhatai*, nos tratamentos Controle e Inoculado. Colunas: (A, C, E, G, I) Raízes do tratamento Controle (não inoculado) dos genótipos G13, G14, G30, 104 e 106, respectivamente, apresentando superfície radicular lisa e ausência de estruturas bacterianas aderidas. (B, D, F, H, J) Raízes do tratamento Inoculado com *B. aryabhatai* dos mesmos genótipos (G13, G14, G30, 104 e 106, respectivamente).

5. DISCUSSÃO

5.1 Dinâmica temporal e eficiência do enraizamento

A análise da dinâmica temporal do enraizamento, por meio de curvas de Kaplan–Meier e modelos de risco instantâneo ou taxa de risco (HR) permitiu avaliar não apenas o percentual final de enraizamento, como também a velocidade e a probabilidade de ocorrência do evento ao longo do tempo, fornecendo uma avaliação do efeito da inoculação com *B. aryabhattai* sobre miniestacas de *Eucalyptus*.

A antecipação do enraizamento entre os genótipos, 13, 14 e 30, ainda que não tenha ocorrido diferença estatística, indica que a bactéria atuou como bioestimulante do processo de rizogênese adventícia, com destaque para o genótipo 14. Tal efeito pode ter ocorrido possivelmente por meio da produção de fitormônios, como o ácido indolacético (AIA), além da solubilização de fósforo e produção de sideróforos, mecanismos amplamente relatados para rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (Vessey, 2003; Wang *et al.*, 2014).

Nwigwe *et al.* (2024), ao trabalharem com *E. grandis* × *E. nitens*, demonstraram que os híbridos GN 018B e GN 010 apresentaram diferenças genotípicas significativas ($p < 0,0001$) para todas as variáveis de crescimento avaliadas (comprimento total, radicular e da parte aérea), evidenciando que a resposta à inoculação é modulada pela base genética do material vegetal. Entretanto, os resultados do presente estudo revelaram que a capacidade de resposta à inoculação com *B. aryabhattai* variou entre os cinco genótipos avaliados. Enquanto os clones 14 e 104 apresentaram enraizamento mais significativo quando inoculados ($p = 0,0017$ e $p = 0,0069$, respectivamente), os genótipos 13, 30 e 106 não responderam à inoculação, conforme observado através das curvas de Kaplan-Meier sobrepostas entre os tratamentos controle e inoculado ($p > 0,05$) (Figura 3).

As razões de HR corroboraram o efeito promotor da inoculação, principalmente no genótipo 14, que apresentou maior probabilidade de ocorrência do evento de enraizamento ao longo do tempo. Esse resultado indica que a inoculação não apenas aumentou a taxa final de enraizamento, mas também acelerou a dinâmica do processo, o que possui implicações diretas para a eficiência operacional de viveiros clonais. A redução do tempo necessário para a formação de raízes adventícias permite uma menor ocupação das estruturas de enraizamento, maior rotatividade de material propagativo e potencial redução de custos operacionais.

A propagação clonal de espécies florestais por miniestaquia é influenciada por múltiplos fatores, entre os quais se destacam o genótipo, as condições ambientais e a associação com microrganismos promotores de crescimento. Os trabalhos de Brondani *et al.*, (2010), Díaz (2009) e o presente estudo, embora adotem abordagens distintas, convergem ao demonstrar a

complexidade e a especificidade do processo de enraizamento em espécies de *Eucalyptus* (Oliveira *et al.*, 2012; Brondani *et al.*, 2018).

Brondani *et al.* (2010) avaliaram a técnica de miniestaquia em híbridos de *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii* e observaram que o enraizamento das miniestacas variou significativamente em função do clone, além de se mostrar bastante sensível às condições ambientais. Diante disso, mesmo na ausência de inoculação bacteriana, fatores intrínsecos (genótipo) e extrínsecos (ambiente) atuam como moduladores do processo de rizogênese. A variabilidade clonal reportada por Brondani *et al.* (2010) estabelece um pano de fundo importante para compreender por que, na presença de estímulos adicionais como a inoculação bacteriana, as respostas podem ser igualmente variáveis e dependentes do material genético.

Díaz (2009) avançou ao introduzir o componente microbiano nessa equação. Ao trabalhar com quatro clones de *Eucalyptus* (dois de *E. globulus* e dois híbridos de *E. nitens* x *E. globulus*), o autor testou 132 cepas bacterianas em quatro ensaios distintos. Dentre as cepas avaliadas, 26 aumentaram significativamente o enraizamento de estacas de *E. globulus*, com taxas de enraizamento atingindo 47,5%, 31,3% e 48,8% em um dos ensaios. O efeito promotor foi obtido predominantemente por 19 cepas do gênero *Bacillus*, sugerindo que a produção bacteriana de ácido indolacético (AIA) e a alta sensibilidade das raízes a esse hormônio podem ser mecanismos fundamentais na resposta à inoculação.

O presente estudo observou que o híbrido triplo *E. tereticornis* × *E. brassiana* × *E. urophylla* (genótipo 14) apresentou taxa de enraizamento de 88,88% quando inoculado, demonstrando ser responsivo à associação bacteriana.

Ressalta-se que, quando o índice de enraizamento foi superior a 75%, ou seja, quando o genótipo apresentou alto índice de enraizamento, o efeito da bactéria reduziu o índice de enraizamento, assim como no genótipo 104. Este resultado pode ser associado à produção de auxina, a qual, quando em concentrações supra ótimas, reduz o índice de enraizamento, conforme apresentado na literatura (Deng *et al.*, 2022). Tal observação sugere que a bactéria *Bacillus aryabhattai* pode estar envolvida na produção de auxina. Nesse contexto, para os genótipos que já apresentam altos índices de enraizamento, a fim de otimizar esse índice, poder-se-ia testar o inoculante com maior diluição, visando ajustar a produção de auxina pelas plantas estimulada pelo inoculante.

Por outro lado, os genótipos 13, 30 e 106 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, com curvas de Kaplan–Meier sobrepostas ao longo do período avaliado. Esse comportamento indica que, nesses materiais genéticos, a inoculação com

B. aryabhatai não alterou o padrão temporal de enraizamento. A ausência de resposta pode estar relacionada à menor colonização bacteriana, à presença de microbiota endógena competitiva ou à menor sensibilidade fisiológica desses genótipos aos metabólitos bacterianos. A literatura aponta que a eficiência de BPCV pode ser modulada por fatores genéticos do hospedeiro, condições ambientais e disponibilidade hídrica, o que reforça a necessidade de uma avaliação específica para cada clone (Alfenas, 2009; Nwigwe; Fossey; de Smidt, 2023).

Os resultados revelaram, para o genótipo 14, que a inoculação com *Bacillus aryabhatai* pode contribuir significativamente para o enraizamento ($p = 0,0017$ e $p = 0,0069$, respectivamente), com redução do tempo médio de enraizamento de 20 para 16 dias. O padrão temporal de resposta não poderia ser captado por avaliações pontuais ao final do experimento, evidenciando a importância da abordagem longitudinal para a compreensão da dinâmica do enraizamento. No clone 14, a separação pronunciada das curvas de Kaplan–Meier indica maior responsividade à inoculação, sugerindo que *B. aryabhatai* atuou na indução de primórdios radiculares. Este efeito pode estar associado à modulação do balanço hormonal endógeno e à ativação de processos fisiológicos envolvidos na desdiferenciação celular e na iniciação de meristemas radiculares, conforme descrito na literatura clássica de propagação vegetativa (Santoyo *et al.*, 2016; Backer *et al.*, 2018).

Ainda em linha com as evidências de Díaz *et al.* (2009), o efeito promotor observado no presente estudo pode estar associado à produção de AIA por *B. aryabhatai*, uma característica comum em bactérias do gênero *Bacillus* e reconhecidamente envolvida na indução de raízes adventícias, uma vez que ela contribui para a produção de auxina.

Enquanto Díaz *et al.*, (2009) testaram um grande número de cepas e identificaram que 19 delas (pertencentes ao gênero *Bacillus*) foram eficazes, aumentando a porcentagem de enraizamento para 69,4%, por outro lado o presente trabalho concentrou-se em uma única cepa, demonstrando que mesmo abordagens simplificadas podem promover resultados promissores, e que a compatibilidade com o genótipo hospedeiro pode influenciar na atuação da BPCV.

Do ponto de vista silvicultural, os resultados indicam que a inoculação com *B. aryabhatai* apresenta potencial como ferramenta biotecnológica para a otimização da propagação clonal de *Eucalyptus*, especialmente para genótipos responsivos. A redução do tempo de enraizamento pode contribuir para uma maior eficiência na produção de mudas, redução de custos operacionais e maior sustentabilidade do sistema produtivo, ao possibilitar menor dependência de reguladores de crescimento sintéticos e maior eficiência no uso de recursos hídricos e nutricionais.

Entretanto, a variabilidade de resposta entre genótipos ressalta a necessidade de estudos adicionais para compreender os mecanismos de interação planta-microrganismo e estabelecer protocolos específicos de inoculação, considerando fatores genéticos e ambientais. A integração de análises microbiológicas, fisiológicas e moleculares poderá contribuir para a seleção de combinações microrganismo-genótipo mais eficientes, ampliando o potencial de aplicação de inoculantes bacterianos na silvicultura clonal.

5.2 Efeito da inoculação no crescimento em altura e diâmetro das mudas

Verificou-se a ausência de efeito significativo da inoculação bacteriana sobre a altura das mudas quando considerado o efeito geral. Esse efeito assemelha-se ao observado no trabalho de Almeida *et al.* (2021), que, ao testarem a inoculação de mudas de *Adenanthera pavonina* L., com *Azospirillum brasilense*, observaram que nenhum dos tratamentos foi superior ao controle. Porém, no presente estudo, foi verificada interação significativa entre genótipo e inoculação. Tal padrão sugere que a promoção de crescimento mediada por microrganismos não é universal, mas depende da compatibilidade fisiológica e genética entre o hospedeiro vegetal e o microrganismo inoculado.

A predominância do efeito genotípico sobre a altura das plantas reflete o forte controle genético desse caráter, o qual está associado a características herdáveis, tais como arquitetura da parte aérea, taxa intrínseca de crescimento, eficiência fotossintética e padrões de alocação de biomassa. Em espécies florestais perenes, como *Eucalyptus*, a altura é reconhecidamente um caráter de alta herdabilidade. Tal aspecto explica, portanto, a elevada proporção da variação total atribuída ao fator genótipo no presente estudo.

Diferente do observado no presente estudo, Paz *et al.* (2012), ao isolarem bactérias endofíticas de clones de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*, demonstraram que isolados de *Bacillus* spp. promoveram incrementos significativos no crescimento radicular e da parte aérea em condições controladas. De maneira análoga, Santos *et al.* (2019) selecionaram bactérias promotoras de crescimento associadas a *Eucalyptus urophylla* e observaram aumentos expressivos em altura, diâmetro do coleto e acúmulo de biomassa em mudas jovens. Esses resultados reforçam o potencial da inoculação bacteriana como estratégia complementar para potencializar o crescimento, ainda que a expressão final da altura permaneça fortemente modulada pela base genética de cada clone.

A maior responsividade dos híbridos 104 e 106 à inoculação bacteriana pode estar associada a diferenças na composição e quantidade de exsudatos radiculares, que modulam a colonização microbiana e a atividade metabólica dos microrganismos na rizosfera. Esses

genótipos podem apresentar maior capacidade de recrutar e manter populações bacterianas benéficas, favorecendo processos como a produção de fitormônios (auxinas, giberelinas e citocininas), a solubilização de nutrientes e a melhoria da absorção hídrica, refletindo em maior crescimento em altura (Wang *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2019).

Por outro lado, a ausência de resposta nos clones 13, 14 e 30 pode indicar menor compatibilidade planta–microrganismo, possivelmente relacionada a diferenças genéticas na sensibilidade hormonal, na estrutura do sistema radicular ou na capacidade de colonização bacteriana. Além disso, esses genótipos podem apresentar crescimento intrínseco elevado ou mecanismos próprios de tolerância ao estresse, reduzindo a dependência de associações microbianas para o crescimento inicial.

Sob condições de estresse hídrico, é comum que as plantas priorizem o desenvolvimento do sistema radicular e mecanismos fisiológicos de tolerância, em detrimento do crescimento em altura. Nesse contexto, a inoculação bacteriana pode ter atuado principalmente em ajustes fisiológicos, como o aumento da eficiência no uso da água, a modulação estomática e a proteção contra o estresse oxidativo, sem necessariamente resultar em incrementos significativos em altura (Park *et al.*, 2017; Ren *et al.*, 2020). Dessa forma, os resultados evidenciam que a resposta à inoculação bacteriana é modulada por fatores genéticos e ambientais, reforçando que a eficácia de microrganismos promotores de crescimento depende da compatibilidade entre o inoculante e o material genético, além das condições edafoclimáticas, especialmente em ambientes semiáridos.

Em relação ao diâmetro do coleto, os resultados indicaram influência predominante do genótipo, sem efeito significativo da inoculação bacteriana ou da interação entre genótipo e tratamento (Santos *et al.*, 2019; Almeida *et al.*, 2021). Em vista disso, o padrão sugere que o crescimento radial do caule é fortemente controlado por fatores genéticos intrínsecos, os quais determinam a taxa de divisão e expansão celular nos tecidos vasculares, bem como a formação de lenho e floema secundário. Em espécies florestais perenes, o diâmetro do coleto é considerado um caráter herdável e menos sensível a variações ambientais de curto prazo, o que explica a elevada proporção da variação atribuída ao genótipo.

A ausência de resposta do diâmetro à inoculação com *Bacillus aryabhattai* pode estar associada ao fato de que microrganismos promotores de crescimento vegetal atuam, preferencialmente, sobre processos fisiológicos relacionados ao desenvolvimento radicular, à absorção de nutrientes e à modulação hormonal, os quais nem sempre se refletem diretamente no crescimento radial do caule, especialmente em estágios iniciais de desenvolvimento (Shin *et al.*, 2019; Deng *et al.*, 2022; Sousa *et al.*, 2023).

As diferenças observadas entre os genótipos 104 e 106 em relação aos demais materiais avaliados evidenciam a influência das características genéticas intrínsecas sobre a alocação de biomassa e o padrão de crescimento secundário. As diferenças identificadas podem estar relacionadas à variações na eficiência do transporte de assimilados, na atividade cambial e na plasticidade fenotípica de cada genótipo, características frequentemente associadas ao desempenho silvicultural de clones e híbridos de *Eucalyptus*.

Adicionalmente, os resultados sugerem que, nas condições experimentais avaliadas, o diâmetro do coleto foi determinado principalmente pela base genética dos materiais, enquanto a inoculação bacteriana não foi capaz de modificar significativamente esse caráter. Portanto, a eficiência de bioinoculantes pode ser de caráter-dependente, sendo mais expressiva em variáveis fisiológicas e radiculares do que em características estruturais controladas geneticamente, como o diâmetro do caule.

5.3 Dinâmica de crescimento em altura, diâmetro e número de folhas de clones de *Eucalyptus* inoculadas com *Bacillus aryabhattai* na fase de crescimento inicial

Os caracteres altura, diâmetro e número de folhas indicaram crescimento progressivo das plantas, evidenciado pelo efeito significativo do tempo de avaliação ($p < 0,0001$). Entretanto, não foi observado efeito significativo da inoculação com *B. aryabhattai*, nem interação entre inoculação e tempo, sugerindo que, nas condições experimentais adotadas, a dinâmica de crescimento foi semelhante entre plantas inoculadas e não inoculadas. Esses resultados diferem dos estudos conduzidos por e Ran *et al.* (2025), que, ao inocularem plantas com rizobactérias isoladas do solo de *Elymus nutans* Griseb, obtiveram incremento em altura de 51,72% para 70,67% demonstrando uma interação entre as cepas utilizadas. Corroborando com Santos *et al.*, (2019), que evidenciaram o aumento em altura de mudas jovens de *Eucalyptus urophylla*, assim como Park *et al.* (2012), que demonstraram que isolados de *Bacillus* spp. promovem o crescimento da parte aérea de mudas em condições de casa de vegetação.

O comportamento pode ser explicado pelo fato de que o crescimento vegetal em condições de estresse hídrico é fortemente influenciado por fatores ambientais e genotípicos, o que pode limitar ou mascarar os efeitos de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) (Hashem; Tabassum; Fathi Abd_Allah, 2019; Rashid *et al.*, 2022). A literatura demonstra que o déficit hídrico interfere diretamente em processos fisiológicos fundamentais, como divisão celular, alongação celular e expansão foliar, reduzindo o crescimento em altura e o desenvolvimento de folhas e caules. Durante a seca, ocorre o fechamento estomático, a redução da assimilação de CO₂ e alterações hormonais, afetando negativamente o crescimento

vegetativo (Vurukonda *et al.*, 2016; Sá *et al.*, 2023). Além disso, as plantas do presente estudo foram submetidas a apenas 30 dias de estresse moderado, o que pode ter sido insuficiente para evidenciar os efeitos positivos no crescimento das plantas inoculadas com *B. aryabhatai*.

Apesar disso, pesquisas relatam que BPCV podem mitigar os efeitos do estresse hídrico por meio da produção de fitormônios, modulação do etileno, aumento da absorção de nutrientes e melhoria da eficiência no uso da água. Esses microrganismos também promovem ajustes osmóticos, produção de exopolissacarídeos e ativação de sistemas antioxidantes, contribuindo para a tolerância das plantas à seca (Teixeira *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2024).

No presente estudo, a ausência de efeito significativo da inoculação sobre altura e número de folhas pode estar associada a vários fatores. Primeiramente, a resposta à inoculação com BPCV é altamente dependente do genótipo vegetal e da compatibilidade planta-bactéria. Diferentes genótipos de *Eucalyptus* podem apresentar variações na colonização radicular e na capacidade de responder aos metabólitos bacterianos, o que pode resultar em respostas fenotípicas distintas ou mesmo ausência de resposta mensurável em variáveis morfológicas.

Vale destacar também que, a intensidade e a duração do estresse hídrico podem influenciar a expressão dos efeitos das BPCV. Estudos demonstram que os benefícios da inoculação podem se manifestar principalmente durante períodos críticos de estresse ou após a reidratação, e não necessariamente durante a fase inicial do estresse. Em *Eucalyptus grandis*, por exemplo, a inoculação com bactérias promotoras de crescimento resultou em maior recuperação do crescimento após o estresse hídrico, mesmo quando diferenças não foram observadas durante o período de seca (Chaín *et al.*, 2020).

Outro fator relevante é que os efeitos das BPCV nem sempre se refletem diretamente em variáveis morfológicas como altura e número de folhas, especialmente em experimentos em vasos e em períodos relativamente curtos. Muitas vezes, os benefícios da inoculação são mais evidentes em parâmetros fisiológicos e bioquímicos, como eficiência fotossintética, conteúdo relativo de água, atividade antioxidante e arquitetura radicular, que precedem alterações morfológicas detectáveis.

O crescimento aproximadamente linear ao longo do tempo observado para altura e número de folhas em todos os genótipos indica que as plantas mantiveram crescimento contínuo mesmo sob estresse hídrico, possivelmente devido a mecanismos adaptativos intrínsecos dos genótipos avaliados (Lopes *et al.*, 2011). Diferente do observado por Santos *et al.*, (2023), que obtiveram valores significativos para altura, diâmetro e número de folhas de *Eucalyptus urophylla* inoculado com cepas bacterianas. A variabilidade genética em *Eucalyptus* é amplamente reconhecida, e diferenças na tolerância ao déficit hídrico podem estar relacionadas

a estratégias fisiológicas como maior eficiência no uso da água, ajuste osmótico e alterações na morfologia radicular (Lopes *et al.*, 2011).

De modo geral, os resultados sugerem que, nas condições experimentais adotadas, o efeito da inoculação com *B. aryabhattai* não foi suficiente para promover alterações significativas em caracteres morfológicos de crescimento, embora o crescimento temporal tenha sido evidente. Portanto, a eficácia de BPCV em condições de estresse hídrico depende de uma complexa interação entre genótipo, intensidade do estresse, tempo de avaliação e ambiente de cultivo, sendo necessário complementar a avaliação com variáveis fisiológicas, bioquímicas e moleculares para uma compreensão mais abrangente dos mecanismos envolvidos.

5.4. Variação do índice de SPAD e temperatura em função dos tratamentos (com e sem inoculação com *Bacillus aryabhattai*) em genótipos de *Eucalyptus* sob estresse hídrico

Para o índice de SPAD, foi verificado efeito significativo do fator avaliação para todos os genótipos, enquanto a inoculação bacteriana e a interação avaliação × inoculação não apresentaram efeito estatisticamente significativo. Esse comportamento sugere que a variável resposta foi principalmente influenciada pelas condições experimentais ao longo do tempo, independentemente da presença dos microrganismos inoculados.

A significância do fator avaliação para todos os genótipos (F variando de 43,24 a 62,08; $p < 0,0001$) indica que as condições ambientais impostas, provavelmente relacionadas ao estresse hídrico, exerceram forte influência sobre o desempenho das plantas. O estresse hídrico é um dos fatores limitantes do crescimento vegetal, afetando processos fisiológicos como fotossíntese, balanço hormonal, estabilidade de membranas e absorção de nutrientes (Fang; Xiong, 2014). Assim, a resposta significativa observada reforça que as plantas responderam às variações nas condições de avaliação, refletindo alterações fisiológicas ou morfológicas ao longo do experimento.

Por outro lado, a ausência de efeito significativo da inoculação bacteriana sugere que, nas condições experimentais adotadas, os microrganismos não foram capazes de promover alterações detectáveis na característica avaliada. Embora bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sejam amplamente relatadas como agentes mitigadores de estresse hídrico, seus efeitos dependem fortemente da especificidade da interação planta-microrganismo, das condições ambientais e do genótipo vegetal (Bhattacharyya *et al.*, 2021). Diversos estudos demonstram que BPCV podem melhorar o crescimento vegetal sob déficit hídrico por meio da produção de fitormônios, exopolissacarídeos, ACC desaminase, osmólitos e antioxidantes, além da modulação da arquitetura radicular (Vurukonda *et al.*, 2016; Orozco-Mosqueda; Glick;

Santoyo, 2020; Santoyo *et al.*, 2021). No entanto, tais benefícios nem sempre são observados, especialmente quando a colonização microbiana é limitada ou quando o genótipo vegetal apresenta baixa responsividade à inoculação.

A ausência de interação significativa entre avaliação e inoculação indica que a resposta dos genótipos ao longo do tempo e às condições experimentais foi independente da inoculação bacteriana. Isso sugere que os microrganismos não alteraram a dinâmica temporal da variável resposta, resultando em padrões semelhantes entre plantas inoculadas e não inoculadas ao longo das avaliações. Comportamento semelhante foi relatado em estudos com espécies florestais, nos quais a inoculação não resultou em diferenças consistentes sob determinadas condições de estresse hídrico ou regimes de irrigação. Em mudas de *Eucalyptus*, por exemplo, efeitos positivos da inoculação bacteriana foram observados principalmente quando combinados com estratégias adicionais, como polímeros superabsorventes ou condições específicas de estresse, destacando a complexidade das interações planta-microrganismo (Santos; Ferreira, 2024).

No entanto, os resultados sugerem que o fator ambiental foi determinante para a variável avaliada, enquanto a inoculação bacteriana não apresentou efeito detectável nas condições experimentais deste estudo. Diante disso, é importante considerar a especificidade genotípica, a eficiência de colonização microbiana e a intensidade do estresse hídrico ao interpretar os efeitos de BPCV em espécies florestais, uma vez que tais fatores podem influenciar significativamente a resposta das plantas à inoculação.

5.5 Análise de sobrevivência de plantas inoculadas e não inoculadas com *Bacillus aryabhatai* em condições de déficit hídrico

A análise de variância revelou efeito significativo do fator avaliação para os genótipos G13, G30 e G104, indicando variação temporal da sobrevivência. O resultado evidencia que esses genótipos apresentaram respostas dinâmicas às condições ambientais, especialmente ao período de estresse hídrico e à fase posterior de recuperação. Em contraste, o genótipo G14 não apresentou efeito significativo do fator avaliação, sugerindo maior estabilidade da sobrevivência ao longo do tempo, possivelmente associada a mecanismos fisiológicos intrínsecos de tolerância ao déficit hídrico.

A ausência de efeito significativo do fator inoculação para todos os genótipos indica que a inoculação bacteriana não influenciou diretamente a sobrevivência das plantas nas condições avaliadas. Esse comportamento é consistente com estudos que relatam que bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCV) frequentemente afetam variáveis fisiológicas, nutricionais e de crescimento, mas nem sempre resultam em aumento da sobrevivência, especialmente quando

os níveis de mortalidade são baixos ou o estresse é moderado (Nadeem *et al.*, 2013; Vurukonda *et al.*, 2016). Além disso, a ausência de interação significativa entre avaliação e inoculação indica que a resposta temporal da sobrevivência foi independente da presença das bactérias, sugerindo que os efeitos potenciais da inoculação não foram suficientes para alterar o padrão temporal de mortalidade.

O genótipo G106 não apresentou variação na sobrevivência ao longo das avaliações, o que impossibilitou a estimativa dos parâmetros pelo modelo estatístico. Nesse sentido, esse comportamento indica elevada tolerância às condições impostas, sugerindo que esse material genético possui mecanismos intrínsecos eficientes de adaptação ao estresse hídrico, como maior eficiência no uso da água, controle estomático mais eficiente ou capacidade de ajuste osmótico, características frequentemente associadas à resistência ao déficit hídrico em espécies florestais (Choat *et al.*, 2018).

A análise temporal da sobrevivência mostrou que todos os grupos genéticos apresentaram 100% de sobrevivência nas avaliações iniciais, anteriores à imposição do estresse hídrico, evidenciando condições adequadas de estabelecimento e homogeneidade entre os tratamentos. Durante o período de restrição hídrica, a sobrevivência manteve-se elevada na maioria dos grupos, sem reduções imediatas expressivas. Esse resultado sugere que o estresse imposto foi de intensidade moderada ou que as plantas apresentaram mecanismos de tolerância ao déficit hídrico de curto prazo (Lopes *et al.*, 2011; Choat *et al.*, 2018).

Após o período de estresse hídrico, observaram-se reduções graduais na sobrevivência em alguns genótipos, especialmente em G13, G14 e G30, indicando que os efeitos do déficit hídrico podem se manifestar de forma tardia. Tal comportamento pode ser explicado pelo conceito de “efeitos legados do estresse hídrico”, em que danos fisiológicos acumulados durante o período de estresse resultam em respostas negativas mesmo após a recuperação das condições hídricas (Wu *et al.*, 2017).

No genótipo G13, a sobrevivência permaneceu próxima a 100% durante o estresse, com redução nas avaliações finais, principalmente no tratamento sem inoculação. Embora as plantas inoculadas tenham apresentado valores ligeiramente superiores nas últimas avaliações, a sobreposição das barras de erro indica que essas diferenças não foram estatisticamente robustas. Resultados semelhantes foram observados por Santoyo *et al.*, (2021), que relataram efeitos discretos de BPCV sobre a sobrevivência, mas impactos mais expressivos sobre parâmetros fisiológicos e de crescimento.

O genótipo G14 apresentou estabilidade inicial, seguida de redução na sobrevivência após o estresse hídrico, com elevada variabilidade entre repetições. A redução mais precoce no

tratamento inoculado sugere que a interação genótipo–bactéria pode não ter sido funcional, reforçando que os efeitos da inoculação são altamente dependentes da compatibilidade entre o microrganismo e o hospedeiro vegetal (Compant *et al.*, 2019).

No genótipo G30, a sobrevivência manteve-se em 100% até o término do estresse, com redução mais acentuada no tratamento sem inoculação nas avaliações finais. Embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas, o padrão sugere um possível efeito benéfico tardio da inoculação, possivelmente relacionado à recuperação pós-estresse, fenômeno já descrito para PGPB em condições de déficit hídrico (Backer *et al.*, 2018).

O genótipo G104 apresentou elevada estabilidade, com 100% de sobrevivência durante a maior parte do experimento, independentemente da inoculação. Esse comportamento indica alta tolerância ao estresse hídrico e sugere que mecanismos genéticos intrínsecos foram suficientes para garantir a sobrevivência, reduzindo a dependência de microrganismos simbióticos.

Assim, os resultados demonstram que a sobrevivência foi fortemente dependente do grupo genético e do tempo de avaliação, enquanto a inoculação bacteriana não promoveu efeitos consistentes. Esses achados reforçam a importância da seleção genética de materiais tolerantes ao déficit hídrico e indicam que a sobrevivência pode não ser o caráter mais sensível para detectar os efeitos da inoculação. Dessa forma, a avaliação de caracteres fisiológicos, bioquímicos e de crescimento é fundamental para compreender os mecanismos de tolerância e os potenciais benefícios da associação planta-microrganismo em condições de estresse hídrico.

5.6 Acúmulo de biomassa: massa fresca e seca de folhas, caule e raízes

A predominância do efeito do genótipo sobre a produção de biomassa está de acordo com estudos que mostram que a variabilidade genética é um dos principais fatores determinantes do crescimento de *Eucalyptus* (Gonçalves *et al.*, 2013; Moraes *et al.*, 2015). Diante disso, a influência genotípica tende a se expressar com maior intensidade em características estruturais, como massa seca de caule e total, pois refletem processos fisiológicos complexos de assimilação de carbono e alocação de assimilados, que variam substancialmente entre genótipos (Singini; Eckert; Drew, 2026).

Em condições de estresse hídrico, a literatura, por meio de meta-análises, indica que a seca pode reduzir significativamente o crescimento total e a produção de biomassa em *Eucalyptus*. Tal análise sistemática das respostas fisiológicas e morfológicas à seca revela uma forte redução no crescimento e uma limitação da fotossíntese sob estresse hídrico, levando a declínios na biomassa total, especialmente em condições de déficit severo. Isso evidencia que

a variação genética e a capacidade de tolerar o déficit hídrico são fatores importantes para explicar as diferenças de desempenho entre os genótipos.(Zhou; Medlyn; Prentice, 2015; Singini; Eckert; Drew, 2026).

No presente estudo, o efeito do genótipo foi dominante para a maioria dos caracteres, destacando sua importância na determinação da capacidade de crescimento mesmo nas fases iniciais da planta. Isso é consistente com evidências de que alguns genótipos mantêm maior biomassa de raízes mesmo em ambientes com disponibilidade hídrica reduzida, indicando estratégias de alocação radicular mais eficazes para suporte hídrico(Shan *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2023).

A interação significativa entre inoculação e genótipo para biomassa de raízes sugere que a resposta à presença de microrganismos simbióticos é dependente da constituição genética da planta. Em outras espécies, a inoculação micorrízica ou microbiana tem mostrado aumentos na biomassa radicular e no crescimento total sob estresse hídrico. Estudos em plantas inoculadas com fungos micorrízicos mostram aumento significativo do crescimento de raízes e parte aérea sob regimes de água limitados, reforçando o papel dos microrganismos na mitigação do déficit hídrico (Shan *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2024) .

A associação entre microrganismos promotores de crescimento e o maior desenvolvimento radicular, como observado no clone 30, é biologicamente coerente, pois essas relações podem aumentar a absorção de nutrientes essenciais, melhorar a eficiência hídrica e estimular crescimento radicular profundo, que são respostas adaptativas importantes em condições restritivas (Hungria *et al.*, 2010; Smith; Read, 2008). A quantidade de carbono estocado em raízes finas pode ser mantida em taxas relativamente elevadas mesmo em ambientes com menor disponibilidade hídrica, quando comparada a sites mais úmidos, sugerindo que alguns genótipos alocam mais matéria seca em raízes quando expostos a estresse.

Por sua vez, a ausência de efeito significativo da inoculação sobre a massa seca total, apesar de alterações observadas em variáveis da parte aérea, indica que a inoculação pode promover modificações na fisiologia radicular sem necessariamente resultar em maior acúmulo de biomassa na parte aérea nos estágios iniciais avaliados. Assim, os efeitos da inoculação sobre o crescimento da parte aérea são mais discretos e fortemente dependentes da interação específica entre microrganismo e genótipo, podendo se manifestar de forma mais pronunciada em fases mais avançadas do desenvolvimento vegetal (Backer *et al.*, 2018; Compant *et al.*, 2019; Santoyo, 2025).

Em solos com deficiência de nutrientes, que são comuns no semiárido, a resposta à inoculação pode ser mais pronunciada, uma vez que a simbiose micorrízica frequentemente

melhora a absorção de fósforo e outros nutrientes limitantes em solos pobres. Estudos com plantas expostas à seca mostram que a inoculação pode aumentar a absorção de água e elevar a eficiência de uso de recursos sob regime de irrigação intermitente (em outras espécies florestais), indicando que a associação simbiótica pode potencializar adaptações à irregularidade hídrica típica de regiões semiáridas (exemplo de aumento de biomassa com inoculação sob regimes hídricos variáveis).

5.7 Influência da Inoculação com *Bacillus aryabhattai* na Absorção e Acúmulo de Nutrientes

A concentração de macronutrientes nas folhas e raízes foi fortemente influenciada pelos genótipos e pela interação inoculação x genótipos, enquanto o efeito isolado da inoculação foi significativo principalmente para os teores de nitrogênio e fósforo nas raízes. Dessa forma, a resposta à inoculação com *Bacillus aryabhattai* foi dependente do genótipo, reforçando a importância da interação planta-microrganismo na modulação da absorção e distribuição de nutrientes.

No caso do nitrogênio foliar, a maior proporção da variação foi explicada pelos genótipos, sugerindo que o controle genético desempenhou papel dominante na assimilação e translocação de N para a parte aérea. Em *Eucalyptus*, a eficiência de uso do nitrogênio é uma característica altamente herdável, associada à atividade de enzimas como nitrato redutase, glutamina sintetase e glutamato sintase, o que resulta em diferenças significativas no crescimento e acúmulo de biomassa entre genótipos (Oliveira *et al.*, 2022).

A ausência de efeito significativo da inoculação no N foliar indica que, embora a bactéria tenha influenciado a absorção radicular, a translocação e a assimilação na parte aérea foram reguladas principalmente por mecanismos fisiológicos intrínsecos dos genótipos. Esse padrão já foi observado em estudos com árvores, nos quais a inoculação microbiana promoveu maior absorção radicular sem necessariamente aumentar o teor foliar, devido a limitações na translocação ou no uso metabólico do nutriente (Santos; Ferreira, 2024).

Por outro lado, para o nitrogênio radicular, observou-se forte efeito da inoculação e da interação inoculação x genótipos, evidenciando que *B. aryabhattai* influenciou principalmente os processos de absorção na raiz. Bactérias promotoras de crescimento vegetal podem aumentar a absorção de N por meio da produção de auxinas, que estimulam o crescimento radicular, da fixação biológica de N, da mineralização de compostos orgânicos e da modulação da microbiota rizosférica (Vurukonda *et al.*, 2016; Santos; Ferreira, 2024).

A resposta diferencial entre genótipos foi evidente, com G13, G30 e G104 apresentando incremento expressivo no teor radicular de N após a inoculação, enquanto o G14 e o G106 mostraram menor resposta. Isso sugere maior compatibilidade entre esses genótipos e *B. aryabhattai*, possivelmente associada a diferenças na exsudação radicular, arquitetura de raízes ou receptividade fisiológica à colonização microbiana. Em *Eucalyptus*, a colonização por rizobactérias e fungos micorrízicos é altamente dependente do genótipo, influenciando diretamente a aquisição de nutrientes (Mafia *et al.*, 2009; Backer *et al.*, 2018; Nwigwe; Fossey; de Smidt, 2023).

O genótipo G30 é particularmente relevante, pois apresentou menor teor de N radicular na ausência de inoculação, mas respondeu positivamente após inoculação. Dessa forma, o comportamento sugere que a inoculação bacteriana pode compensar limitações fisiológicas intrínsecas do genótipo, aumentando sua eficiência nutricional sob estresse hídrico. Estudos têm demonstrado que BPCV podem atuar como “bioestimulantes funcionais”, melhorando a performance de genótipos menos eficientes em condições de estresse (Vurukonda *et al.*, 2016).

Para o fósforo foliar, os efeitos significativos dos genótipos e da interação indicam que a resposta foi altamente dependente do material genético. Bactérias do gênero *Bacillus* são reconhecidas pela capacidade de solubilizar fosfatos insolúveis por meio da produção de ácidos orgânicos e fosfatases, aumentando a disponibilidade de P na rizosfera (Shin *et al.*, 2019; Sharma *et al.*, 2023). No entanto, o efeito final no tecido foliar depende da eficiência genotípica de translocação e utilização do fósforo, o que explica as respostas contrastantes observadas entre os genótipos.

O aumento significativo de fósforo na raiz, especialmente em G106, indica que a inoculação favoreceu a absorção radicular, mas nem sempre resultou em maior translocação para a parte aérea. Em espécies arbóreas, a retenção de P nas raízes pode representar uma estratégia adaptativa ao estresse hídrico, garantindo suprimento metabólico local para manutenção da atividade radicular e absorção de água (Laclau *et al.*, 2010).

Os genótipos G13 e G14 apresentaram incremento moderado, enquanto G30 e G104 mantiveram valores intermediários, reforçando que a eficiência de translocação de P é controlada geneticamente e modulada pela interação com microrganismos. A variabilidade genotípica na eficiência de uso de fósforo em *Eucalyptus* é amplamente documentada e associada a diferenças na arquitetura radicular, atividade enzimática e expressão de transportadores de fosfato (Turner; Lambert, 2008).

Em contraste com os padrões observados para N e P, para o potássio foliar apenas o efeito dos genótipos foi significativo, indicando que o acúmulo de K foi predominantemente

determinado por fatores genéticos, sem influência significativa da inoculação. O potássio desempenha papel central no controle estomático, regulação osmótica, ativação enzimática e tolerância ao déficit hídrico, sendo sua absorção mediada por transportadores altamente regulados geneticamente (Maathuis, 2009).

A ausência de efeito da inoculação sobre o K sugere que *B. aryabhattai* não interferiu significativamente nos mecanismos de absorção ou transporte desse nutriente, ou que o estresse hídrico imposto limitou a mobilidade do K no solo e sua absorção radicular. Resultados semelhantes foram reportados em estudos com rizobactérias, nos quais os efeitos mais consistentes foram observados para N e P, enquanto o potássio apresentou menor resposta à inoculação (Yang *et al.*, 2025a). As diferenças entre os genótipos, com maiores teores em G30, G104 e G106, indicam que esses materiais apresentam maior eficiência na absorção e uso de potássio, característica frequentemente associada à maior tolerância ao estresse hídrico em *Eucalyptus* (Castro *et al.*, 2017).

De acordo com o que foi discutido, a inoculação com *Bacillus aryabhattai* influenciou principalmente a absorção radicular de nitrogênio e fósforo, com respostas fortemente dependentes do genótipo. A ausência de efeito consistente na parte aérea sugere que a redistribuição interna dos nutrientes e o crescimento morfológico são fortemente controlados geneticamente e modulados por fatores ambientais, como o estresse hídrico. A interação inoculação x genótipos evidencia que a eficácia de BPCV não é universal, sendo necessário selecionar combinações específicas de microrganismos e genótipos para maximizar os benefícios. Esse conceito de especificidade funcional entre planta e rizobactérias tem sido amplamente discutido na literatura, especialmente em espécies florestais, nas quais a diversidade genética influencia a colonização microbiana e as respostas fisiológicas (Berendsen; Pieterse; Bakker, 2012). Assim, os resultados reforçam que a inoculação com *B. aryabhattai* pode melhorar a eficiência nutricional de determinados genótipos de *Eucalyptus* sob estresse hídrico, particularmente no sistema radicular, mas sua efetividade depende fortemente do genótipo e do padrão de alocação de nutrientes entre raízes e parte aérea.

5.8 Modulação do Metabolismo Antioxidante e Osmoprotetores em Resposta à Inoculação Bacteriana com *Bacillus aryabhattai*

Para compreender os mecanismos fisiológicos subjacentes às respostas diferenciais observadas na nutrição e no crescimento dos genótipos de *Eucalyptus* inoculados com *Bacillus aryabhattai* sob estresse hídrico, torna-se essencial avaliar como a inoculação bacteriana modula as rotas metabólicas de proteção celular. Nesse contexto, a análise de osmoprotetores e

enzimas antioxidantes revela a capacidade das plantas de mitigar os danos oxidativos e manter a homeostase celular em condições de déficit hídrico.

O teor de prolina apresentou efeitos altamente significativos da interação, da inoculação e dos genótipos, indicando que o acúmulo desse osmólito foi regulado tanto geneticamente quanto pela presença da bactéria. A prolina é amplamente reconhecida como um dos principais osmólitos compatíveis acumulados sob estresse hídrico, atuando na manutenção do potencial osmótico, na estabilização de proteínas e membranas, além de funcionar como antioxidante e fonte de carbono e nitrogênio durante a recuperação do estresse (Bonatelli *et al.*, 2021). O presente estudo corrobora os resultados de Singh *et al.* (2023), que observaram níveis elevados de acúmulo de prolina no clone "KE8" de *Eucalyptus tereticornis* Sm., avaliado quanto à tolerância à seca. Da mesma forma, Naseem *et al.* (2018), ao investigarem a atuação de microrganismos na tolerância ao déficit hídrico, constataram que plantas inoculadas com bactérias promotoras de exopolissacarídeos apresentaram maior acúmulo de prolina, reforçando o papel da inoculação bacteriana na modulação de respostas osmoprotetoras sob condições de estresse.

Os clones G30 e G106 apresentaram altos teores de prolina na ausência de inoculação, sugerindo maior percepção ou sensibilidade ao estresse hídrico, o que resultou em forte ativação do metabolismo osmótico. Entretanto, a redução expressiva da prolina nesses genótipos após a inoculação indica que *B. aryabhattai* pode ter atenuado o estresse fisiológico, reduzindo a necessidade de acúmulo desse osmólito. Bactérias promotoras de crescimento podem diminuir a acumulação de prolina ao melhorar o estado hídrico da planta, estimular o crescimento radicular e modular a produção de fitormônios, reduzindo a percepção de estresse (Vurukonda *et al.*, 2016).

Os açúcares solúveis totais apresentaram respostas contrastantes entre os genótipos, com redução em G13, G14 e G104 sob inoculação, enquanto G14 apresentou incremento significativo no tratamento inoculado. Açúcares solúveis, como glicose, frutose e sacarose, atuam como osmólitos compatíveis, fontes de energia e moléculas sinalizadoras durante o estresse hídrico (Rosa *et al.*, 2009). No trabalho de Singh *et al.* (2023), que observaram níveis elevados de acúmulo de açúcares no clone "KE8" de *Eucalyptus tereticornis* Sm., avaliado quanto à tolerância à seca. Adicionalmente, Naseem *et al.* (2018), que investigaram a atuação de microrganismos na tolerância ao déficit hídrico, constatou-se que plantas inoculadas com bactérias promotoras de exopolissacarídeos apresentaram maior acúmulo de açúcares, reforçando o papel da inoculação bacteriana na modulação de respostas osmoprotetoras sob condições de estresse.

A redução dos açúcares em alguns genótipos após a inoculação pode indicar uma menor necessidade de ajuste osmótico, sugerindo melhora no status hídrico e metabólico das plantas inoculadas. Em contraste, o aumento observado em G14 sugere que esse clone ativou uma estratégia alternativa de tolerância ao estresse, baseada no acúmulo de carboidratos solúveis, possivelmente devido a diferenças na regulação do metabolismo do carbono ou na eficiência fotossintética. Estudos indicam que BPCV podem modular o metabolismo de carboidratos, alterando a partição de carbono entre crescimento, osmoproteção e respiração, com respostas altamente dependentes do genótipo e do ambiente (Vurukonda *et al.*, 2016).

Para a clorofila a, observou-se efeito significativo apenas dos genótipos, indicando forte controle genético sobre esse pigmento. A clorofila a está diretamente relacionada ao aparato fotossintético primário, sendo menos sensível a variações ambientais de curto prazo em espécies arbóreas, especialmente em condições moderadas de estresse (Yamatani *et al.*, 2022).

Para a clorofila b e clorofila total, a interação inoculação $\times$ genótipos foi significativa, embora o efeito isolado da inoculação não tenha sido observado, sugerindo que a bactéria modulou a composição dos pigmentos de forma dependente do genótipo. A redução da clorofila b e da clorofila total em G104 sob inoculação pode indicar um ajuste na composição dos complexos antena do fotossistema II, possivelmente associado a estratégias de fotoproteção sob estresse hídrico. Alterações na razão clorofila a/b são frequentemente associadas à aclimação à luz e ao estresse hídrico (Lichtenthaler; Babani, 2004).

Os carotenoides apresentaram efeito significativo dos genótipos e tendência de efeito da inoculação, reforçando que a capacidade fotoprotetora é majoritariamente controlada geneticamente. Os carotenoides desempenham papel crucial na dissipação de energia e na proteção contra espécies reativas de oxigênio (ROS), sendo fundamentais em condições de estresse ambiental (Lichtenthaler; Babani, 2004).

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) e da catalase apresentou efeitos significativos da interação, da inoculação e dos genótipos, evidenciando que *B. aryabhatai* estimulou o sistema antioxidante de forma dependente do clone. O estresse hídrico leva ao aumento da produção de ROS (espécies reativas de oxigênio), exigindo a ativação de enzimas antioxidantes como APX e CAT para evitar danos oxidativos às membranas e ao aparato fotossintético (Mittler, 2002; Gamalero *et al.*, 2020).

Os genótipos G30, G104 e G106 apresentaram aumento significativo da atividade de APX sob inoculação, indicando que a bactéria induziu a resposta antioxidante nesses clones. Esse fenômeno pode estar associado à ativação de resistência sistêmica induzida (ISR) ou ao

priming fisiológico promovido por BPCV, preparando a planta para lidar com o estresse oxidativo (Berendsen; Pieterse; Bakker, 2012).

A catalase também apresentou aumento significativo em G30 e G106 sob inoculação, reforçando que esses genótipos apresentaram maior plasticidade fisiológica em resposta à associação microbiana. A vitamina C apresentou efeito da inoculação e dos genótipos, sem interação, sugerindo que a inoculação aumentou seus teores de forma consistente entre os clones, enquanto as diferenças genéticas determinaram os níveis basais desse antioxidante.

Dessa forma, os resultados indicam que a inoculação com *Bacillus aryabhattai* modulou mecanismos-chave de tolerância ao estresse hídrico, incluindo ajustes osmóticos (prolina e açúcares), metabolismo energético e ativação do sistema antioxidante. No entanto, a magnitude e a direção das respostas variaram entre genótipos, evidenciando forte dependência genética na plasticidade fisiológica. Nesse contexto, a redução de osmólitos em alguns clones, associada ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes, sugere que a inoculação promoveu um estado fisiológico mais equilibrado, reduzindo a necessidade de ajustes osmóticos extremos e aumentando a capacidade de detoxificação de espécies reativas de oxigênio (ROS). Tal padrão é consistente com estudos que demonstram que bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) podem melhorar a tolerância ao estresse hídrico ao modular múltiplas vias fisiológicas simultaneamente (Vurukonda *et al.*, 2016; Abuhena *et al.*, 2024).

6. CONCLUSÃO

A inoculação com *Bacillus aryabhattai* influenciou significativamente a rizogênese, a nutrição mineral e os mecanismos fisiológicos de tolerância ao estresse hídrico em híbridos de *Eucalyptus*, porém com respostas dependentes do genótipo. A análise temporal do enraizamento evidenciou que a inoculação acelerou a dinâmica de formação de raízes adventícias e aumentou a probabilidade de ocorrência do evento em genótipos específicos, especialmente no clone 14, reforçando a importância da compatibilidade planta-microrganismo na propagação clonal.

Apesar dos efeitos positivos no enraizamento, a inoculação bacteriana não promoveu incrementos consistentes no crescimento morfológico em altura, diâmetro e número de folhas, tanto na fase de enraizamento quanto na fase de pós-transplante.

Dessa forma, os resultados obtidos permitem responder às hipóteses propostas sobre o papel do *Bacillus aryabhattai* nos clones de *Eucalyptus* testados sob estresse hídrico. Em relação à primeira hipótese, que previa que a inoculação promoveria mudas com maior

crescimento via ajustes hormonais e nutricionais, observou-se que, embora não tenha promovido incrementos significativos no crescimento de forma isolada, a interação significativa com o genótipo para biomassa radicular indica que *B. aryabhatai* atua prioritariamente na modulação do sistema radicular. Esse efeito na arquitetura das raízes favoreceu a absorção de nitrogênio e fósforo, sugerindo um ajuste nutricional mediado pela bactéria. No entanto, esse benefício não se refletiu em maior crescimento da parte aérea nas condições avaliadas. Portanto, a hipótese é parcialmente aceita, confirmando-se o papel do *B. aryabhatai* na mediação de processos nutricionais e no desenvolvimento radicular, mas sem efeito direto no crescimento aéreo das mudas.

Quanto à segunda hipótese, confirmou-se a indução de um estado de “*priming*” fisiológico e bioquímico, evidenciado pela modulação positiva do sistema antioxidante (APX, catalase e vitamina C) e pelo metabolismo osmótico, com redução dos teores de prolina em plantas inoculadas. Esse equilíbrio fisiológico sugere menor percepção do estresse hídrico e maior capacidade de detoxificação de espécies reativas de oxigênio, confirmando a hipótese de *priming*.

No que concerne à terceira hipótese, a inoculação conferiu maior tolerância ao estresse hídrico por meio da modulação de respostas fisiológicas, porém com efeitos claramente dependentes do genótipo. Clones como G30, G14 e G104 responderam significativamente para o enraizamento, a biomassa, os açúcares solúveis e a prolina, demonstrando que a compatibilidade microrganismo-genótipo é determinante para o sucesso da inoculação. Assim, a hipótese de tolerância ao estresse com variabilidade genotípica é confirmada.

Em síntese, *Bacillus aryabhatai* apresenta potencial como ferramenta biotecnológica para a silvicultura clonal, especialmente na modulação radicular e no equilíbrio fisiológico sob estresse hídrico. Contudo, sua eficácia é genótipo-dependente, exigindo seleção criteriosa de combinações microrganismo-genótipo e integração com estratégias de manejo para maximizar os benefícios em ambientes semiáridos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUHENNA, M. *et al.* An Overview of Bacillus Species in Agriculture for Growth Promotion, Biocontrol and Dry Tolerance. **ES Food & Agroforestry**, v. Volume 18 (December 2024), n. 0, p. 1321, 2024. DOI: 10.30919/esfaf1321.
- ALFENAS, A. C. **Clonagem e Doenças do Eucalipto**. 2ª edição. Viçosa: UFV, 2009.
- ALMEIDA, M. R. *et al.* Environmental control of adventitious rooting in Eucalyptus and Populus cuttings. **Trees**, v. 31, n. 5, p. 1377–1390, 2017. DOI: 10.1007/s00468-017-1550-6.

ALMEIDA, L. S. *et al.* Use of inoculant *Azospirillum brasilense* in the production of seedlings of Tenta Carolina | **Research, Society and Development.**, 2021. DOI: 10.1007/s00468-017-1550-6.

AL-TURKI, A. *et al.* Recent advances in PGPR-mediated resilience toward interactive effects of drought and salt stress in plants., **Frontiers** v. 14, 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1214845.

AMRUTHA, S. *et al.* Characterization of *Eucalyptus camaldulensis* clones with contrasting response to short-term water stress response. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 43, n. 1, p. 14, 2021. DOI: 10.1007/s11738-020-03175-0.

BACCARIN, F. J. B. *et al.* Vegetative rescue and cloning of *Eucalyptus benthamii* selected adult trees. **New Forests**, v. 46, n. 4, p. 465–483, 2015. DOI: /10.1007/s11056-015-9472-x.

BACKER, R. *et al.* Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1473, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01473.

BARTLETT, M. K. *et al.* Global analysis of plasticity in turgor loss point, a key drought tolerance trait. **Ecology Letters**, v. 17, n. 12, p. 1580–1590, 2014. DOI: 10.1111/ele.12374.

BAYLE, G. K. Ecological and social impacts of eucalyptus tree plantation on the environment. **Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management**. 2019. DOI: 10.3329/jbcm.v5i1.42189

BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. J.; BAKKER, P. A. H. M. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 8, p. 478–486, 2012. DOI: 10.1016/j.tplants.2012.04.001.

BHATTACHARYYA, A. *et al.* Rhizosphere plant-microbe interactions under water stress. In: **ADVANCES IN APPLIED MICROBIOLOGY**. Academic Press, 2021. v. 115, p. 65–113. DOI: 10.1016/bs.aambs.2021.03.001

BONATELLI, M. L. *et al.* Beneficial Plant-Associated Microorganisms From Semiarid Regions and Seasonally Dry Environments: A Review. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 553223, 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2020.553223.

BRAGA, A. P. A.; CRUZ, J. M.; DE MELO, I. S. Rhizobacteria from Brazilian semiarid biome as growth promoters of soybean (*Glycine max* L.) under low water availability. **Brazilian Journal of Microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. 53, n. 2, p. 873–883, 2022. DOI: 10.1007/s42770-022-00711-7.

BRONDANI, G. E. *et al.* Dynamics of adventitious rooting in mini-cuttings of *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 34, p. 169–178, 2012a. DOI: 10.4025/actasciagron.v34i2.13059.

BRONDANI, G. E. *et al.* Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* × *Eucalyptus dunnii*: (i) sobrevivência de minicepas e produção de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 1, p. 11–21, 2012b. DOI: 10.4025/actasciagron.v34i2.13059.

BRONDANI, G. E. *et al.* Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii*: efeito do genótipo, AIB, zinco, boro e coletas de brotações. **CERNE**, v. 20, p. 147–156, 2014. DOI: 10.1590/S0104-77602014000100018.

BRONDANI, G. E. *et al.* Mini-incubators improve the adventitious rooting performance of *Corymbia* and *Eucalyptus* microcuttings according to the environment in which they are conditioned. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 2409–2423, 2017. DOI: 10.1590/0001-3765201720170284.

BRONDANI, G. E. *et al.* Mini-incubators improve the adventitious rooting performance of *Corymbia* and *Eucalyptus* microcuttings according to the environment in which they are conditioned. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 2409–2423, 2018. DOI: 10.1590/0001-3765201720170284.

BRYANT, P. H. *et al.* Stem Anatomy and Adventitious Root Formation in Cuttings of Angophora, *Corymbia* and *Eucalyptus*. **Forests**, v. 6, n. 4, p. 1227–1238, 2015. DOI: 10.3390/f6041227.

- CANTABELLA, D. *et al.* Non-volatile signals and redox mechanisms are required for the responses of *Arabidopsis* roots to *Pseudomonas oryzae* habitats. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, n. 19, p. 6971–6982, 2022. DOI: 10.1093/jxb/erac346.
- CASTRO, V. R. *et al.* Efeito Da Aplicação Do Potássio, Do Sódio E Da Disponibilidade Hídrica Na Densidade Aparente A 12% De Umidade Do Lenho Juvenil De Árvores De *Eucalyptus grandis*. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 1017–1027, 2017. DOI: 10.5902/1980509828675.
- CHAÍN, J. M. *et al.* Growth promotion and protection from drought in *Eucalyptus grandis* seedlings inoculated with beneficial bacteria embedded in a superabsorbent polymer. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 18221, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-75212-4.
- CHIEB, M.; GACHOMO, E. W. The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. **BMC Plant Biology**, v. 23, n. 1, p. 407, 2023. DOI:10.1186/s12870-023-04403-8.
- CHOAT, B. *et al.* Triggers of tree mortality under drought. **Nature**, v. 558, n. 7711, p. 531–539, 2018. DOI: 10.1038/s41586-018-0240-x.
- COMPANT, S. *et al.* A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. **Journal of Advanced Research**, v. 19, p. 29–37, 2019. DOI: 10.1016/j.jare.2019.03.004
- CUNHA, J. de F.; ALFENAS, A. C. Avaliação Do Potencial De Rizobactérias Como Promotoras Do Crescimento De *Eucalyptus* Spp. nas Fases De Propagação Clonal. **Pensar Acadêmico**, v. 2, n. 1, p. 60–67, 2006. DOI: 10.21576/pa.2006v2i1.1043.
- CURVELO, C. R. S. *et al.* Microscopia eletrônica de varredura do processo infeccioso de *Ramularia areola* em folhas de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. 108–113, 2010. DOI: 10.1590/S1982-56762010000200006.
- DE ALMEIDA, M. R. *et al.* A análise transcricional comparativa fornece novas informações sobre a base molecular da recalcitrância do enraizamento adventício em *eucalipto*. **Plant Science**, v. 239, p. 155–165, 2015. DOI: 10.1016/j.plantsci.2015.07.022.
- DENG, C. *et al.* *Bacillus aryabhattai* LAD impacts rhizosphere bacterial community structure and promotes maize plant growth. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 14, p. 6650–6657, 2022. DOI: 10.1002/jsfa.12032.
- DIAS, P. C. *et al.* Tipo De Miniestaca E De Substrato Na Propagação Vegetativa De Angico-Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan). **Ciência Florestal**, v. 25, n. 4, p. 909–919, 2015. DOI: 10.5902/1980509820593.
- DÍAZ-SALA, C. Adventitious Root Formation in Tree Species. **Plants**, v. 10, n. 3, p. 486, 2021. DOI: 10.3390/plants10030486.
- DUAN, B. *et al.* 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase-Producing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Improve Drought Stress Tolerance in Grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Frontiers** v. 12, 2021. DOI: 10.3389/fpls.2021.706990.
- FANG, Y.; XIONG, L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS**, v. 72, n. 4, p. 673–689, 2014. DOI: 10.1007/s00018-014-1767-0.
- FELICE, F. E. F. de *et al.* Mini-cutting technique for the propagation of a *Eucalyptus camaldulensis* clone selected in a semiarid region. **Forest Systems**, v. 33, n. 3, p. 20905–20905, 2024. DOI: 10.5424/fs/2024333-20905.
- FENG, Z. *et al.* The role of the rhizobiome recruited by root exudates in plant disease resistance: current status and future directions. **Environmental Microbiome**, v. 19, n. 1, p. 91, 2024. DOI:10.1186/s40793-024-00638-6.
- FERNANDES, S. J. de O. *et al.* Período De Enraizamento de Miniestacas de Eucalipto Provenientes de Diferentes Lâminas De Irrigação Em Minijardim. **Ciência Florestal**, v. 28, p. 591–600, 2018. DOI: 10.5902/1980509832045.

FREIRE, F. G. C. *et al.* Estudo das precipitações máximas para o município de Mossoró - RN, Brasil. DOI: 10.7127/rbai.v6n100070. **Revista Brasileira De Agricultura Irrigada - Rbai**, v. 6, n. 1, 2013. DOI: 10.7127/rbai.v6n100070.

FUGA, C. A. G. *et al.* Growth promotion in maize (*Zea mays* L.) by *Bacillus aryabhattai* strain CMAA 1363. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 18, n. 3, p. e3340–e3340, 2023. DOI: 10.5039/agraria.v18i3a3340.

GAMALERO, E. *et al.* Saline and Arid Soils: Impact on Bacteria, Plants, and Their Interaction. **Biology**, v. 9, n. 6, 2020. DOI: 10.3390/biology9060116.

GAMALERO, E.; GLICK, B. R. Recent Advances in Bacterial Amelioration of Plant Drought and Salt Stress. **Biology**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 437, 2022. DOI: 10.3390/biology11030437.

GLICK, B. R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 3, p. 367–374, 2010. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2010.02.001.

GONÇALVES, J. L. de M. *et al.* Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations. **Forest Ecology and Management**, v. 301, Challenges and opportunities for sustainable management of eucalypt plantations, p. 6–27, 2013. DOI: 10.1016/j.foreco.2012.12.030.

GONZÁLEZ-MORALES, S. *et al.* Transcriptomics of Biostimulation of Plants Under Abiotic Stress. **Frontiers in Genetics**, v. 12, p. 583888, 2021. DOI: 10.3389/fgene.2021.583888.

GOSWAMI, D.; Thakker, Janki N.; AND DHANDHUKIA, P. C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 1127500, 2016. DOI: /10.1080/23311932.2015.1127500.

GOULART, P. B. *et al.* Morfoanatomia da rizogênese adventícia em miniestacas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, v. 24, p. 521–532, 2014. DOI: 10.1590/1980-509820142403001.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; FATHI ABD_ ALLAH, E. *Bacillus subtilis*: uma rizobactéria promotora do crescimento de plantas que também afeta o estresse biótico. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291–1297, 2019. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.05.004.

IBÁ. **Instituto Brasileiro de Florestas - IBF**. 2025. Disponível em: <https://www.ibflorestas.org.br/>. Acesso em: 21 jan. 2026.

JAKUBOWSKA, Z.; GRADOWSKI, M.; DOBRZYŃSKI, J. Role of plant growth-promoting bacteria (PGPB) in enhancing phenolic compounds biosynthesis and its relevance to abiotic stress tolerance in plants: a review. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 118, n. 9, p. 123, 2025. DOI: 10.1007/s10482-025-02130-8.

JANNAT, M. *et al.* Propagação vegetativa de Tali (*Palaquium polyanthum* Engl.) para colheita comercial e conservação da paisagem. **Rhizosphere**, v. 3, p. 9–12, 2017. DOI: 10.1016/j.rhisph.2016.11.003.

JHA, Y.; SUBRAMANIAN, R. PGPR regulate caspase-like activity, programmed cell death, and antioxidant enzyme activity in paddy under salinity | Physiology and Molecular Biology of Plants. **Springer Nature**. 2014. DOI:10.1007/s12298-014-0224-8.

KAUR, A.; MONGA, R. Eucalyptus Trees Plantation: A Review on Suitability and their Beneficial Role. **International Journal of Bio-resource and Stress Management**, v. 12, n. Feb, 1, p. 016–025, 2021. DOI: 10.23910/1.2021.2174.

KAVAMURA, V. N. *et al.* Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, v. 168, n. 4, p. 183–191, 2013. DOI: 10.1016/j.micres.2012.12.002.

KAZARINA, A. *et al.* Interaction of plant-derived metabolites and rhizobiome functions enhances drought stress tolerance. **Genome Biology**, v. 26, n. 1, p. 310, 2025. DOI: 10.1186/s13059-025-03778-1.

KJELDAHL, J. Kjeldahl, J. (1883) A New Method for the Determination of Nitrogen in Organic Matter. *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 22, 366-382. - References - **Scientific Research Publishing**. 1883. DOI: 10.1007/BF01338151.

KOTIYAL, P. B.; SHARMA, S. K. Alleviating Abiotic and Abiotic Stress, Enhancing Soil Fertility, and Growth of Forest Tree Species PGPR: A Review. **Asian Journal of Biology**, v. 20, n. 7, p. 1–16, 2024. DOI: 10.9734/ajob/2024/v20i7419.

KUMAR, A. *et al.* Physiological and environmental control of adventitious root formation in cuttings: An overview. In: Environmental, Physiological And Chemical Controls Of Adventitious Rooting In Cuttings. **Academic Press**, 2022. p. 1–24. DOI: 10.1016/B978-0-323-90636-4.00005-2.

KUPPUSAMY, S. *et al.* Miniestaquia - Uma ferramenta poderosa para a propagação clonal de espécies selecionadas de clones híbridos de *eucalyptus*, com base em estudos de produção de celulose. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, p. 101357, 2019. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101357.

LACLAU, J.-P. *et al.* Ciclos biogeoquímicos de nutrientes em plantações tropicais de *Eucalyptus*. **Forest Ecology and Management**, [s. l.], v. 259, n. 9, Productivity in Tropical Plantations, p. 1771–1785, 2010. DOI: 10.1016/j.foreco.2009.06.010

LAN, Y. *et al.* Synergistic effects of nitrogen and plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on the growth, physiological traits and nutrient absorption of intercropped *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* and *Dalbergia odorifera*. **Trees**, v. 37, n. 2, p. 319–330, 2023. DOI:10.1007/s00468-022-02350-9.

LI, S.-W. Molecular Bases for the Regulation of Adventitious Root Generation in Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021. DOI: 10.3389/fpls.2021.614072.

LICHTENTHALER, H. K.; BABANI, F. Light Adaptation and Senescence of the Photosynthetic Apparatus. Changes in Pigment Composition, Chlorophyll Fluorescence Parameters and Photosynthetic Activity. In: PAPAGEORGIOU, G. C.; GOVINDJEE (org.). Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Dordrecht: **Springer Netherlands**, 2004. p. 713–736. DOI:10.1007/978-1-4020-3218-9_28.

LIMA, M. S. de *et al.* Mini-cutting technique application in *Corymbia* and *Eucalyptus*: effects of mini-tunnel use across seasons of the year. **New Forests**, v. 53, n. 1, p. 161–179, 2022. DOI:10.1007/s11056-021-09851-4.

LIU, L. *et al.* Enigmatic role of auxin response factors in plant growth and stress tolerance. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, 2024. DOI: 10.3389/fpls.2024.1398818.

LIU, X.; MEI, S.; SALLES, J. F. Inoculated microbial consortia perform better than single strains in living soil: A meta-analysis. **Applied Soil Ecology**, v. 190, p. 105011, 2023. DOI: 10.1016/j.apsoil.2023.105011.

LOIOLA, Â. T. *et al.* Influência de fatores ambientais na sobrevivência e crescimento de procedências de *Eucalyptus tereticornis* no semiárido brasileiro. **Forest Ecology and Management**, v. 593, p. 122925, 2025. DOI: 10.1016/j.foreco.2025.122925 .

LOPES, J. L. W. *et al.* Estresse hídrico em plantio de *Eucalyptus grandis* vs. *Eucalyptus urophylla*, em função do solo, substrato e manejo hídrico de viveiro. **Revista Árvore** v. 35, p. 31–39, 2011a. DOI: 10.1590/S0100-67622011000100004.

MAATHUIS, F. J. Physiological functions of mineral macronutrients. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 3, Physiology and Metabolism, p. 250–258, 2009. DOI: 10.1016/j.pbi.2009.04.003.

MAFIA, R. G. *et al.* Root colonization and interaction among growth promoting rhizobacteria isolates and *Eucalyptus* species. **Revista Árvore**, v. 33, p. 1–9, 2009. DOI: 10.1590/S0100-67622009000100001.

MAY, A. *et al.* Induction of drought tolerance by inoculation of *Bacillus aryabhattai* on sugarcane seedlings. - **Portal Embrapa**. 2019. DOI: 10.15361/1984-5529.2019v47n4p400-410.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002. DOI: 10.1016/S1360-1385(02)02312-9.

MORAES, C. B. de *et al.* Variabilidade Genética Em Progenies De Meios-Irmãos De Eucaliptos Para Tolerância Ao Frio¹. **Revista Árvore**, v. 39, p. 1047–1054, 2015. DOI: 10.1590/0100-67622015000600007.

MUN, B.-G. *et al.* (PDF) The PGPR *Bacillus aryabhattai* promotes soybean growth via nutrient and chlorophyll maintenance and the production of butanoic acid. **ResearchGate**, v. 15, p. 1341993, 2024a. DOI: 10.3389/fpls.2024.1341993

MUN, B.-G. *et al.* The PGPR *Bacillus aryabhattai* promotes soybean growth via nutrient and chlorophyll maintenance and the production of butanoic acid. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, 2024b. DOI: 10.3389/fpls.2024.1341993.

NADEEM, S. M. *et al.* Plant–Microbe Interactions for Sustainable Agriculture: Fundamentals and Recent Advances. In: ARORA, N. K. (org.). **Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances**. New Delhi: Springer India, 2013. p. 51–103. DOI:10.1007/978-81-322-1287-4_2.

NESHAT, M. *et al.* Bactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPR) induzem tolerância antioxidante contra o estresse salino por meio de mecanismos bioquímicos e fisiológicos. *Fisiologia e Biologia Molecular de Plantas* **Springer Nature** .2022. DOI: 10.1007/s12298-022-01128-0.

NWIGWE, C.; FOSSEY, A.; DE SMIDT, O. Effects of Plant Growth Promoting Rhizospheric Bacteria (PGPR) on Survival, Growth and Rooting Architecture of Eucalyptus Hybrid Clones. **Forests**, v. 14, n. 9, p. 1848, 2023. DOI: 10.3390/f14091848.

OLANREWAJU, O. S.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 33, n. 11, p. 197, 2017. DOI: 10.1007/s11274-017-2364-9.

OLIVEIRA, G. *et al.* Eficiência De Utilização De Nitrogênio Por *Eucalyptus Urophylla* Sob Sistema De Reforma E Talhadia. **9º Congresso Florestal Brasileiro**, v. 1, n. 1, p. 400–403, 2022. DOI:10.55592/CFB.2022.2619159

OLIVEIRA, L. S. de *et al.* Enraizamento de miniestacas e microestacas de clones de *Eucalyptus urophylla* x *E. globulus* e de *Eucalyptus grandis* x *E. globulus*. 2012.

OMAE, N.; TSUDA, K. Plant-Microbiota Interactions in Abiotic Stress Environments. **Molecular Plant-Microbe Interactions®**, v. 35, n. 7, p. 511–526, 2022. DOI: 10.1094/MPMI-11-21-0281-FI

ONU. **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável | As Nações Unidas no Brasil.**, 2015. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 21 jan. 2026.

OROZCO-MOSQUEDA, Ma. del C.; GLICK, B. R.; SANTOYO, G. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt stress in crops. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 235, p. 126439, 2020. DOI: 10.1016/j.micres.2020.126439.

OTIENDE, M. A. *et al.* Envolvimento da homeostase auxina-citocinina na formação de raízes adventícias em estacas de rosa, influenciada pela posição nodal na planta-mãe. **Springer Nature**. 2021. DOI: 10.1007/s00425-021-03709-x.

PANTIGOSO, H. A.; NEWBERGER, D.; VIVANCO, J. M. The rhizosphere microbiome: Plant–microbial interactions for resource acquisition. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 133, n. 5, p. 2864–2876, 2022. DOI: 10.1111/jam.15686.

PARK, Y.-G. *et al.* *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PLOS ONE**, v. 12, n. 3, p. e0173203, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0173203.

PATÍÑO, M. S. C. *et al.* Propagation of juvenile cuttings of clones of (tropical *Eucalyptus*) *Eucalyptus urugrandis*: Examination of the role of auxins in adventitious rooting. v. 13, 2022. DOI: 10.47750/pnr.2022.13.03.065.

- PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Regulation of indoleacetic acid production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by tryptophan and the stationary-phase sigma factor RpoS. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 7, p. 635–642, 2002. DOI: 10.1139/w02-053.
- PERALTA, K. D. *et al.* Production of phytohormones, siderophores and population fluctuation of two root-promoting rhizobacteria in *Eucalyptus globulus* cuttings. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, , v. 28, n. 5, p. 2003–2014, 2012. DOI:10.1007/s11274-012-1003-8.
- PINHEIRO, E. S. *et al.* Effects of planting density on characteristics of sabiá wood. **Revista Caatinga**, v. 37, p. e11927, 2024. DOI: 10.1590/1983-21252024v3711927rc
- RAASCH, L. D.; BONALDO, S. M.; OLIVEIRA, A. A. F. de. *Bacillus subtilis*: rooting and growth of eucalyptus mini-cuttings in Sinop, northern Mato Grosso. **Bioscience Journal**, v. 29, p. 1446–1457, 2013.
- RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ABD_ALLAH, E. F. *Bacillus*: A Biological Tool for Crop Improvement through Bio-Molecular Changes in Adverse Environments. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 2017. DOI: 10.3389/fphys.2017.00667.
- RAJKUMAR, M. *et al.* Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 6, p. 1562–1574, 2012. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2012.04.011.
- RAN, L. X.; LIU, C. Y.; WU, G. J.; VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M. Suppression of bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp. in China. **Biological Control**, v. 32, n. 1, p. 111–120, 2005. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.08.007.
- RASHID, U. *et al.* Drought-tolerant *Bacillus megaterium* isolated from semi-arid conditions induces systemic tolerance of wheat under drought conditions. **Plant Cell Reports**, v. 41, n. 3, p. 549–569, 2022. DOI: 10.1007/s00299-020-02640-x.
- REN, H. *et al.* Responses of soil enzyme activities and plant growth in a eucalyptus seedling plantation amended with bacterial fertilizers. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 6, p. 1381–1396, 2020. DOI:0.1007/s00203-020-01849-4.
- ROSA, M. *et al.* Soluble sugars--metabolism, sensing and abiotic stress: a complex network in the life of plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, n. 5, p. 388–393, 2009. DOI: 10.4161/psb.4.5.8294
- SÁ, L. C. de *et al.* Estresse hídrico e salino no crescimento inicial de mudas de *Toona ciliata* var. *australis*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 43, 2023. DOI: 10.4336/2023.pfb.43e202002108.
- SANSINENEA, E. *Bacillus* spp.: As Plant Growth-Promoting Bacteria. Cingapura: **Springer**, 2019. p. 225–237. DOI: 10.1007/978-981-13-5862-3_11.
- SANTOS, A. de A. *et al.* Antioxidant response of cowpea co-inoculated with plant growth-promoting bacteria under salt stress. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 513–521, 2018. DOI: 10.1016/j.bjm.2017.12.003.
- SANTOS, T. A. *et al.* Growth of Tree Species in Coexistence with Palisade Grass *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf CV. Marandu. **Planta Daninha**, v. 37, p. e019178812, 2019. DOI: 10.30969/acsa.v15i3.1185.
- SANTOS, E. M. dos *et al.* Interação Das Lâminas De Irrigação Com Bactérias Promotoras Do Crescimento Vegetal em Plantas de Eucalipto. **Simpósio de Ciências Florestais**, v. 1, 2023. DOI: 10.17765/2176-9168.2023v16n3e10704.
- SANTOS, A. R. D. *et al.* Mini-Cuttings Technique For Vegetative Propagation Of *Dalbergia nigra*. **CERNE**, v. 26, n. 4, p. 427–434, 2020. DOI: 10.1590/01047760202026042749.
- SANTOS, E.; FERREIRA, J. Crescimento E Desenvolvimento De Plantas de Eucalipto Submetidas A Inoculação De Bactérias Diazotróficas e Estresse Hídrico. **Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica**, v. 3, 2024. DOI: 10.3390/cli12030043.

- SANTOYO, G. Advances in the Plant Microbiome: Rhizosphere, Endosphere, and Phyllosphere. **Microorganisms**, v. 13, n. 11, 2025. DOI: 10.3390/microorganisms13112581.
- SANTOYO, G. *et al.* Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92–99, 2016. DOI: 10.1016/j.micres.2015.11.008
- SANTOYO, G. *et al.* Rhizosphere Colonization Determinants by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). **Biology**, v. 10, n. 6, p. 475, 2021. DOI: 10.3390/biology10060475.
- SHAFI, Z.; SHAHID, M. Root exudates as molecular architects shaping the rhizobacterial community: A review. **Rhizosphere**, v. 36, p. 101212, 2025. DOI: 10.1016/j.rhisph.2025.101212.
- SHARMA, V. *et al.* A Comprehensive Review Uncovering the Challenges and Advancements in the In Vitro Propagation of Eucalyptus Plantations. **Plants**, v. 12, n. 17, p. 3018, 2023. DOI: 10.3390/plants12173018.
- SHIN, D. J. *et al.* Effect of *Bacillus aryabhattai* H26-2 and *B. siamensis* H30-3 on Growth Promotion and Alleviation of Heat and Drought Stresses in Chinese Cabbage. **The Plant Pathology Journal**, v. 35, n. 2, p. 178–187, 2019. DOI: 10.5423/PPJ.NT.08.2018.0159.
- SIDDIKA, A. *et al.* Aproveitando as rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, *Bacillus subtilis* e *B. aryabhattai*, para combater o estresse salino no arroz: um estudo sobre a regulação da defesa antioxidante, homeostase iônica e parâmetros fotossintéticos. **Frontiers** v. 15, 2024. DOI: 10.3389/fpls.2024.1419764.
- SINGH, A. *et al.* Phyto-microbiome to mitigate abiotic stress in crop plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1210890, 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1210890
- SINGINI, E. J.; ECKERT, M.; DREW, D. Respostas fisiológicas e morfológicas do eucalipto à seca: uma revisão sistemática e meta-análise. **Forest Ecology and Management**, v. 602, p. 123389, 2026. DOI: 10.1016/j.foreco.2025.123389.
- SOUSA, H. C. *et al.* *Bacillus aryabhattai* Mitigates the Effects of Salt and Water Stress on the Agronomic Performance of Maize under an Agroecological System. **Agriculture**, v. 13, n. 6, p. 1150, 2023. DOI: 10.3390/agriculture13061150.
- STRINGLIS, I. A. *et al.* Root transcriptional dynamics induced by beneficial rhizobacteria and microbial immune elicitors reveal signatures of adaptation to mutualists - Stringlis - 2018 - **The Plant Journal - Wiley Online Library**. 2017. DOI: 10.1111/tpj.13741.
- STUEPP, C. A. *et al.* The Use of Auxin Quantification for Understanding Clonal Tree Propagation. **Forests**, v. 8, n. 1, p. 27, 2017. DOI: 10.3390/f8010027.
- STUEPP, C. A. *et al.* Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, p. 985–1002, 2018. DOI: 10.1590/S0100-204X2018000900002.
- TEIXEIRA, D. A. *et al.* Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 118–123, 2007a. DOI: 10.1590/S1517-83822007000100025
- TEIXEIRA, D. A. *et al.* SciELO Brasil - Rhizobacterial promotion of *Eucalyptus* rooting and growth Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth. [s. l.], 2007b. DOI: 10.1590/S1517-83822007000100025.
- TRUEMAN, S. J.; HUNG, C. D.; WENDLING, I. Tissue culture of *Corymbia* and *Eucalyptus*. 2018. DOI: 10.3390/f9020084.
- TURNER, J.; LAMBERT, M. J. Ciclagem de nutrientes em sequências etárias de duas espécies de plantação de eucalipto. **Forest Ecology and Management**, v. 255, n. 5, p. 1701–1712, 2008. DOI: 10.1016/j.foreco.2007.11.038.
- VELLINI, A. L. T. T. *et al.* Respostas fisiológicas de diferentes clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação. **Revista Árvore**, v. 32, p. 651–663, 2008. DOI: 10.1590/S0100-67622008000400006.

- VENDRUSCOLO, J. *et al.* Monitoring desertification in semiarid Brazil: Using the Desertification Degree Index (DDI). **Land Degradation & Development**, v. 32, n. 2, p. 684–698, 2021. DOI: 10.1002/ldr.3740.
- VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 255, n. 2, p. 571–586, 2003. DOI:10.1023/A:1026037216893.
- VILASBOA, J.; COSTA, C. T. D.; 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, p. 3281, 2022. DOI: 10.3390/plants11233281.
- VURUKONDA, S. S. K. P. *et al.* Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016. DOI: 10.1016/j.micres.2015.12.003.
- WANG, S. S. *et al.* Estudo sobre bactérias promotoras de resistência à seca em plantas da espécie *Populus euphratica*, árvore que vive em área árida. *Indian Journal of Microbiology*, **Springer Nature**. 2014. DOI:10.1007/s12088-014-0479-3.
- WANKHADE, A. *et al.* A Review of Plant–Microbe Interactions in the Rhizosphere and the Role of Root Exudates in Microbiome Engineering. **Applied Sciences**, v. 15, n. 13, 2025. DOI: 10.3390/app15137127.
- WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry—part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. **New Forests**, v. 45, n. 4, p. 473–486, 2014. DOI:10.1007/s11056-014-9415-y.
- WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e ds miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 29, p. 921–930, 2005. DOI: 10.1590/S0100-67622005000600011.
- WU, L. *et al.* **Fronteiras** | Editorial: Interações na rizosfera: exsudatos radiculares e o microbioma da rizosfera. 2023. DOI: 10.3389/fpls.2023.1281010
- WU, X. *et al.* (PDF) Differentiating drought legacy effects on vegetation growth over the temperate Northern Hemisphere. **ResearchGate**, 2017. DOI: 10.1111/gcb.13920.
- XIA, Y. *et al.* Screening plant growth-promoting bacteria from the rhizosphere of invasive weed *Ageratina adenophora* for crop growth. **PeerJ**, v. 11, p. e15064, 2023. DOI: 10.7717/peerj.15064.
- XU, H. *et al.* Bactéria endofítica *Bacillus aryabhattai* induz novas alterações transcriptômicas para estimular o crescimento de plantas | **PLOS One**. 2022. DOI:
- XU, L. *et al.* Enhancing drought resistance in *Pinus tabulaeformis* seedlings through root symbiotic fungi inoculation. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, 2024. DOI: 10.1371/journal.pone.0272500.
- YAMATANI, H. *et al.* Genetic analysis of chlorophyll synthesis and degradation regulated by BALANCE of CHLOROPHYLL METABOLISM. **Plant Physiology**, v. 189, n. 1, p. 419–432, 2022. DOI: 10.1093/plphys/kiac059
- YANG, C.-X. *et al.* Plant exudates-driven microbiome recruitment and assembly facilitates plant health management. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 49, p. fuaf008, 2025. DOI: 10.1093/femsre/fuaf008.
- ZAIB, S. *et al.* Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Reduce Adverse Effects of Salinity and Drought Stresses by Regulating Nutritional Profile of Barley - Zaib - 2023 - Applied and Environmental Soil Science - **Wiley Online Library**. 2023. DOI:10.1155/2023/7261784.
- ZARPELON, T. G. *et al.* Rhizobacterial characterization for quality control of *Eucalyptus* biogrowth promoter products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 973–979, 2016. DOI: 10.1016/j.bjm.2016.07.01.
- ZHANG, R.; SHEN, Q.; VIVANCO, J. M. The unseen rhizosphere root–soil–microbe interactions for crop production. **Current Opinion in Microbiology**, v. 37, p. 8–14, 2017. DOI: 10.1016/j.mib.2017.03.008.

ZHOU, X. *et al.* Interspecific plant interaction via root exudates structures the disease suppressiveness of rhizosphere microbiomes. **Molecular Plant**, v. 16, n. 5, p. 849–864, 2023. DOI: 10.1016/j.molp.2023.03.009.

ZHOU, S.-X.; MEDLYN, B. E.; PRENTICE, I. C. O estresse hídrico prolongado leva à aclimação da sensibilidade à seca na capacidade fotossintética de espécies de eucalipto xéricas, mas não ripárias | *Annals of Botany* | **Oxford Academic**. 2015. DOI: 10.1093/aob/mcv161.

APENDICE A

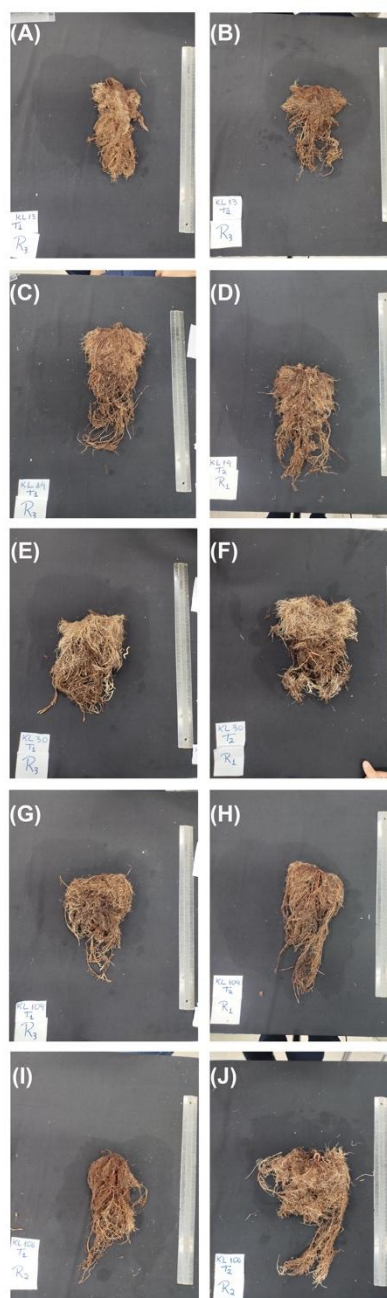


Figura 21. Aspecto morfológico do sistema radicular de cinco genótipos de *Eucalyptus spp.* submetidos aos tratamentos Controle e Inoculado com *Bacillus aryabhattai*. Colunas: (A, C, E, G, I) Tratamento Controle (não inoculado) para os genótipos G13, G14, G30, 104 e 106, respectivamente, apresentando sistema radicular com menor volume e menor densidade de raízes finas. (B, D, F, H, J) Tratamento Inoculado com *B. aryabhattai* para os genótipos G13, G14, G30, 104 e 106, respectivamente, evidenciando maior volume radicular, maior proliferação de raízes laterais.