

## Eficiência do uso de bioestimulantes para a produção de mudas de Ipê-roxo (*Handroanthus impetiginosus* Mart.)

Julia Isabella de Matos Rodrigues<sup>1</sup> José Rozendo de Lima Silva<sup>2</sup> Marcos Alexandre Vieira Nascimento Filho<sup>2\*</sup> Luana Rodrigues Vieira<sup>2</sup> Francisco de Assis Oliveira<sup>1,2</sup> Gisele da Silva Barata<sup>2,3</sup> Walmer Bruno Rocha Martins<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Belém - Pará, Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto de Ciências Agrárias, Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Belém - Pará, Brasil

<sup>3</sup> Universidade Federal Rural da Amazônia, Departamento de Engenharia Florestal, R. Profa. Antônia Cunha, s/n, Capitão Poço - Pará, Brasil

### Original Article

#### \*Corresponding author:

marcosnascimento1232@gmail.com

#### Palavras-chave:

Muda florestal

Inoculação de microrganismos

Desempenho vegetal

#### Keywords:

Forest seedling

Inoculation of microorganisms

Plant performance

#### Received in

2023/05/05

#### Accepted on

2023/11/27

#### Published in

2023/12/31



DOI:

<http://dx.doi.org/10.34062/afs.v10i4.15431>

**RESUMO:** *Handroanthus impetiginosus* Mart., popularmente conhecido como ipê-roxo, é uma espécie florestal nativa da Amazônia com múltiplas funcionalidades, por isso, estratégias que possam otimizar a produção de mudas dessa espécie são indispensáveis, como o uso de bioestimulantes de crescimento. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de mudas de *H. impetiginosus* após inoculação de microrganismos promotores de crescimento. Quatro tratamentos foram testados, sendo três com inoculação de microrganismos (R46 = *Burkholderia pyrrocinia*; R92 = *Bacillus subtilis* e MIX = quatro isolados de *Trichoderma asperellum*) e um sem inoculação, considerado como referência (CTL). A inoculação ocorreu 14 dias após a germinação e as medições dos parâmetros avaliados ocorreram após 60 dias. Para altura, diâmetro do coleto e Índice de Qualidade de Dickson, apenas os tratamentos R92 e MIX foram superiores ao CTL. O teor de clorofila não diferiu entre os tratamentos. A análise de Cluster evidenciou a semelhança entre R92 e MIX. A inoculação de microrganismos resultou no aumento na massa fresca de raiz. Acreditamos que as propriedades antimicrobianas da espécie florestal podem ter inibido os efeitos de R46, enquanto que para R92 os benefícios puderam ser notados, pois *H. impetiginosus* libera exudatos que atraem a bactéria. Os efeitos positivos e relevantes do MIX podem ser explicados pela capacidade do fungo em produzir ácido indol-3-acético. Assim, esse estudo destacou a eficiência de bioestimulantes para a produção de mudas de *H. impetiginosus* e recomenda-se o uso de *B. subtilis* e *T. asperellum* como estratégia para aperfeiçoar a prática.

### Efficiency of the use of biostimulants for the production of Ipê-roxo seedlings (*Handroanthus impetiginosus* Mart.)

**ABSTRACT:** *Handroanthus impetiginosus* Mart., commonly known as “ipê-roxo”, is a native forest species of the Amazon with multiple functionalities; hence, strategies that can optimize seedling production of this species are indispensable, such as the use of growth-promoting biostimulants. Therefore, the objective of this study was to evaluate the growth of *H. impetiginosus* seedlings after inoculation with growth-promoting microorganisms. Four treatments were tested, three with microorganism inoculation (R46 = *Burkholderia pyrrocinia*; R92 = *Bacillus subtilis*; and MIX = four isolates of *Trichoderma asperellum*) and one without inoculation, considered as a control (CTL). Inoculation took place 14 days after germination, and measurements of the evaluated parameters occurred after 60 days. For height, stem diameter, and Dickson's Quality Index, only treatments R92 and MIX were superior to CTL. Chlorophyll content did not differ among treatments. Cluster analysis revealed similarity between R92 and MIX. Microorganism inoculation resulted in an increase in root fresh mass. We believe that the antimicrobial properties of the forest species may have inhibited the effects of R46, whereas for R92, benefits could be observed because *H. impetiginosus* releases exudates that attract the bacterium. The positive and relevant effects of MIX can be explained by the fungus's ability to produce indole-3-acetic acid. Thus, this study highlighted the efficiency of biostimulants for the production of *H. impetiginosus* seedlings, and the use of *B. subtilis* and *T. asperellum* is recommended as a strategy to enhance the practice.

## Introdução

No cenário mundial, os alertas acerca dos impactos provenientes da mudança na cobertura do solo para a manutenção dos serviços ecossistêmicos estimulam a criação de estratégias voltadas para a recuperação de áreas degradadas (Mataveli et al. 2021; Guerra et al. 2020). Na Amazônia, isso é ainda mais urgente, já que o bioma é responsável pela regulação do clima global (López 2022). Assim, a escolha de métodos eficientes é uma etapa fundamental, pois é capaz de otimizar o tempo e recursos destinados para a restauração (Barbosa et al. 2022), onde em escala mundial, o plantio de mudas é o método mais usual (Martins et al. 2020a).

Para o plantio, espécies do gênero *Handroanthus* (família bignoniaceae), especialmente *H. impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos, popularmente conhecido como ipê-roxo, apresentam elevado potencial de restauração, sendo recomendada como estratégia de enriquecimento (Martins et al. 2020b). A espécie apresenta sementes do tipo ortodoxa, as quais resistem à dessecação de até 5% do teor de água sem reduzir a qualidade fisiológica (Martins et al. 2011). Somado a isso, a floração de cor roxa torna a espécie atrativa para o uso na arborização urbana (Bacelar et al. 2020, Paiva et al. 2022), enquanto as propriedades medicinais podem ser utilizadas para o tratamento do câncer, inflamações e infecções (Ryan et al. 2021).

No entanto, a produção de mudas nativas na região amazônica é um dos principais gargalos, devido à baixa disponibilidade de viveiros legalizados e com capacidade para produção em larga escala (Martins et al., 2022). Outra limitação no setor florestal é o tempo despendido para o crescimento das mudas, por isso, a utilização de bioestimulantes caracteriza-se como uma alternativa viável para a produção de mudas florestais, especialmente por meio da inoculação de microrganismos promotores de crescimento (Hoyos-Carvajal et al. 2009, Silva et al. 2020). Fungos *Trichoderma asperellum* e as rizobactérias *Bacillus subtilis* e *Burkholderia pyrocinia* vêm sendo amplamente utilizadas para a produção de mudas florestais (Machado et al. 2015, Liu et al. 2022, Admasu et al. 2023), visto que estes se destacam por estimular o crescimento de raízes, além de estabelecer relações mutualísticas com as plantas, favorecendo os incrementos em altura e diâmetro (López-Bucio et al. 2015, Saia et al. 2019). No entanto, estudos dessa magnitude voltados para a *H. impetiginosus* ainda são limitados.

Diante disso, a hipótese inicial foi de que os microrganismos bioestimulantes interagem com a planta e favorecem o desenvolvimento vegetal, sem diferir quanto a eficiência na produção de mudas de *Handroanthus impetiginosus* Mart. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de mudas de *H. impetiginosus* após inoculação de

diferentes microrganismos promotores de crescimento.

## Material e métodos

### Área de estudo

O experimento foi conduzido em ambiente semi-controlado, na unidade de produção de mudas da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) (01° 27'25" S, 48° 26'36" O) em Belém - PA. O clima regional de acordo com a classificação de Köppen é Af (Alvares et al. 2013). Os isolados microbianos utilizados neste estudo foram provenientes da coleção de microrganismos pertencente ao Laboratório de Proteção de Plantas (LPP) da instituição supracitada, onde atualmente estão preservados e armazenados.

### Isolados microbianos

As bactérias *Bacillus subtilis* UFRA-92 (GenBank MN175193) e *Burkholderia pyrocinia* (BRM32113) foram isoladas. Além disso, quatro isolados do fungo *Trichoderma asperellum* (UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52) foram isolados de solos rizosféricos de áreas reflorestadas e de florestas nativas na Amazônia e testados para promoção do crescimento vegetal. *B. subtilis* e *B. pyrocinia* foram cultivadas em meio sólido 523 (Kado and Heskett 1970) por 24 h a 28 °C e posteriormente, as suspensões bacterianas foram preparadas com água esterilizada, com concentração ajustada em espectrofotômetro para 550 nm, correspondendo a 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônias. Os isolados de *T. asperellum* foram cultivados em meio de cultura BDA a ± 28°C, com fotoperíodo de 12 h por sete dias. Em seguida, as suspensões foram preparadas com água esterilizada e a concentração ajustada para 6 × 10<sup>8</sup> conídios mL<sup>-1</sup>.

### Design experimental e coleta de dados

Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com 4 tratamentos, sendo 3 com aplicação de microrganismos promotores de crescimento (R46 = *Burkholderia pyrocinia*; R92 = *Bacillus subtilis* e MIX = quatro isolados de *Trichoderma asperellum*), e 1 tratamento referência, ou seja, sem aplicação de microrganismos (CTL). Para cada tratamento, utilizamos sete repetições. As sementes de *H. impetiginosus* foram lavadas com água destilada e em seguida, semeadas em tubetes contendo solo coletado na camada 0 - 20 cm no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural da Amazônia, o qual é classificado como Latossolo Amarelo Distrófico de textura franco-arenosa e apresenta 14,6 g kg<sup>-1</sup> de matéria orgânica (Costa et al. 2022). A inoculação dos microrganismos foi realizada por meio de rega, 14 dias após a emergência das plântulas, onde cada tubete recebeu

uma suspensão de 5 ml. Após 60 dias da emergência de plântulas, com uma régua medimos altura das mudas (cm), com um paquímetro digital, o diâmetro do coleto (mm) e para o teor de clorofila utilizamos um clorofilômetro. A massa fresca da parte aérea e raiz foram pesada em balança de precisão, e posteriormente, secada em estufa (60 °C) por 48 h e obtida a massa seca. Com os dados obtidos foi possível calcular o Índice de Qualidade de Dickson (IQD), seguindo Dickson et al. (1960) (Eq. 1).

$$IQD = \frac{MST}{\left(\frac{H}{DC}\right) + RPAR} \quad Eq. 1$$

Onde: IQD = Índice de Qualidade de Dickson; MST = Massa seca total (g); H = Altura total da muda

(cm); DC = Diâmetro do coleto (cm); RPAR = Relação parte aérea-raiz.

### Resultados e discussão

As médias de altura variaram de  $9,30 \pm 0,76$  cm a  $12,30 \pm 1,20$  cm para CTL e MIX, respectivamente (Fig. 1A), e apenas R46 não foi maior do que o CTL ( $F_{(3;16)} = 9,42; p > 0,05$ ). Para o diâmetro do coleto, as médias de R92 ( $4,11 \pm 0,30$  mm) e MIX ( $4,06 \pm 0,30$  mm) foram maiores ( $F_{(3;16)} = 5,81; p < 0,05$ ) do que o CTL, enquanto que R46 ( $3,77 \pm 0,12$  mm) não diferiu entre os tratamentos (Fig. 1B). O teor de clorofila não diferiu entre os tratamentos ( $F_{(3;16)} = 2,19; p = 0,129$ ), embora as médias tenham variado de  $33,50 \pm 4,24 \mu\text{g cm}^{-2}$  a  $41,62 \pm 5,17 \mu\text{g cm}^{-2}$  para CTL e MIX, respectivamente (Fig. 1C). Para o índice de Dickson, a média de CTL ( $0,12 \pm 0,02$ ) foi estatisticamente menor do que R92 e MIX ( $F_{(3;16)} = 8,13; p < 0,05$ ), porém foi semelhante ao R46 ( $F_{(3;16)} = 8,13; p = 0,229$ ) (Fig. 2D).

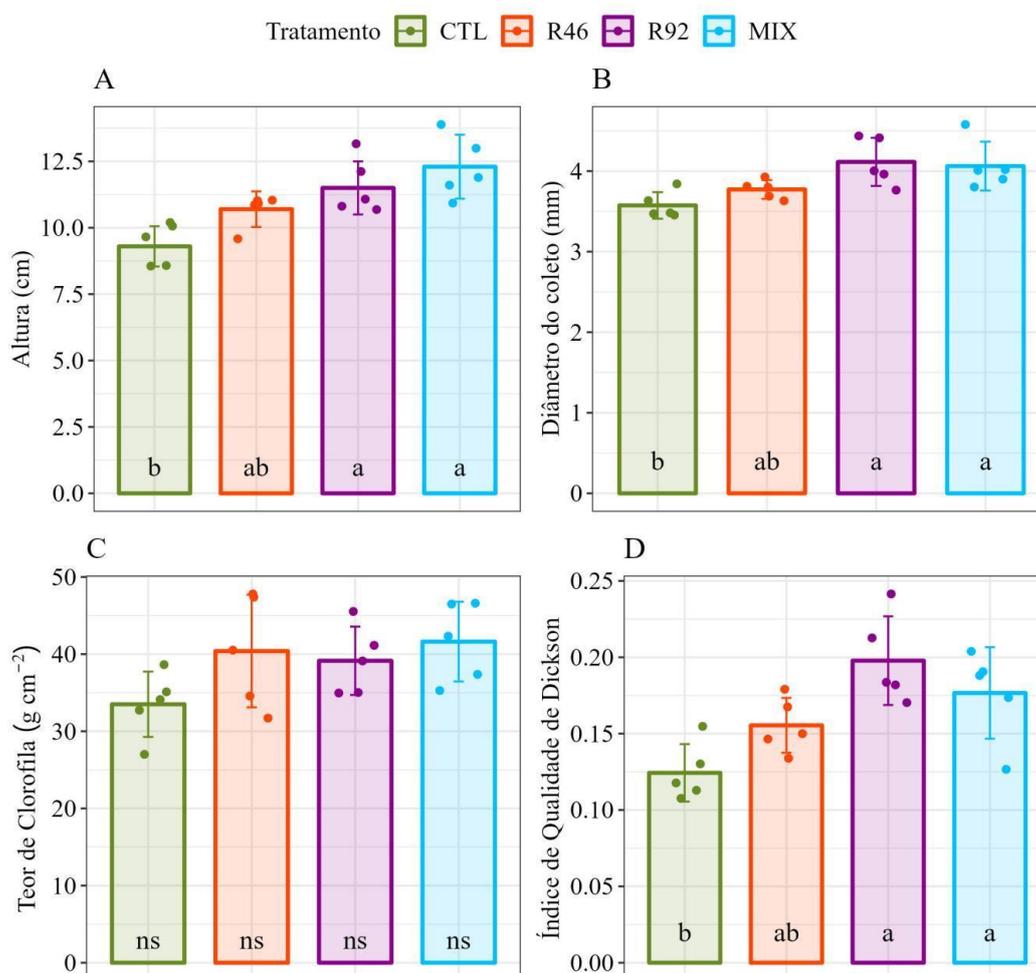


Figura 1. Média  $\pm$  sd da altura (A), diâmetro do coleto (B), teor de clorofila (C) e Índice de Qualidade do Dickson (D) de mudas de *Handroanthus impetiginosus* Mart. sob os tratamentos com inoculação de *Bacillus subtilis* (R92), *Burkholderia pyrrocinia* (R46) e mix de *Trichoderma asperellum* (MIX), e sem inoculação de microrganismos (CTL).

Com relação as variáveis biométricas como altura, diâmetro de colo os resultados obtidos corroboram a outros trabalhos realizados com espécies florestais (Brunetta et al., 2010, Raasch et al., 2013, Luciana et al., 2023). Também obtiveram resultados positivos com a inoculação de rizobactérias e fungos promotores de crescimento. Os tratamentos R92 e MIX obtiveram tanto uma maior altura quanto um diâmetro de colo, provavelmente devido a maior produção de hormônios do crescimento vegetal como as auxinas que estimulam o crescimento da planta (Hoyos-Carvajal et al., 2009). O melhor desempenho do tratamento MIX pode estar relacionado às alterações estruturais que o fungo pode prover à arquitetura e sistema radicular da planta, com o aumento tanto das raízes laterais quanto dos pelos radiculares, o que faz

com que essa maior absorção de nutrientes através das raízes ajude em um maior desenvolvimento da parte aérea (Asari et al., 2017). O aumento no diâmetro de coleto proporcionado é uma variável de grande relevância na avaliação de espécies florestais, estando diretamente relacionado a capacidade de translocação de solutos do sistema radicular para a parte aérea das mudas (Santos et al., 2017).

Para o IQD, diferentes valores podem ser considerados adequados, dependendo da espécie (Gomes et al. 2019), sendo que geralmente valores acima de 0,2 referem-se à mudas de boa qualidade de acordo com Hunt (1990), ou seja, com elevada robustez. Em nosso estudo, apenas o R92 apresentou média próxima a este valor, refletindo satisfatórios resultados visuais, especialmente devido à boa distribuição de biomassa (Fig. 2).



Figura 2. Mudanças de *Handroanthus impetiginosus* Mart. produzidas a partir dos tratamentos com inoculação de *Bacillus subtilis* (R92), *Burkholderia pyrrocinia* (R46) e mix de *Trichoderma asperellum* (MIX), e sem inoculação de microrganismos (CTL).

A ação eficiente nas variáveis biométricas de *Bacillus subtilis* (R92) pode ter ocorrido devido à capacidade de *H. impetiginosus* em liberar exudatos químicos que atraem essa bactéria, caracterizando-a como nativa da espécie florestal e, por conseguinte, favorecendo a produção de fitormônios relacionados ao crescimento vegetal (Yarte et al. 2022). De maneira geral, *B. subtilis* destaca-se como importante no desenvolvimento de mudas florestais, pois pode promover o aumento de até 88,4% na

germinação de sementes, tendo em vista incrementos no conteúdo de N e P total do solo, aumentando a estabilidade do composto e fortalecendo interações microbianas (Li et al. 2023), além de proporcionar a expansão do sistema radicular (Liu et al. 2022). A bactéria também confere resistência a estresses, como o salino (Woo et al. 2020) e o biótico (Hashem et al. 2019).

No caso do tratamento R46, embora a inoculação de *B. pyrrocinia* não tenha se

diferenciado do CTL, para a maioria das variáveis avaliadas, as cepas do *Burkholderia* sp. coexistem e combinam-se com outros fungos, estimulando principalmente incrementos em altura e massa (Xu et al. 2023), além de solubilizar fósforo e potássio (Baghel et al. 2020). No entanto, acreditamos que os efeitos para *H. impetiginosus* podem ter sido inibidos devido a propriedades antimicrobianas da

espécie florestal, proporcionada da produção de compostos orgânicos como  $\beta$ -lapachona (Gomes et al. 2021). Isso justifica os resultados da análise de cluster, que evidenciou três grupos, sendo que dois foram constituídos por apenas um tratamento cada (CTL e R46), enquanto R92 e MIX apresentaram características semelhantes quanto às variáveis analisadas, constituindo o outro grupo (Fig. 3)

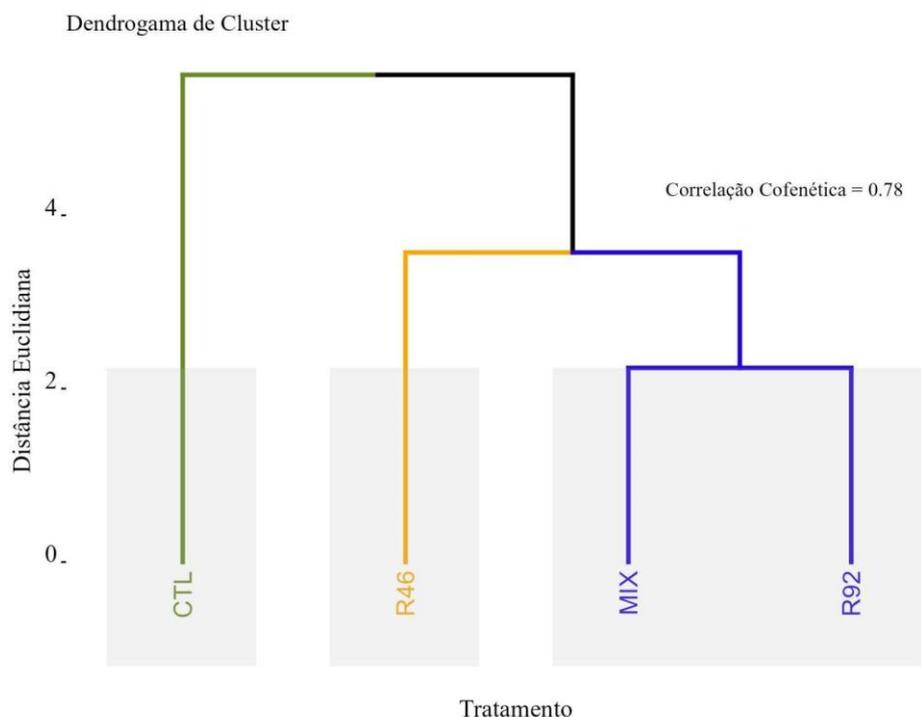


Figura 3. Análise de cluster para os tratamentos com inoculação de *Bacillus subtilis* (R92), *Burkholderia pyrrocinia* (R46) e mix de *Trichoderma asperellum* (MIX), e sem inoculação de microrganismos (CTL) em mudas de *Handroanthus impetiginosus* Mart.

Em relação à ação dos microrganismos no acúmulo de biomassa, a massa fresca aérea dos tratamentos R92 ( $1,92 \pm 0,45$  g) e MIX ( $2,34 \pm 0,12$  g) foi maior do que CTL e R46 ( $F_{(3;16)} = 18,91$ ;  $p < 0,01$ ), enquanto a massa fresca de raiz de todos os tratamentos foi maior do que o CTL ( $F_{(3;16)} = 22,79$ ;  $p < 0,05$ ), porém dentre os tratamentos com inoculação de microrganismos, o R46 apresentou a menor média ( $2,15 \pm 0,19$  g). Para a massa fresca total, MIX foi maior do que R46 ( $3,56 \pm 0,44$  g) e

CTL ( $2,73 \pm 0,37$  g), porém não diferiu de R92 ( $4,35 \pm 0,99$  g) (Fig. 4).

A massa seca da parte aérea de MIX ( $0,55 \pm 0,11$  g) foi maior do que em CTL ( $0,31 \pm 0,07$  g) e R46 ( $0,37 \pm 0,06$  g), enquanto que para raiz, os tratamentos com microrganismos não diferiram entre si e foram maiores que o CTL (Fig. 4). Por outro lado, a massa seca total de MIX ( $0,85 \pm 0,14$  g) e R92 ( $0,83 \pm 0,14$  g) foram maiores do que CTL ( $0,51 \pm 0,10$  g), não diferindo de R46 ( $0,65 \pm 0,08$  g, Fig. 4).

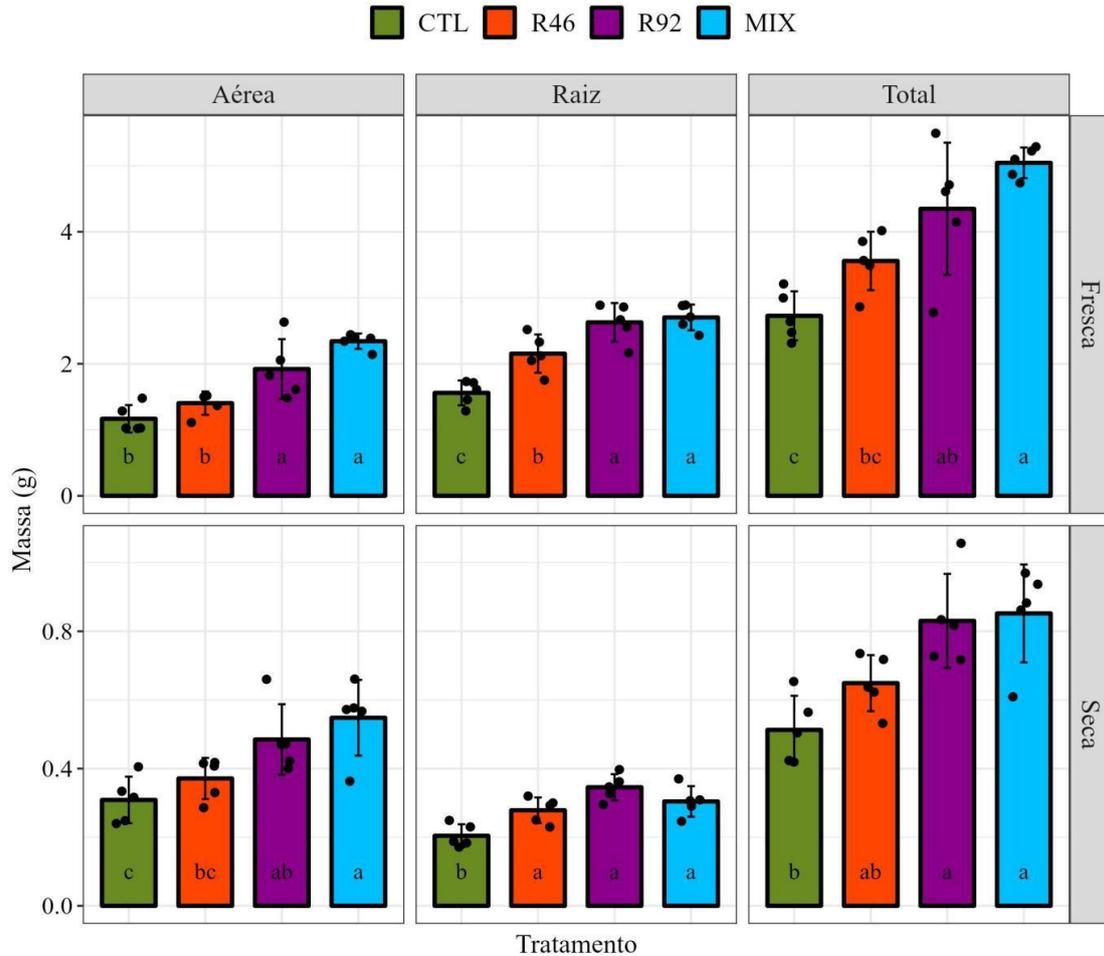


Figura 4. Média  $\pm$  sd da massa fresca e seca da parte aérea e da raiz de mudas de *Handroanthus impetiginosus* Mart. sob os tratamentos com inoculação de *Bacillus subtilis* (R92), *Burkholderia pyrrocinia* (R46) e mix de *Trichoderma asperellum* (MIX), e sem inoculação de microrganismos (CTL).

Constatamos que para *H. impetiginosus* o acúmulo de biomassa, tanto de parte aérea quanto de raiz, pode ser otimizado pela inoculação de *B. subtilis* e *T. asperellum*, já que *B. pyrrocinia* só apresentou efeito expressivo no acúmulo de massa seca de raiz, quando comparado ao controle. Os efeitos positivos e relevantes efeitos da inoculação do Mix de *T. asperellum* podem ser explicados pela capacidade do fungo em produzir de ácido indol-3-acético (AIA), o qual se caracteriza como um metabólito que estimula a produção de raízes e o acúmulo de biomassa da parte aérea (Contreras-Cornejo et al. 2022), devido à capacidade de regular a ação de H<sup>+</sup>-ATPase na membrana plasmática radicular (Olivares et al. 2017). Efeitos benéficos da aplicação do fungo também foram constatados para outras espécies florestais, tais quais *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S.Grose, *Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud. e *Cedrela fissilis* Vell. (Santos et al. 2020, Griebeler et al. 2021). Somado a isso, *Trichoderma* sp. desempenha uma função antifúngica, com controle eficaz de *Lasioidiplodia theobromae* e *Neofusicoccum parvum* (Admasu et al. 2023) os

quais causam podridão do caule e acometem espécies florestais nativas da Amazônia (i.e. *Ceiba pentandra* L. Gaertn., *Couroupita guianensis* Aubl., *Hura crepitans* L. e *Hymenaea courbaril* L.) (Hanada et al. 2003). Os benefícios proporcionados no crescimento inicial de mudas podem refletir no aumento da sobrevivência, garantindo maior sucesso do plantio e reduzindo custos relacionados ao replantio.

#### Conclusão

A inoculação de *Bacillus subtilis* e isolados de *Trichoderma asperellum* é eficiente no crescimento de mudas de *Handroanthus impetiginosus*, proporcionando maiores alturas, diâmetro do coleto e robustez às mudas, além de maior acúmulo de biomassa aérea e de raiz. No entanto, a *Burkholderia pyrrocinia* não proporcionou resultados expressivos em relação ao CTL para a maioria das variáveis.

## Agradecimentos

Aos laboratórios de Produção de Plantas (LPP) e de Manejo de Ecossistemas e Bacias Hidrográficas (LABECOS) da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, pela infraestrutura para análise e condução da pesquisa. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001, pela concessão de bolsa de mestrado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, destinada à primeira autora deste trabalho (processo 88887.716287/2022-00).

## Referências

- Admasu, W.; Sintayehu, A.; Gezahgne, A.; Terefework, Z. 2023. In vitro bioefficacy of *Trichoderma* species against two *Botryosphaeriaceae* fungi causing Eucalyptus stem canker disease in Ethiopia. *Journal of Natural Pesticide Research* 4: 100037. doi: 10.1016/j.napere.2023.100037
- Alvares, C.A.; Stape, J.L.; Sentelhas, P.C.; De Moraes Gonçalves, J.L.; Sparovek, G. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22: 711–728. doi: 10.1127/0941-2948/2013/0507
- Asari, S.; Tarkowská, D.; Rolčik, J.; Novák, O.; Palmero, D. V.; Bejai, S.; Meijer, J. Analysis of plant growth-promoting properties of *Bacillus amyloliquefaciens* UCMB5113 using *Arabidopsis thaliana* as host plant. *Planta*, v. 245, n. 1, p. 15–30, 2017.
- Bacelar, W.J.L.; Parry, M.M.; Herrera, R.C.; França, I.F.; Parry, S.M. 2020. Diagnóstico quali-quantitativo da arborização urbana da cidade de Monte Alegre, Pará, Brasil. *Ciência Florestal* 30: 1019–1031. doi: 10.5902/1980509838182.
- Baghel, V.; Thakur, J.K.; Yadav, S.S.; Manna, M.C.; Mandal, A.; Shirale, A.O.; et al. 2020. Phosphorus and Potassium Solubilization From Rock Minerals by Endophytic *Burkholderia* sp. Strain FDN2-1 in Soil and Shift in Diversity of Bacterial Endophytes of Corn Root Tissue with Crop Growth Stage. *Geomicrobiology Journal* 37: 550–563. doi: 10.1080/01490451.2020.1734691.
- Barbosa, R. de S.; Vale, R.S. do; Schwartz, G.; Martins, W.B.R.; Ribeiro, S.S.; Matos Rodrigues, J.I. de; et al. 2022. Restoration of degraded areas after bauxite mining in the eastern Amazon: Which method to apply? *Ecological Engineering* 180: 106639. doi: 10.1016/j.ecoleng.2022.106639.
- Bezerra, J.J.L.; Johanes, I.; Pinheiro, A.A.V. 2022. Anticancer potential and toxicity of the genus *Handroanthus* Mattos (Bignoniaceae): A systematic review. *Toxicon* 217: 131–142. doi: 10.1016/j.toxicon.2022.08.007.
- Brunetta, J. M. F. C.; Alfenas, A. C.; Mafia, R. G.; Gomes, J. M.; Binoti, D. B.; Fonseca, N. A. N. Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras do crescimento de *Pinus taeda*. *Revista Árvore*, v. 34, n. 3, p. 399–406, 2010.
- Contreras-Cornejo, H.A.; Orozco-Granados, O.; Ramírez-Ordorica, A.; García-Juárez, P.; López-Bucio, J.; Macías-Rodríguez, L. 2022. Light and mycelial injury influences the volatile and non-volatile metabolites and the biocontrol properties of *Trichoderma atroviride*. *Rhizosphere* 22: 100511. doi: 10.1016/j.rhisph.2022.100511.
- Costa, S.D.A. da; Cardoso, A.F.; Castro, G.L.S. de; Júnior, D.D. da S.; Silva, T.C. da; Silva, G.B. da. 2022. Co-Inoculation of *Trichoderma asperellum* with *Bacillus subtilis* to Promote Growth and Nutrient Absorption in Marandu Grass. *Applied and Environmental Soil Science* 2022: 1–13. doi: 10.1155/2022/3228594.
- Dickson, A.; Leaf, A.L.; Hosner, J.F. 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *The Forestry Chronicle* 36: 10–13. doi: 10.5558/tfc36010-1.
- Freitas, W.K. de; Magalhães, L.M.S.; Santana, C.A.A. de; Pereira Junior, E.R.; Souza, L. de C.M. de; Toledo, R.A.B.; et al. 2020. Tree composition of urban public squares located in the Atlantic Forest of Brazil: A systematic review. *Urban Forestry & Urban Greening* 48: 126555. doi: 10.1016/j.ufug.2019.126555.
- Gomes, C.L.; de Albuquerque Wanderley Sales, V.; Gomes de Melo, C.; Ferreira da Silva, R.M.; Vicente Nishimura, R.H.; Rolim, L.A.; et al. 2021. Beta-lapachone: Natural occurrence, physicochemical properties, biological activities, toxicity and synthesis. *Phytochemistry* 186: 112713. doi: j.phytochem.2021.112713.
- Gomes, S.H.M.; Gonçalves, F.B.; Ferreira, R.A.; Pereira, F.R.M.; Ribeiro, M.M. de J. 2019. Avaliação dos parâmetros morfológicos da qualidade de mudas de *Paubrasilia echinata* (paubrasil) em viveiro florestal. *Scientia Plena* 15. doi: 10.14808/sci.plena.2019.011701.
- Griebeler, A.M.; Araujo, M.M.; Tabaldi, L.A.; Steffen, G.P.K.; Turchetto, F.; Rorato, D.G.; et al. 2021. Type of container and *Trichoderma* spp. inoculation enhance the performance of tree species

- in enrichment planting. *Ecological Engineering* 169: 106317. doi: 10.1016/j.ecoleng.2021.106317.
- Haddad, T.M.; Pilon, N.A.L.; Durigan, G.; Viani, R.A.G. 2021. Restoration of the Brazilian savanna after pine silviculture: Pine clearcutting is effective but not enough. *Forest Ecology and Management* 491: 119158. doi: 10.1016/j.foreco.2021.119158.
- Hanada, R.E.; Sales-Campos, C.; Abreu, R.L.S. de; Pfenning, L. 2003. Fungos emboloradores e manchadores de madeira em toras estocadas em indústrias madeireiras no município de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica* 33: 483–488. doi: 10.1590/S0044-59672003000300013.
- Hashem, A.; Tabassum, B.; Fathi Abd Allah, E. 2019. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26: 1291–1297. doi: 10.1016/j.sjbs.2019.05.004.
- Hoyos-Carvajal, L.; Orduz, S.; Bissett, J. 2009. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control* 51: 409–416. doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.07.018.
- Hunt, G.A. 1990. *Effect of styroblock design and copper treatment on morphology of conifer seedlings*. Combined Meeting of the Western Forest Nursery Associations.
- Insfrán Ortiz, A.; Rey Benayas, J.M.; Cayuela, L. 2022. Establishment and Natural Regeneration of Native Trees in Agroforestry Systems in the Paraguayan Atlantic Forest. *Forests* 13: 2045. doi: 10.3390/f13122045.
- Kado, C.I.; Heskett, M.G. 1970. Selective media for isolation of agrobacterium, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60: 969. doi: 10.3390/f13122045.
- Li, H.; He, Y.; Yan, Z.; Yang, Z.; Tian, F.; Liu, X.; et al. 2023. Insight into the microbial mechanisms for the improvement of spent mushroom substrate composting efficiency driven by phosphate-solubilizing *Bacillus subtilis*. *Journal of Environmental Management* 336: 117561. doi: 10.1016/j.jenvman.2023.117561.
- Liu, Y.-M.; Zheng, F.; Liu, Z.-H.; Lan, H.-B.; Cui, Y.-H.; Gao, T.-G.; et al. 2022. Enhanced Root and Stem Growth and Physiological Changes in *Pinus bungeana* Zucc. Seedlings by Microbial Inoculant Application. *Forests* 13: 1836. doi: 10.3390/f13111836.
- López-Bucio, J.; Pelagio-Flores, R.; Herrera-Estrella, A. 2015. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae* 196: 109–123. doi: 10.1016/j.scienta.2015.08.043.
- López, S. 2022. Deforestation, forest degradation, and land use dynamics in the Northeastern Ecuadorian Amazon. *Applied Geography* 145: 102749. doi: 10.1016/j.apgeog.2022.102749.
- Luciano, D. D. O.; Licia, A.; Ferreira, L. (2023) *Bacillus* e *Trichoderma* como promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis* *Bacillus* and *Trichoderma* as growth promoters of *Eucalyptus urograndis* *Bacillus* y *Trichoderma* como promotores de crecimiento de *Eucalyptus urograndis*. *Research, Society and Development*, 12(2): 1–9. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i2.39509>
- Machado, D.F.M.; Tavares, A.P.; Lopes, S.J.; da Silva, A.C.F. 2015. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). *Revista Arvore* 39: 167–176. doi: 10.1590/0100-67622015000100016
- Martins, L.; Lago, A.A. do; Cicero, S.M. 2011. Qualidade fisiológica de sementes de *Tabebuia avellanedae* e *Tabebuia impetiginosa* submetidas à ultra-secagem. *Revista Brasileira de Sementes* 33: 626–634. doi: 10.1590/S0101-31222011000400004
- Martins, W.B.R.; Lima, M.D.R.; Barros, U.O.; Amorim, L.S.V.-B.; Oliveira, F. de A.; Schwartz, G. 2020a. Ecological methods and indicators for recovering and monitoring ecosystems after mining: A global literature review. *Ecological Engineering* 145: 105707. doi: 10.1016/j.ecoleng.2019.105707.
- Martins, W.B.R.; Barros, W. dos S.; Dionisio, L.F.S.; Bezerra, T.G.; Santos, M.L. dos; Ferreira, G.C.; et al. 2020b. Survival, growth and regeneration of forest species in mining areas in the Eastern Amazonia. *Scientia Plena* 16. doi: 10.14808/sci.plena.2020.060204.
- Mataveli, G.A.V.; Chaves, M.E.D.; Brunzell, N.A.; Aragão, L.E.O.C. 2021. The emergence of a new deforestation hotspot in Amazonia. *Perspectives in Ecology and Conservation* 19: 33–36. doi: 10.1016/j.pecon.2021.01.002.
- Medeiros, P.I.S. de; Cabral, L.C. de S.; Carvalho, A.R. 2019. Cost to restore and conserve urban forest fragment. *Urban Forestry & Urban Greening* 46: 126465. doi: 10.1016/j.ufug.2019.126465.
- Olivares, F.L.; Busato, J.G.; de Paula, A.M.; da Silva Lima, L.; Aguiar, N.O.; Canellas, L.P. 2017. Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. *Chemical*

and *Biological Technologies in Agriculture* 4: 30. doi: 10.1186/s40538-017-0112-x.

Paiva, P.D. de O.; Reis, M.V. dos; Sousa, R. de B.; Ferraz, R.M.; Salgado, M. de C.R. 2022. Performance of native species in urban afforestation of public pathways in Lavras-MG, Brazil. *Ornamental Horticulture* 28: 161–171. doi: 10.1590/2447-536X.v28i2.2408.

Raasch, L. D.; Bonaldo, S. M.; Oliveira, A. A. F. de. *Bacillus subtilis*: Rooting and growth of eucalyptus mini-cuttings in the municipality of Sinop, northern of Mato Grosso state, Brazil. *Bioscience Journal*, v. 29, n. 5, p. 1446–1457, 2013.

R Development Core Team. 2023. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. v. 4.2.3.

Ryan, R.Y.M.; Fernandez, A.; Wong, Y.; Miles, J.J.; Cock, I.E. 2021. The medicinal plant *Tabebuia impetiginosa* potently reduces pro-inflammatory cytokine responses in primary human lymphocytes. *Scientific Reports* 11: 5519. doi: 10.1038/s41598-021-85211-8.

Saia, S.; Colla, G.; Raimondi, G.; Di Stasio, E.; Cardarelli, M.; Bonini, P.; et al. 2019. An endophytic fungi-based biostimulant modulated lettuce yield, physiological and functional quality responses to both moderate and severe water limitation. *Scientia Horticulturae* 256: 108595. doi: 10.1016/j.scienta.2019.108595.

Santos, S. T. dos.; Oliveira, F. de. A. de.; Costa, J. P. B. de. M.; Neta, M. L. de. S.; Alves, R. de. C.; Costa, L. P. Qualidade de mudas de cultivares de tomateiro

em função de soluções nutritivas de concentrações crescentes. *Revista Agro@Mambiente on-Line*, v. 10, n. 4, p. 326, 2017.

Santos, M.F. dos; Santos, L.E. dos; Costa, D.L. da; Vieira, T.A.; Lustosa, D.C. 2020. *Trichoderma* spp. on treatment of *Handroanthus serratifolius* seeds: effect on seedling germination and development. *Heliyon* 6: e04044. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04044.

Silva, M.A.; Nascente, A.S.; De Filippi, M.C.C.; Lanna, A.C.; Da Silva, G.B.; E Silva, J.F.A. 2020. Individual and combined growth-promoting microorganisms affect biomass production, gas exchange and nutrient content in soybean plants. *Revista Caatinga* 33: 619–632. doi: 10.1590/1983-21252020v33n305rc.

Woo, O.-G.; Kim, H.; Kim, J.-S.; Keum, H.L.; Lee, K.-C.; Sul, W.J.; et al. 2020. *Bacillus subtilis* strain GOT9 confers enhanced tolerance to drought and salt stresses in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica campestris*. *Plant Physiology and Biochemistry* 148: 359–367. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.01.032.

Xu, H.; Lv, J.; Yu, C. 2023. Combined phosphate-solubilizing microorganisms jointly promote *Pinus massoniana* growth by modulating rhizosphere environment and key biological pathways in seedlings. *Industrial Crops and Products* 191: 116005. doi: j.indcrop.2022.116005.

Yarte, M.E.; Santos, M.P.; Gismondi, M.I.; Llorente, B.E.; Larraburu, E.E. 2022. Evaluation of native plant growth-promoting rhizobacteria in *Handroanthus impetiginosus* micropropagation. *Trees*. doi: 10.1007/s00468-022-02372-3.