

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

Paula Antunes Cardoso

**INOCULAÇÃO DE MICRORGANISMOS COMO PROMOTORES DE
CRESCIMENTO INICIAL DE *Hancornia speciosa*.**

**Ilha Solteira
2025**

Paula Antunes Cardoso

**INOCULAÇÃO DE MICRORGANISMOS COMO PROMOTORES DE
CRESCIMENTO INICIAL DE *Hancornia speciosa***

Trabalho de conclusão de curso apresentado
à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira
– Unesp como parte dos requisitos para
obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Prof^a Dr^a Ana Maria Rodrigues Cassiolato
Orientadora

Dr. Philippe Solano Toledo Silva
Coorientador

Ilha Solteira
2025

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

C268i Cardoso, Paula Antunes.
Inoculação de microrganismos como promotores de crescimento inicial de
Hancornia speciosa / Paula Antunes Cardoso. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2025
42 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas)-
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2025

Orientador: Ana Maria Rodrigues Cassiolato

Coorientador: Philippe Solano Toledo Silva

Inclui bibliografia

1. Micorriza arbuscular. 2. Rhizophagus clarus. 3. Bacillus sp. 4. Fungos
endofíticos. 5. Cerrado.

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**INOCULAÇÃO DE MICRORGANISMOS COMO PROMOTORES
DE CRESCIMENTO INICIAL DE *Hancornia speciosa*.**

Paula Antunes Cardoso

REGULAMENTO SOBRE A AVALIAÇÃO:

- ARTIGO 25º - § 2º A apresentação pública do trabalho de TCC deverá ser de no mínimo 20 (vinte) minutos e máximo de 40 (quarenta) minutos. Após um intervalo de 5 (cinco) minutos, haverá a arguição do Trabalho pelos examinadores. O tempo de arguição, será de até 15 (quinze) minutos para cada examinador, e até 15 (quinze) minutos o tempo para a resposta do(a) aluno(a) a cada examinador ou no caso de se optar pelo diálogo, o tempo conjunto entre examinador e acadêmico(a) será de no máximo 30 (trinta) minutos.
- ARTIGO 24º - No julgamento do TCC, a banca examinadora deverá avaliar a apresentação oral, escrita e a defesa do trabalho durante a arguição. O conceito final será APROVADO ou REPROVADO.

COMISSÃO EXAMINADORA

1º EXAMINADOR (Coorientador-Presidente)
Nome: Philippe Toledo Solano Silva

Philippe Toledo Solano Silva

2º EXAMINADOR
Nome: Guilherme Carlos Fernandes

Guilherme Carlos Fernandes

3º EXAMINADOR
Nome: Thaís Soto Boni

Thaís Soto Boni

CONCEITO

☒ APROVADO

☐ REPROVADO

Ilha Solteira-SP, 08 de dezembro de 2025.

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente à minha família, que sempre esteve ao meu lado com amor, paciência e apoio incondicional. Cada palavra de incentivo, cada gesto de carinho e cada momento compartilhado foram fundamentais para que eu chegasse até aqui. Sem vocês, nada disso teria sido possível.

Expresso minha sincera gratidão à minha orientadora, Prof^a Dr^a Ana Maria Rodrigues Cassiolato, pela dedicação, pelo acolhimento acadêmico e pela confiança depositada em meu trabalho. Sua orientação cuidadosa, suas sugestões valiosas e seu compromisso foram essenciais para o desenvolvimento deste estudo.

Agradeço também ao meu coorientador, Dr. Philippe Solano Toledo Silva, pela disponibilidade, pela parceria e por contribuir para o aprimoramento deste trabalho com seu conhecimento e sua atenção. Sua colaboração foi indispensável para que este projeto alcançasse a qualidade desejada.

Agradeço igualmente à Universidade Estadual Paulista (UNESP), instituição que proporcionou a base científica, estrutural e humana necessária para a realização deste trabalho. Sou grata pelo ambiente de aprendizado, pelos recursos disponibilizados e pelas oportunidades que contribuíram de forma significativa para a minha formação acadêmica e pessoal.

Por fim, deixo meu agradecimento especial aos meus amigos, que tornaram essa jornada mais leve e significativa. Obrigada por cada conversa, risada, apoio nos momentos difíceis e incentivo contínuo. Vocês fizeram toda a diferença ao longo desse caminho.

RESUMO

A mangaba (*Hancornia speciosa*) é uma espécie nativa do Cerrado com grande importância ecológica, econômica e medicinal, mas cuja produção de mudas ainda enfrenta limitações, especialmente pela baixa fertilidade dos solos onde ocorre naturalmente. Nesse contexto, microrganismos, como fungos micorrízicos arbusculares (FMA), fungos endofíticos dark septate (DSE) e bactérias do gênero *Bacillus*, têm se destacado por sua capacidade de modular o crescimento vegetal, influenciar a colonização radicular e ativar mecanismos de defesa. A interação desses microrganismos com espécies nativas é complexa e ainda pouco explorada, especialmente no que se refere à produção de látex, estrutura anatômica associada à defesa vegetal. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de FMA, DSE e *Bacillus* no crescimento inicial de mudas de *H. speciosa*, bem como analisar sua relação com a colonização radicular, produção de células de látex e atividade microbiana do solo. Para isso, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos (*Rhizophagus clarus*, *Bacillus* sp., DSE I, DSE II, DSE III e controle), avaliando altura de plantas, diâmetro do caule, número de folhas, análises microscopia de raízes e quantificação da atividade respiratória microbiana. Os resultados indicaram que o *Rhizophagus clarus* aumentou significativamente a massa seca da parte aérea. A análise anatômica mostrou maior produção de células de látex nos tratamentos com DSE e *B. subtilis*, sugerindo ativação de defesa. De modo geral, a Mangaba respondeu de forma distinta a cada microrganismo, evidenciando o potencial dos FMA como bioinoculantes na produção de mudas.

Palavras-chave: Micorriza arbuscular, *Rhizophagus clarus*, *Bacillus* sp., fungos endofíticos, Cerrado

ABSTRACT

Hancornia speciosa, commonly known as mangaba, is a native species of the Cerrado with significant ecological, economic, and medicinal importance. However, seedling production still faces limitations, particularly due to the low fertility of the soils where the species naturally occurs. In this context, microorganisms such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), dark septate endophytic fungi (DSE), and bacteria of the genus *Bacillus* have gained attention for their ability to modulate plant growth, influence root colonization, and activate defense mechanisms. The interaction between these microorganisms and native species is complex and remains poorly explored, especially regarding latex production, an anatomical structure associated with plant defense. This study aimed to evaluate the influence of AMF, DSE, and *Bacillus* on the initial growth of *H. speciosa* seedlings, as well as to analyze their effects on root colonization, latex cell production, and soil microbial activity. The experiment was conducted in a completely randomized design with six treatments (*Rhizophagus clarus*, *Bacillus* sp., DSE I, DSE II, DSE III, and a control). Plant height, stem diameter, and number of leaves were assessed, along with microscopic analyses of roots and quantification of soil microbial respiratory activity. The results showed that *Rhizophagus clarus* significantly increased shoot dry mass. Anatomical analysis revealed greater latex cell production in the treatments with DSE and *Bacillus subtilis*, suggesting activation of plant defense responses. Overall, mangaba displayed distinct responses to each microorganism, highlighting the potential of AMF as promising bioinoculants for seedling production.

Keywords: Arbuscular mycorrhiza, *Rhizophagus clarus*, *Bacillus* sp., endophytic fungi, Cerrado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Isolados de fungos endofíticos dark septates (DSE) utilizaods nos tratamentos de inoculação: ISO23, ISO12, ISO5.	22
Figura 2	- Momento em que foi realizado o desbaste, de modo que todas apresentassem quatro folhas.....	23
Figura 3	- Momento da inoculação da bactéria.....	23
Figura 4	- Avaliações respectivamente de altura (a), diâmetro (b) e clorofila (c).....	24
Figura 5	- Coloração das raízes.....	25
Figura 6	- Quantificação das células de látex (indicadas pela seta).....	26
Figura 7	- Processos de decantação, flutuação e centrifugação de esporos de FMA.....	27
Figura 8	- Esporos de FMA observados em microscópio óptico.....	28
Figura 9	- Análise de atividade microbiana do solo.....	29
Figura10	- Mudas de <i>H. speciosa</i> sob os diferentes tratamentos biológicos avaliados.....	21
Figura11	- Avaliação da colonização radicular de raízes de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes sem inoculação (controle) e inoculada com microrganismos.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR) massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), altura de planta (ALT), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), IQD, SPAD sob a aplicação de diferentes microrganismos em <i>Hancornia speciosa Gomes</i> no Município de Ilha Solteira, SP. 2025.....	30
Tabela 2	- Médias da atividade microbiana do solo (C-CO ₂ liberado), colonização micorrízica (Col FMA), número de esporos (Nesp) e notas para a quantificação de células de látex em raízes (Notas) em função da inoculação de diferentes microrganismos em <i>Hancornia speciosa Gomes</i> no Município de Ilha Solteira, SP. 2025.....	32

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

MCPV	Microrganismos promotores de crescimento vegetal
FMA	Fungos Micorrízicos Arbusculares
DSE	Fungos Endófitos Dark Spetate
MSPA	Massa seca da parte aérea
MSR	Massa seca da raiz
DC	Diâmetro do caule
ALT	Altura

SUMÁRIO

1.Introdução	12
2.Revisão Bibliográfica	14
2.1.Cerrado	14
2.2.A Mangaba	15
2.3.Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal	16
2.3.1 Fungos endofíticos <i>Dark Septate</i> (DSE)	16
2.3.2 <i>Bacillus subtilis</i>	17
2.3.3 Fungo micorrízico arbuscular (FMA)	17
3.Metodologia	20
3.1.Localização e Caracterização da Área Experimental	20
3.2.Obtenção do Solo Inóculo	20
3.3.Instalação e Condução do Experimento	22
3.4.Avaliações do Experimento: Variáveis da Planta	24
3.5.Variáveis Microbiológicas do Solo e Raízes	24
3.6.Escala de notas para quantificação das células de látex	25
3.7.Contagem de esporos de FMA (NESP)	27
3.8.Determinação da Atividade Microbiana	28
4.Análises Estatísticas	29
5.Resultados e Discussão	29
6.Conclusão	36

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro é reconhecido mundialmente como a savana de maior biodiversidade e um dos principais *hotspots* do planeta (Schüler; Bustamante, 2022). Cobrindo cerca de 22% do território nacional, esse bioma abriga milhares de espécies endêmicas. Contudo, a expansão da agricultura intensiva, agravada pela ineficácia das políticas públicas de conservação, tem acelerado a fragmentação do bioma e perda de biodiversidade (Strassburg et al., 2017).

Espécies frutíferas nativas de grande relevância, como a mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), estão vulneráveis diante desse cenário. Essas espécies desempenham papéis cruciais na manutenção da biodiversidade e no equilíbrio dos ecossistemas, além de possuírem significativa relevância socioeconômica para comunidades tradicionais (Almeida et al., 2016). Seus frutos são valorizados por serem ricos em compostos fenólicos e apresentarem potencial antioxidante, contribuindo para a saúde humana, valorizando o extrativismo e ajudando na conservação ecológica do bioma (Santos et al., 2021). No entanto, há uma carência de informações sobre o desenvolvimento inicial destas espécies em solos com baixa disponibilidade de nutrientes.

As plantas nativas do Cerrado evoluíram em um ambiente caracterizado por solos distróficos e ácidos, resultando em espécies que geralmente são pouco exigentes em adubação para seu crescimento. Embora o baixo teor de nutrientes do solo nativo seja frequentemente suficiente, a exigência nutricional pode variar muito entre as espécies e regiões do bioma. A complexidade ambiental do cerrado é alta, com estudos indicando que, em certos casos, a deficiência hídrica pode ser mais limitante para o crescimento do que a falta de nutrientes, como observado para o pequi (Gonçalves, 2021).

Nesse contexto, os Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal (MPCV) surgem como uma alternativa biotecnológica viável e sustentável para a produção de mudas (Rezaee Danesh, 2025). Os MPCV atuam por diversos mecanismos: promovem o crescimento através da fixação biológica de nitrogênio e da solubilização de nutrientes essenciais (como o fósforo), aumentando sua disponibilidade (Oliveira-Paiva et al., 2024). Adicionalmente, produzem fitormônios (auxinas e giberelinas) que estimulam o desenvolvimento do sistema radicular, resultando em mudas com maior capacidade de absorção de água e nutrientes.

Oferecem ainda proteção por meio do biocontrole de patógenos e da indução de resistência sistêmica, reduzindo a dependência de fertilizantes e pesticidas químicos e elevando a qualidade e resiliência das mudas (Rezaee Danesh, 2025).

Dentre os MPCV, as bactérias do gênero *Bacillus* são amplamente reconhecidas como bioinoculantes de alta relevância, capazes de mitigar estresses abióticos (Etesami et al. 2023). Elas são utilizadas na produção de mudas por sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico em pequena quantidade, solubilizar fosfato e produzir fitormônios (Rezende et al., 2021), o que resulta em um sistema radicular mais robusto e um desenvolvimento aéreo mais rápido em diversas culturas (Alves et al., 2021).

Outros microrganismos importantes são os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA), que estabelecem uma simbiose mutualística com as raízes, estendendo suas hifas e agindo como uma vasta rede de absorção. Isso amplia a área de contato da planta com o solo, promovendo a captação eficiente de nutrientes de baixa mobilidade (fósforo) e água, o que é crucial para o crescimento e a resistência a condições adversas (Akhtar et al., 2022). Por fim, os fungos endofíticos dark spetates (DSE) são um grupo de grande interesse, especialmente em ambientes desfavoráveis como os solos do Cerrado, pois aumentam a tolerância à seca e a eficiência nutricional através da solubilização de minerais e indução de resistência sistêmica (Santos et al., 2021; Huertas et al., 2024).

Portanto, a inoculação de *H. speciosa* com MCPs é uma estratégia promissora para impulsionar o crescimento desta espécie e contribuir para sua conservação, valorizando os recursos genéticos do Cerrado e oferecendo alternativas sustentáveis. Diante disso, este estudo tem como hipótese central que a inoculação com MCPs promoverá um aumento significativo nos parâmetros de crescimento (altura, diâmetro e biomassa) das mudas de *Hancornia speciosa*, em comparação com o grupo controle (não inoculado). Este trabalho tem como objetivo investigar os efeitos da inoculação de microrganismos promotores de crescimento (*Bacillus subtilis*, Fungos Endofíticos e *Rhizophagus clarus*) no desenvolvimento inicial de *H. speciosa* (mangaba), buscando identificar o inóculo mais eficiente para a produção de mudas de alta qualidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cerrado

O Cerrado, reconhecido como a savana de maior biodiversidade do mundo, estende-se por uma vasta área do território brasileiro e representa um *hotspot* global para a conservação, porém vem enfrentando ameaças críticas à sua integridade (Ferreira et al., 2022). Além de sua biodiversidade única, desempenha papel crucial na regulação hídrica do país, abrigando importantes nascentes que alimentam bacias hidrográficas estratégicas, e fornece serviços ecossistêmicos fundamentais, como sequestro de carbono, conservação do solo e manutenção de habitats para inúmeras espécies endêmicas (Strassburg et al., 2017).

A flora do Cerrado possui características adaptativas como cascas espessas e raízes profundas, que refletem a sazonalidade e a ocorrência de fogo. As plantas do Cerrado desenvolveram estratégias combinadas, como a casca grossa e isolante e a rebrota a partir de órgãos subterrâneos, para sobreviver a regimes de incêndios frequentes (Chiminazzo et al., 2023). Seu solo é tipicamente ácido, distrófico e com baixa disponibilidade de nutrientes, o que representa um desafio para o desenvolvimento vegetal, fator que molda a diversidade de espécies e suas interações (Lima et al., 2024).

Historicamente, o Cerrado enfrenta uma crescente pressão antrópica que ameaça sua biodiversidade e equilíbrio ecológico. Estudos indicam que mesmo com a plena implementação do Código Florestal, o bioma pode perder até 30,6 milhões de hectares de vegetação nativa até 2070 (Colman et al., 2024). É importante ressaltar que a degradação da vegetação no Cerrado não se dá apenas por desmatamento direto, mas também por processos associados ao uso prolongado e ao manejo inadequado das pastagens. O uso crônico do fogo como ferramenta de limpeza e abertura de áreas agrícolas intensifica os impactos, alterando o comportamento do fogo e reduzindo a resiliência dos ecossistemas locais (Arruda et al., 2024).

Considerando isso, as espécies frutíferas nativas do Cerrado são um componente essencial para a sustentabilidade do bioma. Elas participam ativamente da conservação da diversidade biológica e são indispensáveis na manutenção de

serviços ecossistêmicos cruciais, como a regulação do clima e o suporte socioeconômico a diversas populações (Vargem et al., 2024).

Estas espécies possuem resiliência ecológica, devido à adaptação evolutiva a esse ambiente caracterizado por solos ácidos e intensa sazonalidade hídrica, muitas delas desenvolveram sistemas radiculares de grande profundidade e alta capacidade de retenção (Furquim et al., 2018). Estas raízes são vitais para a estabilidade do solo e a infiltração de água, conferindo-lhes uma função insubstituível na regulação hídrica ao atuarem como "bombas" naturais que exploram e disponibilizam recursos hídricos das camadas subterrâneas. Além disso, a presença dessas espécies lenhosas contribui significativamente para o sequestro de carbono e a ciclagem de nutrientes no sistema solo-planta, o que é fundamental para mitigar processos de desertificação (Quintão et al., 2021; Bogiani et al., 2020). Dentre as frutíferas nativas deste bioma, destacam-se espécies com potencial econômico, nutricional e ecológico. Uma dessas espécies de grande interesse é a mangaba (*H. speciosa*).

2.2. A Mangaba

A Mangaba, pertencente à família *Apocynaceae*, é uma frutífera nativa amplamente distribuída. Do ponto de vista morfológico, é uma árvore ou arbusto lactífero, com folhas decíduas em algumas regiões. Seu fruto é uma baga carnosa e amarelada (Coimbra et al., 2023). Estudos sobre Mangaba têm focado em sua composição fitoquímica, que revela alto teor de compostos fenólicos, carotenoides e ácido ascórbico (vitamina C), conferindo-lhe importante atividade antioxidante e potencial farmacológico (Almeida et al., 2022). Além disso, a espécie apresenta grande potencial para o uso na restauração de áreas degradadas devido à sua rusticidade e adaptação a solos de baixa fertilidade (Alves et al., 2024).

A Mangaba desempenha papel socioeconômico importante para populações tradicionais e comunidades rurais. O fruto coletado é uma fonte de renda alternativa para famílias que vivem do extrativismo ou da venda de produtos artesanais derivados. (Costa et al., 2018) Além disso, o uso da mangaba, seja para consumo familiar ou para preparação de alimentos regionais, ajuda a manter saberes tradicionais, fortalecendo identidades culturais ligadas ao território e às práticas de uso da biodiversidade. (Oliveira et al., 2018).

2.3. Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal

Apesar do potencial econômico e da resiliência da mangaba, a produção de mudas e o sucesso da restauração de áreas degradadas são frequentemente limitados pela baixa fertilidade dos solos. Para superar problemas de barreiras edáficas e garantir um crescimento inicial das mudas, o uso de Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal (MPCV) surge como uma estratégia sustentável e ecologicamente análoga aos processos simbióticos naturais do bioma, otimizando a absorção de nutrientes, a tolerância a estresses hídricos e o desenvolvimento geral das plantas (Villa *et al.*, 2021). Dentre estes MPCV alguns grupos se destacam pela eficiência e adaptabilidade (REF), como os fungos endofíticos septados escuros, bactérias do gênero *Bacillus* e fungos micorrízicos arbusculares.

2.3.1 Fungos endofíticos *Dark Septate* (DSE)

Fungos endófitos representam uma classe de grande interesse como MPCV, especialmente em ecossistemas naturais como o Cerrado. Os Fungos Endofíticos *Dark Septate* (DSE), ou "Septados Escuros", constituem um grupo de fungos que estabelecem uma simbiose mutualística com as raízes de plantas, a caracterização morfológica deste grupo é definida pela intensa pigmentação escura (melanização) de suas hifas e das estruturas de reserva que se formam no córtex das raízes (Núñez *et al.*, 2022).

Ecologicamente, os DSE são essenciais, pois atuam como promotores de crescimento vegetal ao facilitar a absorção de nutrientes, como o fósforo e o nitrogênio, e ao aumentar a tolerância da planta hospedeira a condições extremas como seca, salinidade e a presença de metais pesados (Akhtar *et al.*, 2022). Além disso, estudos recentes têm evidenciado o seu potencial como agentes de biocontrole no manejo integrado de doenças e pragas de culturas, reforçando o seu papel na mitigação dos efeitos negativos de estresses bióticos e abióticos (Santos *et al.* 2021). Portanto, a aplicação estratégica de DSE pode ser utilizada como um meio eficaz para aumentar a taxa de pegamento das mudas, acelerando sua transição para o campo e potencializando o sucesso em projetos de restauração e fruticultura sustentável.

2.3.2 *Bacillus subtilis*

Bactérias, principalmente *Bacillus subtilis*, uma rizobactéria, são promissoras e amplamente estudadas no contexto da agricultura sustentável, especialmente em ecossistemas desafiadores como o Cerrado. Sua aplicação na produção de mudas de espécies nativas constitui uma estratégia essencial para o sucesso de projetos de recuperação de áreas degradadas e reflorestamento (Chagas Júnior et al., 2023). Essas bactérias atuam diretamente na rizosfera, a região de interface entre a raiz e o solo, por meio de mecanismos diretos e indiretos que favorecem o desenvolvimento vegetal.

Entre suas funções mais importantes destaca-se a solubilização de nutrientes. Embora o Cerrado possua grandes reservas de fósforo, grande parte está quimicamente fixada, tornando-se inacessível às plantas. O *B. subtilis* secreta ácidos orgânicos e enzimas capazes de reagir com esses compostos, liberando o fósforo e outros micronutrientes, tornando-os disponíveis para absorção pelas raízes das mudas nativas de forma eficiente (Veya et al., 2025).

Além de otimizar a absorção de nutrientes, *B. subtilis* atua como rizobactéria promotora de crescimento, produzindo fitormônios que estimulam o alongamento e a ramificação do sistema radicular. Em condições do Cerrado, a inoculação com bactérias promotoras de crescimento, incluindo *B. subtilis*, tem demonstrado aumento no vigor radicular e na eficiência de absorção de nutrientes, contribuindo para o melhor estabelecimento e sobrevivência das plantas após o plantio (Bini et al., 2025).

2.3.3 Fungo micorrízico arbuscular (FMA)

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) estabelecem uma simbiose mutualística fundamental com a grande maioria das plantas terrestres. A sua colonização inicia-se com o reconhecimento químico entre hifas e raízes, seguido pela formação de hifopódios na epiderme, que permitem a penetração e o avanço das hifas até o córtex radicular. No interior das células do córtex, os FMA desenvolvem arbúsculos, estruturas ramificadas responsáveis pela troca eficiente de nutrientes entre fungo e planta, especialmente fósforo e carboidratos (Crawford et al., 2020). Esses arbúsculos permanecem envolvidos pela membrana peri-arbuscular, especializada em facilitar o transporte bidirecional de solutos (Smith;

Read, 2023). Além disso, muitos FMA formam vesículas intracelulares ou intercelulares que atuam como estruturas de reserva e auxiliam na persistência do fungo no tecido radicular (Genre et al., 2019)

Essa associação é especialmente vital em ecossistemas de baixa fertilidade, como o Cerrado (Cortat et al., 2021). O gênero *Rhizophagus*, com destaque para a espécie *Rhizophagus clarus*, é amplamente utilizado como inoculante por sua alta eficiência na promoção do crescimento vegetal. O principal mecanismo de ação é o aumento da captação de nutrientes de baixa mobilidade, como o fósforo (P), por meio da extensão de suas hifas no solo. Além disso, a micorrização com *Rh. clarus* confere maior tolerância a estresses hídricos e salinos, promovendo a manutenção da atividade fisiológica da planta, a regulação do equilíbrio iônico e o aumento da atividade de enzimas antioxidantes, o que contribui para a manutenção da produtividade sob condições adversas (Tavares et al., 2024).

Nos últimos anos, a pesquisa sobre a produção de mudas tem convergido para o uso de microrganismos como alternativa central e sustentável à fertilização convencional. A inoculação de MPCV tem sido apontada como uma estratégia promissora para melhorar o estabelecimento e o vigor inicial de mudas de mangaba. Estudos feitos mostram resultados positivos quando a inoculação é empregada em combinação com manejo adequado de substrato e adubação, levando a aumentos significativos em altura, massa seca e vigor das mudas (Weckner, 2021; Costa et al., 2003)

No que se refere aos FMA, a literatura demonstra que a resposta de *H. speciosa* depende da densidade do inóculo e da disponibilidade de fósforo no substrato: doses adequadas de inóculo promovem maior absorção de fósforo e aumentos de biomassa, ao passo que baixas densidades podem não resultar em benefício mensurável (Costa et al., 2003; Mattos-Abreu, 2018).

Estudos feitos com a bactérias e fungos endofíticos mostram resultados positivos quando a inoculação é realizada em mudas de mangaba especialmente durante as fases iniciais de crescimento. Assim como observado para os fungos micorrízicos, o efeito positivo depende do tipo de microrganismo inoculado, da compatibilidade com o genótipo da planta e das condições do substrato, sendo necessária a padronização do inóculo e a seleção de cepas eficientes para protocolos de viveiro reprodutíveis (Weckner, 2021; Mattos-Abreu, 2018).

Portanto, a inoculação microbiana constitui uma abordagem aplicada e baseada em evidências para otimizar a produção de mudas de *H. speciosa*, mas sua efetividade depende da padronização do inóculo, do manejo do substrato e da integração com práticas de adubação. Estudos futuros devem priorizar protocolos replicáveis em escala de viveiro e avaliações de campo que confirmem a permanência dos efeitos durante o estabelecimento no campo.

3. METODOLOGIA

3.1. Localização e Caracterização da Área Experimental

O experimento foi conduzido de setembro a novembro de 2025, na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), no município de Ilha Solteira (SP), localizado no noroeste do estado de São Paulo. Esta região está inserida no bioma Cerrado, apresentando características edafoclimáticas de área de transição. O solo do entorno da área foi classificado predominantemente como LATOSSOLO Vermelho distrófico, conforme o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Embrapa, 2018, atualizado por Santos et al., 2025), sendo caracterizado por ser profundamente intemperizado, com alta acidez e baixa disponibilidade de nutrientes. A análise química para fins de fertilidade seguiu o proposto por Raij et al. (2001). Os resultados obtidos foram: fósforo (P-resina) = 1 mg dm⁻³; matéria orgânica (MO) = 7 g dm⁻³; pH em CaCl₂ = 4,5; potássio (K⁺) = 0,8 mmolc dm⁻³; cálcio (Ca²⁺) = 7 mmolc dm⁻³; magnésio (Mg²⁺) = 1 mmolc dm⁻³; acidez potencial (H+Al) = 22 mmolc dm⁻³; alumínio (Al³⁺) = 8 mmolc dm⁻³; soma de bases (SB) = 8,8 mmolc dm⁻³; capacidade de troca catiônica (CTC) = 30,8 mmolc dm⁻³; saturação por bases (V%) = 29%; boro (B) = 0,04 mg dm⁻³; cobre (Cu) = 0,5 mg dm⁻³; ferro (Fe) = 2 mg dm⁻³; manganês (Mn) = 14,1 mg dm⁻³; zinco (Zn) = 0,5 mg dm⁻³.

O subsolo para a condução do experimento foi coletado na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão, na profundidade de 0–0,20 m. O material foi seco ao ar e passado em peneira com malha de 4 mm. Posteriormente, subamostras, denominadas de terra fina seca ao ar (TFSA), foram passadas em peneira de 2 mm de abertura de malha e homogeneizadas.

3.2. Obtenção do Solo Inóculo

O inóculo do FMA *Rh. clarus* foi multiplicado em vasos de polietileno do tipo "jardineira". O substrato para multiplicação foi uma mistura de solo arenoso, coletado na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP, Campus Ilha Solteira, e areia de rio (granulação média) na proporção de 2:1 (v/v), a qual foi autoclavada. A planta hospedeira utilizada para a multiplicação dos esporos foi a gramínea capim marandu (*Urochloa brizantha*). O crescimento da planta e a multiplicação dos esporos ocorreram em condições de cultivo protegido, por 120 dias. Após o período

de cultivo, a parte aérea das plantas foi separada e as raízes foram misturadas ao solo de forma homogênea e secas à sombra.

O número de esporos de *Rh. clarus* foi quantificado em 100 g de solo seco, seguindo a metodologia de decantação e peneiramento úmido proposta por Gerdemann e Nicolson (1963) e de centrifugação e flutuação em solução de sacarose (Jenkins, 1964). A contagem foi realizada sob microscópio estereoscópico. Para padronizar a quantificação, utilizou-se uma placa contendo círculos concêntricos delimitando a área de leitura e permitindo contar os esporos presentes dentro do campo demarcado, garantindo maior precisão e repetibilidade nas contagens. Em média, 57 esporos por 100 g de solo-inóculo foram inoculados no tratamento com micorriza.

Os isolados de fungos endofíticos septados escuros (DSE) foram obtidos a partir de gramíneas de ocorrência espontânea em uma área degradada, ISO 12 e ISO 23 foram isolados do colmo de *Aristida setifolia*, enquanto o ISO 5 foi isolado de raízes de arroz cultivadas em ambiente agrícola, utilizando-se segmentos de colmo e de raiz. Logo após a coleta, os materiais vegetais passaram por um processo de desinfecção superficial com álcool 70% seguido de hipoclorito de sódio a 2%, procedimento realizado para eliminar microrganismos externos e assegurar que apenas os endófitos presentes nos tecidos internos fossem recuperados.

Concluída a desinfecção, três fragmentos de tecido de cada amostra foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA suplementado com antibiótico, permitindo o crescimento inicial e posterior separação dos fungos endofíticos associados às plantas. O meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar; pH 6,8) foi previamente esterilizado a 121 °C por 15 minutos e preparado com a adição de antibiótico Cloranfenicol para prevenir contaminações bacterianas. As etapas de isolamento e purificação, especialmente no caso das gramíneas, seguiram protocolos adaptados de Santos et al. (2021), que descrevem procedimentos para obtenção, avaliação da colonização e manutenção de fungos DSE a partir de plantas de arroz.

As sementes de milho foram utilizadas como isca. Foram inicialmente lavadas em água corrente para remoção de impurezas superficiais. Em seguida, foram distribuídas em frascos de vidro autoclaváveis, fechados com papel alumínio e

autoclavadas a 121 °C por 20 minutos. Após o resfriamento, cada frasco estéril recebeu um fragmento de meio contendo o isolado fúngico, previamente cultivado em placa de Petri por aproximadamente sete dias. A transferência foi realizada em câmara de fluxo laminar, utilizando materiais e instrumentos esterilizados para evitar contaminações. Após a inoculação, os frascos foram imediatamente fechados e acondicionados em BOD a 25 °C por cinco dias. Ao término da incubação, as sementes colonizadas foram utilizadas como fonte de inóculo para as etapas subsequentes do experimento.

A inoculação de *Bacillus subtilis*, estirpe CCTB04, ocorreu por meio da adição de $2,0 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ do inoculante líquido comercial Panta premium Geoclean, via solo, distribuindo 2 mL do inoculante no momento do transplântio das mudas para os vasos (Figura 2).

3.3. Instalação e Condução do Experimento

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC), com seis espécie vegetal cada. Os tratamentos de inoculação para foram: Controle (sem microrganismos), ISO DSE I (ISO 23), ISO DSE II (ISO 12), ISO DSE III (ISO 5) (Figura 1), FMA *Rh. clarus* e o *B. subtilis*.

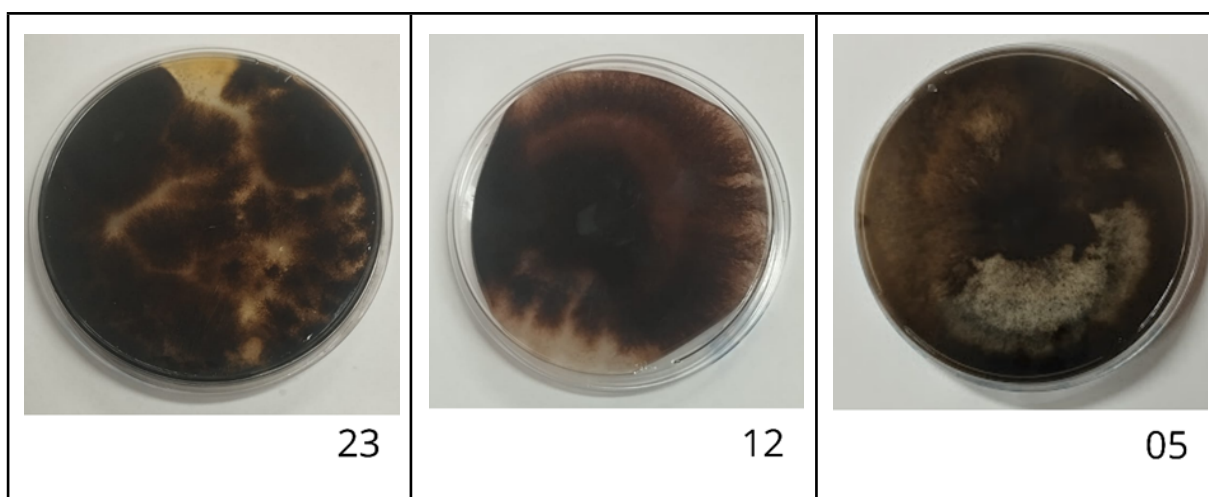


Figura 1 - Isolados de fungos endofíticos dark septados (DSE) utilizados nos tratamentos de inoculação: ISO 23, ISO 12 e ISO 05.

Foi adicionada uma muda por saco de mudas contendo 3 kg de solo. Todas as mudas passaram por um processo de desbaste, sendo padronizadas para quatro

folhas antes da inoculação (Figura 2). Os microrganismos foram inoculados diretamente na cova no momento do plantio (Figura 3). Após a implantação, as mudas foram irrigadas diariamente com auxílio de um regador, mantendo-se a umidade adequada ao longo do experimento.



Figura 2 - Momento em que foi realizado o desbaste, de modo que todas apresentassem quatro folhas.



Figura 3 – Momento da inoculação da bactéria.

3.4 Avaliações do Experimento: Variáveis da Planta

A quantificação das variáveis de crescimento e desenvolvimento das mudas foi realizada em três momentos durante o experimento, ou seja, aos 30, 60 e 90 dias

após o semeio. Na primeira e segunda mensuração foram avaliadas as variáveis número de folhas, altura da parte aérea (ALT) e o diâmetro do coleto (DC), utilizando trena e paquímetro digital, respectivamente. Na terceira mensuração, além das variáveis anteriores, foram avaliadas também: teor relativo de clorofila nas folhas (SPAD) utilizando o clorofilômetro portátil Falker (Figura 4c), matéria seca e fresca da parte aérea e raiz. Para a obtenção da massa seca, as amostras foram lavadas, acondicionadas em sacos de papel e colocadas em estufa com circulação forçada de ar, mantida por 48 horas ou até atingir peso constante, após esse período todo o material foi pesado novamente.

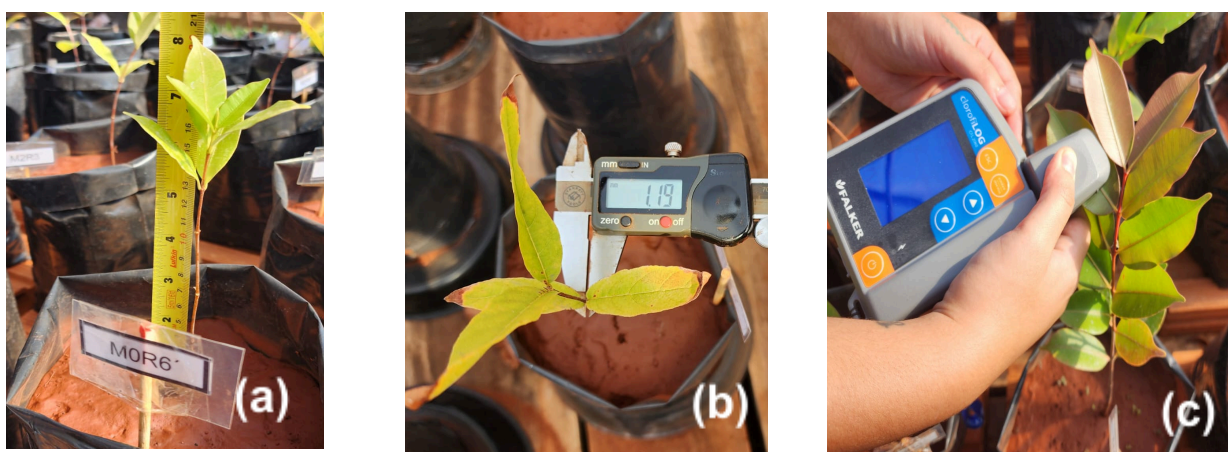


Figura 4 – Avaliações respectivamente de altura (a), diâmetro (b) e clorofila (c)

Com os valores de MSPA, MSR, DC e ALT, determinou-se o índice de qualidade de mudas de Dickson (IQD), por meio da Equação 1:

$$IQD = (ALT/DC) + (MSPA + MSR)/MSPA/MSR \quad (1)$$

3,6. Variáveis Microbiológicas do Solo e Raízes

Aos 90 dias após o transplântio, as raízes foram separadas do solo, lavadas e secas para avaliação da colonização radicular. Uma parte das raízes (1 g) foi separada para a avaliação da colonização micorrízica (COL FMA) e por COL DSE. A metodologia de avaliação da colonização micorrízica seguiu o proposto por Phillips e Hayman (1970).

O processo de coloração das raízes iniciou-se com a imersão do material vegetal em álcool 50%. Em seguida, o álcool foi descartado e adicionou-se solução de KOH aos béqueres, os quais foram mantidos em banho-maria a 90 °C por 40 minutos, visando o clareamento dos tecidos. Após esse período, acrescentaram-se 2 mL de peróxido de hidrogênio (água sanitária), mantendo-se as raízes no banho-maria por mais 10 minutos para intensificar o processo de branqueamento. Concluída essa etapa, as raízes foram lavadas com água destilada e novamente submetidas ao banho-maria, desta vez em solução de HCl 1%, por 20 minutos. Após o descarte da solução ácida, sem nova lavagem, adicionou-se o corante azul de tripiano, mantendo o conjunto no banho-maria por mais 10 minutos. Ao final, o corante excedente foi descartado e as raízes foram armazenadas em solução de lactoglicerol para conservação. Posteriormente, as análises foram conduzidas ao microscópio. Para cada lâmina, foram montadas cinco raízes previamente coradas, e realizadas observações em 50 pontos distintos. Esse procedimento foi repetido duas vezes para cada repetição experimental. Em cada ponto analisado, registrou-se a presença de estruturas fúngicas sempre que detectadas nos tecidos radiculares.

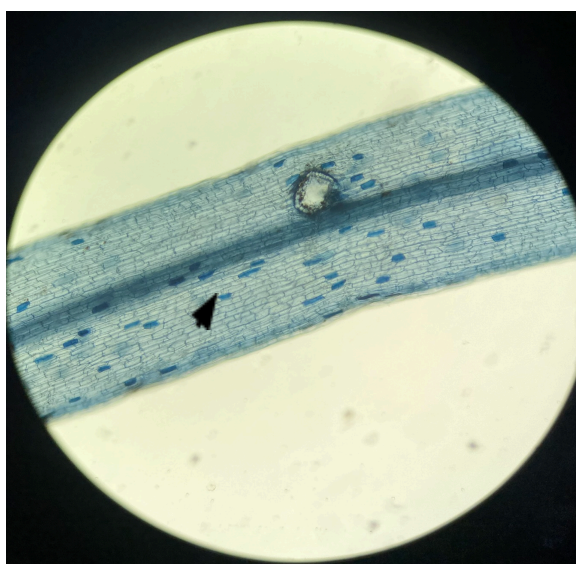


Figura 5 – Coloração das raízes

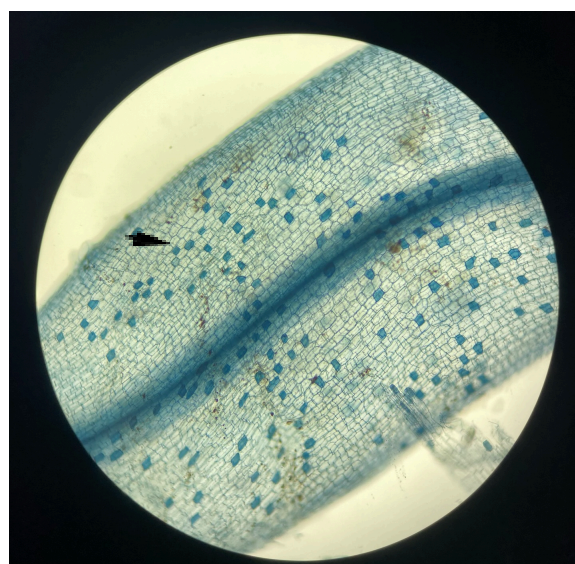
3.7. Escala de notas para quantificação das células de látex

A quantificação das células de látex foi realizada por meio de análise microscópica utilizando um sistema de avaliação ordinal por notas. As amostras vegetais foram previamente fixadas, cortadas e coradas de forma padronizada. Para cada lâmina realizou a contagem das células de látex visíveis. Com base nesses valores, atribuiu-se uma nota de 0 a 10, definida conforme a intensidade observada: ausência, baixa, moderada, alta ou muito alta. A atribuição de notas seguiu critérios previamente estabelecidos para assegurar reprodutibilidade entre observadores.

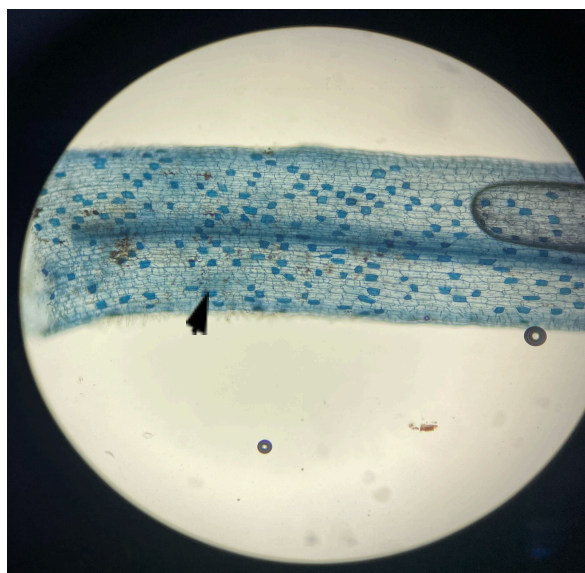
As análises foram conduzidas de forma cega para evitar viés, e cada campo observado teve sua nota registrada em planilha específica. Ao final, as notas por lâmina e por tratamento foram consolidadas, permitindo a comparação estatística entre grupos experimentais.



BAIXA



MODERADA



ALTA

Figura 6 – Quantificação das células de látex (indicadas pela seta)

3.8. Contagem de esporos de FMA (NESP)

Foi realizada ao final do experimento, em amostras de 100 g de solo. O solo coletado foi transferido para um balde e submetido à lavagem com água corrente. Em seguida, o material foi agitado manualmente para favorecer a separação e a ascensão dos esporos à superfície. A suspensão resultante foi então vertida sobre uma peneira, permitindo que apenas a fração líquida escoasse, enquanto o solo permanecia no balde. Esse procedimento foi repetido três vezes para maximizar a recuperação dos esporos.

O material retido na peneira foi posteriormente transferido para um béquer. As amostras foram então submetidas à centrifugação por 5 minutos, sendo o sobrenadante descartado cuidadosamente para preservar o pellet contendo os esporos. Após essa etapa, adicionou-se solução de sacarose aos tubos, os quais foram novamente centrifugados por 1 minuto para promover a separação dos esporos por flutuação. Em seguida, o material foi lavado em uma peneira fina para remoção da sacarose e transferido para um béquer. Por fim, as amostras foram examinadas sob estereomicroscópio para a contagem dos esporos viáveis. Todo o procedimento foi realizado com base nas metodologias clássicas de decantação e peneiramento úmido descritas por Gerdemann e Nicolson (1963), bem como na técnica de centrifugação e flutuação em solução de sacarose proposta por Jenkins (1964).



Figura 7 – Processos de decantação, flutuação e centrifugação de esporos de FMA

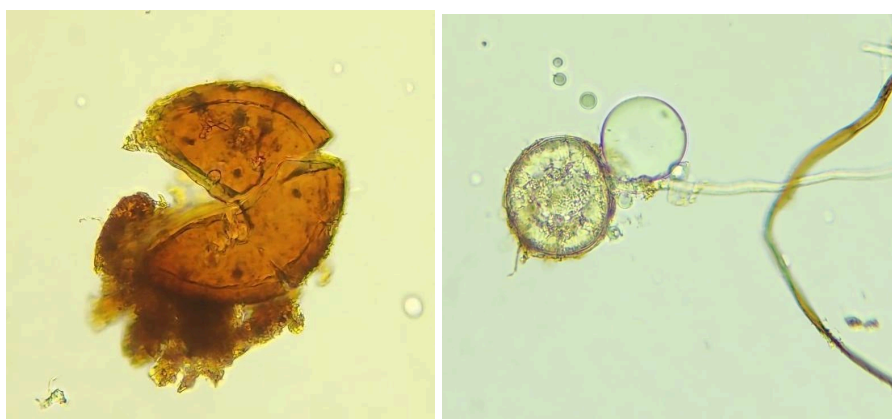


Figura 8 – Esporos de FMA observados em microscópio óptico.

3.9. Determinação da Atividade Microbiana

Para cada tratamento, foram pesadas 100 g de solo, que foram acondicionadas em frascos de vidro previamente esterilizados, sendo incluído um frasco adicional destinado ao controle (branco). Em cada frasco maior, inseriu-se um recipiente interno de menor volume contendo 10 mL de solução padronizada de NaOH, utilizada como agente absorvente de CO₂ liberado durante o período de incubação. Em seguida, todos os frascos foram hermeticamente vedados, a fim de impedir trocas gasosas com o ambiente, e mantidos em incubação por sete dias, conforme procedimentos adotados em análises de respiração microbiana do solo.

Ao término do período de incubação, realizou-se a titulação da solução de NaOH remanescente utilizando solução de HCl. Para garantir a precipitação do carbonato formado e evitar interferências na titulação, adicionaram-se 2 mL de solução de BaCl₂ aos frascos internos. Posteriormente, foram adicionadas três gotas de fenolftaleína como indicador ácido-base, permitindo a identificação do ponto de viragem durante a titulação. O consumo de HCl foi utilizado para estimar a quantidade de CO₂ desprendido solo, caracterizando a atividade respiratória do solo (Anderson; Domsch, 1989).



Figura 9 – Análise de atividade microbiana do solo.

4. Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Nos casos em que o teste F foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey para $P < 0,05$. O programa estatístico utilizado foi o AgroEstat.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a massa seca da parte aérea (MSPA) apresentou incremento significativo no tratamento inoculado com *Rh. clarus* (Tabela 1). Esse resultado é coerente com o papel amplamente reconhecido dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em ambientes oligotróficos, nos quais atuam como facilitadores ecológicos. A maior produção de biomassa aérea

observada pode estar associada ao aumento da eficiência na absorção de nutrientes, especialmente fósforo, proporcionada pela extensa rede de hifas extrarradiculares dos FMA. (Wu et al., 2024)

Tabela 1- Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR) massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), altura de planta (ALT), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), IQD, SPAD em função da inoculação de diferentes microrganismos em *Hancornia speciosa*.

Tratament os	MFP A	MFR	MSP A	MSR	ALT	DC	NF	IQD	SPAD
	g	g	g	g	cm	mm	-	-	-
Controle	5,11 a	5,31 a	3,54 ab	3,45 a	20 a	1,79 a	9,83 a	0,05 a	29,24 a
ISO 23	4,91 a	4,99 a	3,43 ab	3,59 a	18,33 a	1,81 a	10,50 a	0,05 a	26,72 a
ISO 12	4,98 a	4,95 a	3,49 ab	3,58 a	18,25 a	1,68 a	9,16 a	0,05 a	25,88 a
ISO 5	4,90 a	4,95 a	3,28 b	3,58 a	19,25 a	1,62 a	10,16 a	0,05 a	26,07 a
<i>Rh. clarus</i>	6,10 a	5,35 a	4,08 a	3,66 a	21,5 a	1,88 a	12,33 a	0,05 a	26,64 a
<i>B. subtilis</i>	5,51 a	5,45 a	3,81 ab	3,50 a	19,5 a	1,94 a	10,66 a	0,06 a	29,09 a
Valores de F	1,51 ^N _s	0,51 ^N _s	3,01*	0,35 ^N _s	0,85 ^{NS}	1,11 ^N _s	1,46 ^{NS}	0,93 ^N _s	0,53 ^{NS}
Média geral	5,25	5,17	3,61	3,53	19,47	1,78	10,44	0,05	27,27
CV (%)	18,0	15,0 8	11,30	10,0 3	16,68	15,8 1	20,73	20,1 4	18,57

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{NS}: não significativo. Controle = Sem inoculação.

A micorrização tende a melhorar a exploração radicular, o balanço hídrico e a tolerância da planta a estresses abióticos, como acidez elevada e a toxicidade do solo, condições típicas dos solos de subsolo utilizados neste experimento

(Lethielleux-Juge, 2025). Dessa forma, mesmo em condições de solo de Cerrado, a simbiose micorrízica foi capaz de refletir em maior acúmulo de biomassa aérea, sugerindo que *R. clarus* foi eficiente em promover o crescimento inicial de *H. speciosa* (Figura 10).



Figura 10 - Mudras de *H. speciosa* sob os diferentes tratamentos biológicos avaliados.

Apesar disso, as demais variáveis (altura, diâmetro do coleto, massa seca radicular, número de folhas e IQD) não diferiram estatisticamente entre os tratamentos, indicando que nenhum dos microrganismos testados comprometeu o desenvolvimento das mudas (Tabela 1).

Tal resultado é semelhante ao observado em outros estudos com espécies nativas, nos quais a inoculação de microrganismos benéficos não prejudica o crescimento, mesmo quando a resposta positiva não é pronunciada (Weckner, 2021; Mattos-Abreu, 2018). Esse comportamento pode estar relacionado ao tempo de avaliação do experimento, uma vez que os benefícios significativos da inoculação de microrganismos se manifestam frequentemente em fases de desenvolvimento mais avançadas ou sob condições de estresse mais severas (Mitra et al., 2021). Além disso, a disponibilidade residual de nutrientes no substrato pode ter sido suficiente para suprir a demanda inicial da muda, minimizando a vantagem competitiva imediata da inoculação.

A relação indireta observada entre a colonização e as notas obtidas nos tratamentos sugere que a resposta da planta aos diferentes microrganismos pode estar associada à ativação de mecanismos de defesa mediados por látex (Tabela 2).

Tabela 2- Médias da atividade microbiana do solo (C-CO₂ liberado), colonização micorrízica (Col FMA), número de esporos (Nesp) e notas para a quantificação de células de látex em raízes (Notas) em função da inoculação de diferentes microrganismos em *Hancornia speciosa* Gomes no Município de Ilha Solteira, SP. 2025.

Tratamentos	C-CO ₂ liberado µg C-CO ₂ g ⁻¹ solo	Col FMA %	Nesp 100g solo	Notas -
Controle	11,85 a	20,33 d	8,66 d	5,15 abc
ISO 23	8,57 a	23,83 d	72,50 a	5,12 bc
ISO 12	7,71 a	21,33 d	76,50 a	5,02 c
ISO 5	10,11 a	41,00 c	47,83 c	5,25 ab
<i>Rh. clarus</i>	9,14 a	66,83 a	78,16 a	5,01 c
<i>B. subtilis</i>	10,14 a	56,00 b	59,50 b	5,35 a
Valores de F	1,97 ^{NS}	110,93 ^{**}	178,33 ^{**}	6,48 ^{**}

Média geral	9,59	38,22	57,19	5,15
CV (%)	26,30	12,03	8,47	2,44

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; NS: não significativo. Controle = Sem inoculação

Embora as micorrizas tenham apresentado maior porcentagem de colonização, esse avanço não resultou em maiores níveis de células de látex, uma possível explicação é que a planta não ativou suas defesas frente às micorrizas, possivelmente porque não as reconheceu como ameaça. Segundo Huber (2024), o látex funciona como uma barreira estrutural e bioquímica, capaz de limitar a entrada e o avanço de microrganismos, assim, a presença e quantidade de células de látex podem refletir o nível de alerta da planta diante de um determinado agente biológico.

Por outro lado, foi observado que na presença dos fungos endofíticos dark septate (DSE) houve um aumento significativo no número de células de látex, indicando que a planta possivelmente reconheceu esses fungos como potenciais invasores e ativou mecanismos defensivos. O látex, armazenado em células especializadas chamadas laticíferos, é liberado imediatamente após a lesão, atuando como a primeira linha de defesa pré-formada da planta. Ele contém uma ampla gama de proteínas, incluindo as Proteínas Relacionadas à Patogênese (PR-proteins), e metabólitos secundários com atividades antimicrobianas, que em conjunto estabelecem uma barreira química e física crucial contra a invasão de patógenos (Ramos et al., 2019). Dessa forma os resultados indicam que o padrão de produção de látex pode ser um marcador importante da forma como a planta interpreta e responde a diferentes relações com fungos endofíticos, determinando não apenas o tipo de interação estabelecida, mas também sua eficácia em promover o crescimento vegetal.

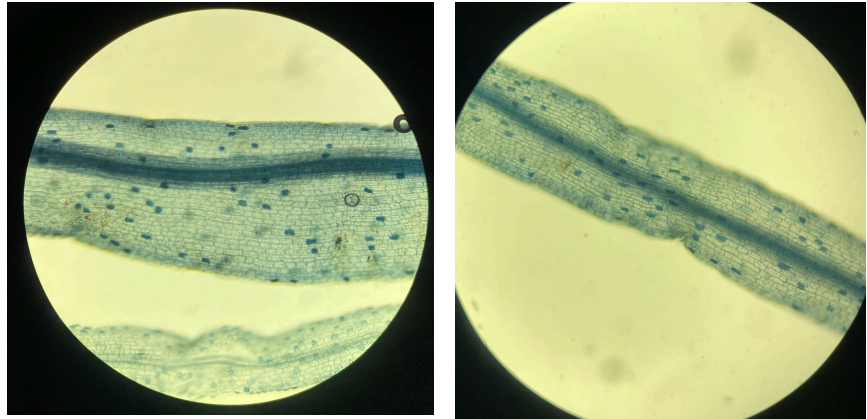
A presença de *Bacillus subtilis* promoveu um aumento expressivo na produção de células de látex, sugerindo que a bactéria atuou como indutora de respostas de defesa. A intensificação dessas estruturas pode estar relacionada à ativação de vias metabólicas associadas à resistência sistêmica induzida, uma vez que o *Bacillus* é capaz de estimular a síntese de compostos de defesa, lignificação e o acúmulo de metabólitos que reforçam barreiras estruturais das plantas. Segundo

Hashem et al. (2019), espécies de *Bacillus* desencadeiam a produção de enzimas e metabólitos secundários ligados à defesa, fortalecendo os tecidos vegetais e aumentando a resistência frente a estresses bióticos. Assim, o maior número de células de látex observado no tratamento com *B. subtilis* pode refletir a ativação desses mecanismos, indicando que a bactéria não apenas promove o crescimento, mas também potencializa a formação de estruturas anatômicas relacionadas à proteção da planta.

O aumento na esporulação dos FMA observado nos tratamentos inoculados com os DSE sugere que esses fungos podem ter exercido um efeito facilitador sobre a reprodução dos FMA. Embora a literatura aponte respostas variáveis entre esses grupos, há evidências de que os DSE possam modificar o ambiente radicular de forma a favorecer estruturas reprodutivas dos FMA. Carpenter et al. (2021) verificaram que a presença de DSE aumentou a formação de estruturas intraradiculares associadas ao armazenamento e reprodução dos FMA, assim, é possível que a colonização pelos DSE tenha contribuído para condições mais favoráveis à esporulação dos FMA.

O aumento significativo na colonização radicular por Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) na presença de *B. subtilis* demonstra uma associação entre a bactéria e o fungo na rizosfera. *B. subtilis* é uma rizobactéria promotora de crescimento de plantas cujo papel como Bactéria Auxiliar de Micorriza é amplamente reconhecido e se manifesta por meio de mecanismos tanto diretos quanto indiretos. A *B. subtilis* frequentemente possui a capacidade de solubilização de fosfato, melhorar a disponibilidade de nutrientes essenciais, como o fósforo (Giovelli et al., 2022). Além disso, pesquisas recentes apontam para o envolvimento dos genes exopoliméricos de *B. subtilis* na modulação do microbioma do solo (Nishisaka et al., 2024), sugerindo que a bactéria pode liberar compostos que atuam como sinais químicos que ativam ou potencializam a germinação dos esporos de FMA e o crescimento de hifas, facilitando a fase inicial da associação.

CONTROLE



ISO 23

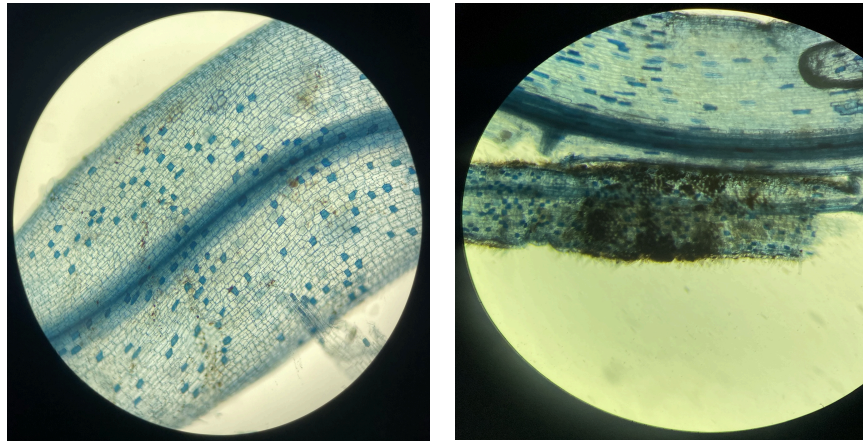
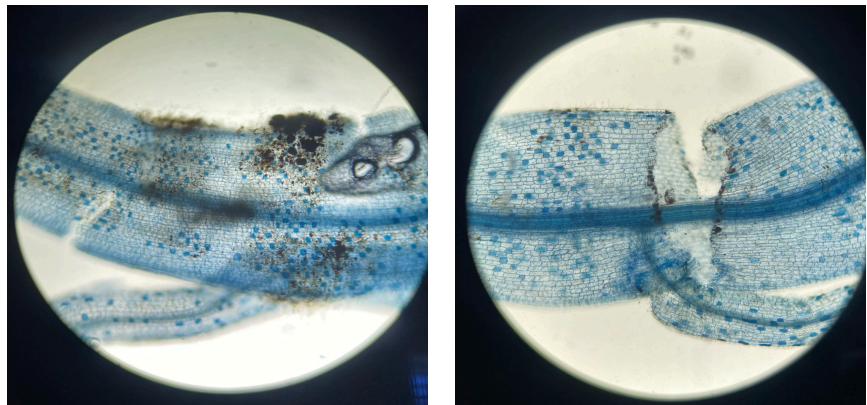


Figura 11 – Avaliação da colonização radicular de raízes de *Hancornia speciosa* Gomes sem inoculação (controle) e inoculada com microrganismos. Continua

ISO 12



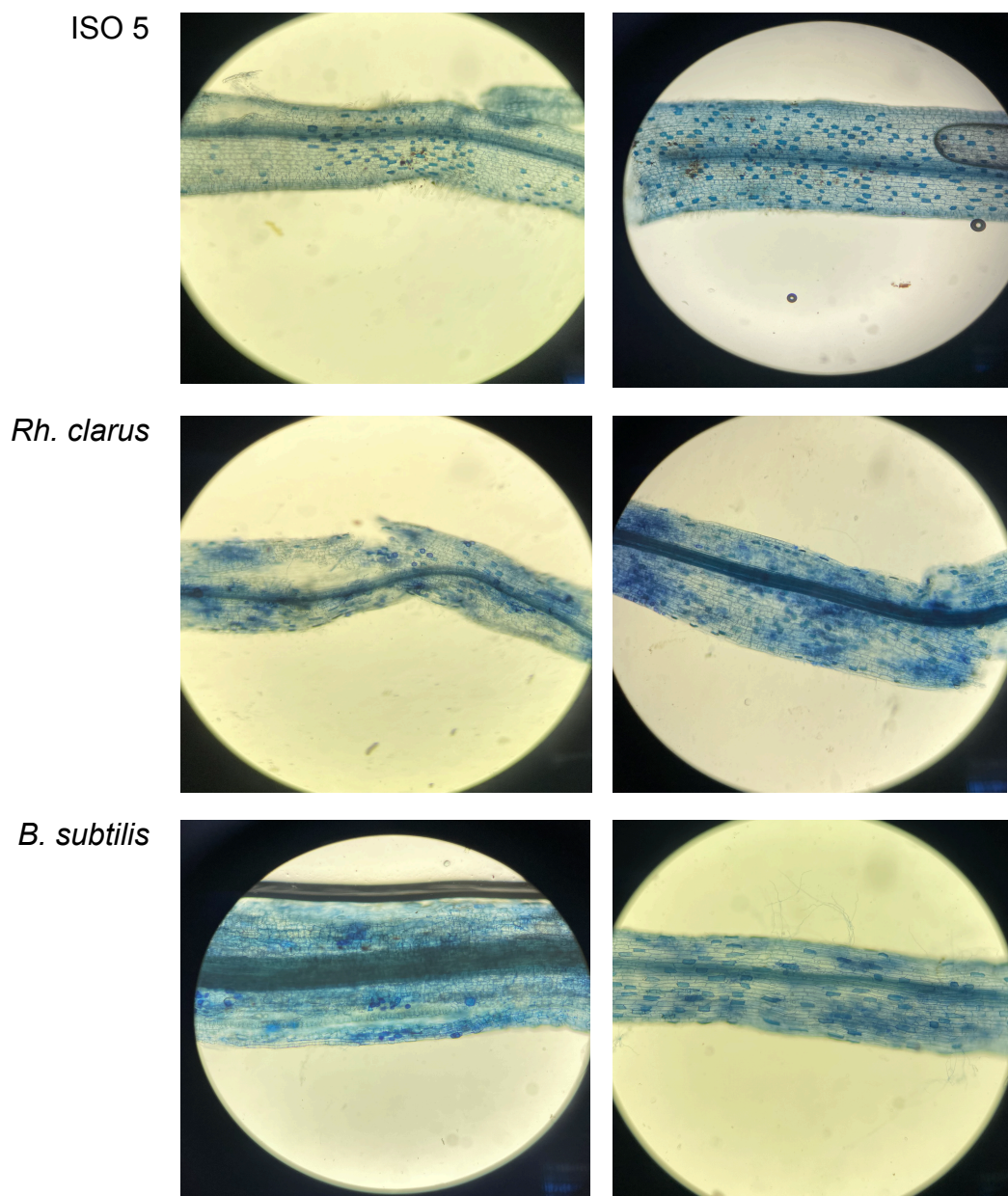


Figura 11 – Avaliação da colonização radicular de raízes de *Hancornia speciosa* Gomes sem inoculação (controle) e inoculada com microrganismos.

6. CONCLUSÃO

O estudo sugere que o benefício da inoculação de *Rh. clarus* é promissor para a fase inicial de crescimento de *H. speciosa*, e que a relação entre colonização e defesa é complexa, mediada pelo reconhecimento da planta.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No conjunto, os dados revelam que:

1. A simbiose com *Rh. clarus* foi eficiente em promover o crescimento inicial de Mangaba em condições de solo distrófico (evidenciado pelo aumento significativo da MSPA), agindo como um facilitador ecológico sem desencadear uma resposta defensiva intensa da planta.
2. O padrão de produção de látex é um marcador importante de como Mangaba interpreta e responde a diferentes microrganismos endofíticos. Enquanto os FMA (como *Rh. clarus*) são tolerados e promovem crescimento, outros fungos endofíticos (DSE) podem ser reconhecidos como invasores, ativando a produção de látex como uma linha de defesa.
3. Houve uma associação entre os grupos, uma vez que a presença de *B. subtilis* otimizou a colonização radicular por FMA, e os DSE aumentaram a esporulação micorrízica, destacando a importância da interação microbiana na rizosfera para a ecologia da Mangaba.

REFERÊNCIAS

- AKHTAR, N. et al. Insights into the beneficial roles of dark septate endophytes in plants under challenging environment: resilience to biotic and abiotic stresses. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 38, n. 5, p. 79, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03264-x>.
- ALMEIDA, L. M. de; NOGUEIRA, C. A.; BORGES, P. P.; PRADO, A. D. L.; GONÇALVES, P. J. State of the art of scientific literature on *Hancornia speciosa*: trends and gaps. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 38, n. 4, e869, 2016. <https://doi.org/10.1590/0100-29452016869>.
- ALMEIDA, V. M. V. et al. *Hancornia speciosa*: An overview focused on phytochemical properties, recent achievements, applications, and future perspectives. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, Amsterfam, v. 29, p. 100561, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100561>
- ALVES, E. M.; COELHO, M. A. P.; JARDIM, M. A. G.; LIMA, B. G.; CARVALHO, L. S.; SILVA, A. F.; SILVA-JUNIOR, J. F. Intercropping and environmental seasonality modulate the physiology and growth of *Hancornia speciosa* (Gomes). **CABI Agriculture and Bioscience**, Oxon, v. 5, art. 31, 2024. <https://doi.org/10.1186/s43170-024-00235-0>
- ALVES, L. J.; SILVA, J. F.; SILVA, M. F.; et al. Influência de *Bacillus* sp. na química do solo e crescimento de culturas agrícolas. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, Ciudad del México v. 12, n. 3, p. 383–396, 2021. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i3.2609>
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 21, n. 4, p. 471-479, 1989.
- ARRUDA, V. L. da S. et al. Assessing four decades of fire behavior dynamics in the Cerrado biome (1985 to 2022). **Fire Ecology**, New York v. 20, n. 1, p. 64, 2024. <https://doi.org/10.1186/s42408-024-00298-4>.
- BINI, Daniel et al. *Bacillus thuringiensis* CNPMS B116, a Brazilian strain from Cerrado, as a bioinoculant for improving maize yield and phosphorus use efficiency. **Archives of Microbiology**, v. 208, n. 1, p. 1-13, 2025. <https://doi.org/10.1007/s00203-025-04564-0>.
- BOGIANI, J. C. et al. **Sequestro de carbono em sistemas de produção de grãos e fibras em solo arenoso do Cerrado da Bahia**. Campinas: Embrapa Territorial, 2020. 29 p. (Folheto). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1124377/1/5317.pdf>.
- CARPENTER, Craig L. et al. Co-inoculation with a dark septate endophyte alters arbuscular mycorrhizal colonization of two widespread plants of the sagebrush steppe. **Symbiosis**, v. 85, n. 3, p. 343-357, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13199-021-00819-8>

CHAGAS JUNIOR, A. F. et al. *Bacillus subtilis* as a growth promoter of forest species seedlings *In. Uniting knowledge integrated scientific research for global development*. Seven Editora 2023. Chap. 122
<https://doi.org/10.56238/uniknowindevolp-122>

CHIMINAZZO, M. A. et al. To protect or to hide: Why not both? An investigation of fire-related strategies in Cerrado woody species. **Flora**, Rio de Janeiro, v. 305, p. 152293, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2023.152293>.

COIMBRA, R. R.; MATOS, V. F. DE; VIANA, R. H. O.; FERREIRA, W. DE M.; LÓLIS, S. DE F. Biometria de frutos e sementes e correlação entre variáveis em populações naturais de *Hancornia speciosa*. **Diversitas Journal**, Santana do Ipanema, v. 8, n. 1, p. 157–171, 2023. <https://doi.org/10.48017/dj.v8i1.2357>.

COLMAN, C. B. et al. Modeling the Brazilian Cerrado land use change highlights the need to account for private property sizes for biodiversity conservation. **Scientific Reports**, Berlin, v. 14, p. e4559, 2024. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55207-1>.

CORTAT, L. H.; RANGEL, D. S.; LAMBERT, J. C.; GOMES, J. P. A.; SILVA, M. A. B.; FIGUEIREDO, J. S. M.; ARAUJO, O. P.; SOUZA, M. N. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA): alternativa agroecológica para recuperação biológica dos solos degradados. In: SOUZA, M. N. (Org.). **Tópicos em recuperação de áreas degradadas**. Mérida: Mérida Publishers, 2022. Cap. 5.
<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-04-6.c5>.

COSTA, C. M. C. et al. Densidade de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares necessária para promover o crescimento de mudas de *Hancornia speciosa* Gomes. **Fruits**, Leuven, v. 58, n. 5, p. 247-254, 2003. <https://doi.org/10.1051/fruits:2003012>

COSTA, J. J.; SOUZA, R. M. e; MENDONÇA, F. A. Distribuição e Aproveitamento da Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em Sergipe, Nordeste, Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, Recife, v. 11, n. 1, p. 389-400, 2018.
<https://doi.org/10.26848/rbgf.v11.1.p389-400>

CRAWFORD, L. et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and associated microbiota as plant biostimulants: research strategies for the selection of the best performing inocula. **Agriculture**, Basel, v. 10, n. 1, p. e106, 2020.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 356 p.

ETESAMI, H.; JEONG, B. R.; GLICK, B. R. Potential use of *Bacillus* spp. as an effective biostimulant against abiotic stresses in crops—A review. **Current Research in Biotechnology**, Amsterdam, v. 5, p. e100128, 2023.
<https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2023.100128>.

FERREIRA, M. E. et al. Dams Pose a Critical Threat to Rivers in Brazil's Cerrado Hotspot. **Water**, Basel, v. 14, n. 22, p. e3762, 2022.
<https://doi.org/10.3390/w14223762>

FURQUIM, L. C. et al. Relação entre plantas nativas do Cerrado e água. **Cientific@ - Multidisciplinary Journal**, Anápolis, v. 5, n. 2, p. 146-156, 2018. <https://doi.org/10.29247/2358-260X.2018v5i2.p146-156>

GENRE, A. et al. Underground networks of arbuscular mycorrhizal fungi. Halle: University of Halle, 2019.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transaction of British Mycology Society**, v. 46, p. 234-244, 1963 [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)

GIOVELLI, Jéssica et al. Níveis de Fósforo e Inoculação de Sementes por *Bacillus megaterium* (CNPMS B119) e *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) no Crescimento e Desenvolvimento de Plantas de Soja. **Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 26, n. 4, p. 451-458, 2022. <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2022v26n4p451-458>

GONÇALVES, H. M.; AQUINO, F. de G. **Ocorrência natural, relação solo/planta, adubação e nutrição de pequi e barúzeiro**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2021. 33 p. (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111, n. 372). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1141132/1/Doc-372-Helenice.pdf>

HASHEM, Abeer et al. *Bacillus subtilis*: uma rizobactéria promotora do crescimento vegetal que também impacta o estresse biótico. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>

HUBER, M. Latex – a potential plant defense against microbes. *Trends in Microbiology*, v. 32, p. 1–12, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2023.12.010>.

HUERTAS, V. et al. Importance of dark septate endophytes in agriculture in the face of climate change. **Journal of Fungi**, Basel, v. 10, n. 5, p. 329, 2024. <https://doi.org/10.3390/jof10050329>.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant and Soil**, Dordrecht v. 73, p. 288-300, 1964.

LETHIELLEUX-JUGE, Christine. Papéis das simbioses micorrízicas e microbiomas do solo associados na restauração ecológica. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, p. 1456041, 2025. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1456041>

LIMA, T. M. de et al. Diagnose of soil fertility properties of a representative agricultural mesoregion in the Cerrado biome as affected by land use. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 4, 2024. 10.1590/0001-3765202420240116.

MATTOS-ABREU, G.. **Avaliação do crescimento inicial e qualidade de mudas de *Hancornia speciosa* em resposta a doses de fósforo e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares** Viçosa: UFV, 2023 Dissertação. Viçosa, 2018. . Disponível em:

<https://poscienciaflorestal.ufv.br/wp-content/uploads/2023/05/GUSTAVO-MATTOS-A-BREU.pdf>.

MITRA, Debasis et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis: plant growth improvement and induction of resistance under stressful conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v. 44, n. 13, p. 1993-2028, 2021. <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1881552>

NISHISAKA, Caroline Sayuri et al. Role of *Bacillus subtilis* exopolymeric genes in modulating rhizosphere microbiome assembly. **Environmental Microbiome**, v. 19, n. 1, p. 33, 2024. <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00567-4>

NÚÑEZ, R.A. V.; GARCÍA, J. C. R.; BEDMAR, E. J. Dark septate endophytes: A review. **Mol: Boletín de la Sociedad de Ciencias de Galicia, Pontevedra** n. 22, p. 1-13, 2022.

OLIVEIRA, J. M. S. P. **Conservação ex situ de *Hancornia speciosa* Gomes: o banco ativo de germoplasma da Embrapa Tabuleiros Costeiros**. 2018. 45 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2018. Disponível em: <https://ri.ufs.br/handle/riufs/11720>.

OLIVEIRA-PAIVA, C. A. et al. Microrganismos promotores de crescimento vegetal em cana-de-açúcar e outras gramíneas. In: SILVA, F. C. da; FREIRE, F. J. (ed.). Inovação e desenvolvimento em cana-de-açúcar: manejo, nutrição, bioinsumos, recomendação de corretivos e fertilizantes. Brasília, DF: Embrapa; Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2024. cap. 11, p. 387-412. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1167291>

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots for rapid assessment of infection. **Transaction of British Mycology Society**, v. 55, p. 158-161, 1970 [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)

QUINTÃO, J.M. B. et al. Mudanças do uso e cobertura da terra no Brasil, emissões de GEE e políticas em curso. **Ciência & Cultura**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 18-24, 2021. 10.21800/2317-66602021000100004.

RAIJ, B. van et al. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. 1.ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

RAMOS, M. V. et al. Laticifers, Latex, and Their Role in Plant Defense. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 6, p. 553-567, jun. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.03.006>

REZAEI DANESH, Y. Aproveitando micróbios benéficos e tecnologias de sensores para uma agricultura inteligente e sustentável. **Sensors**, v. 25, e6631, 2025. <https://doi.org/10.3390/s25216631>

REZENDE, C. C. et al. Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura. **Research, Society and Development**, Várzea Grande do Sul, v. 10, n. 2, e50810212725, 2021. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12725>.

SANTOS, M. et al. Advances in the Role of Dark Septate Endophytes in the Plant Resistance to Abiotic and Biotic Stresses. **Journal of Fungi**, Basel, v. 7, n. 11, p. 939, 2021. <https://doi.org/10.3390/jof7110939>.

SCHÜLER, J.; BUSTAMANTE, M. M. C. Spatial planning for restoration in Cerrado: Balancing the trade-offs between conservation and agriculture. **Journal of Applied Ecology**, v. 59, n. 10, p. 2616–2626, 2022. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14262>.

SMITH, S. E.; READ, D. J. Cellular anatomy of arbuscular mycorrhizal fungi. **Annual Review of Plant Biology**, 2023.

STRASSBURG, B. B. N. et al. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology & Evolution**, Berlin, v. 1, n. 4, p. e0099, 2017.

<https://doi.org/10.1038/s41559-017-0099>. TAVARES, D. S. et al. Unleashing the power of fungi: utilizing the arbuscular mycorrhizal fungi *Rhizophagus clarus* to mitigate salinity stress and boost cowpea bean productivity for food security. **Stresses** v. 4, n. 2, p. 393–410, 2024. <https://doi.org/10.3390/stresses4020026>

VARGEM, D.; BRAZ, V. Serviços Ecosistêmicos e a Potencialidade da Flora do Cerrado. **Fronteira: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, Anápolis, v. 13, n. 1, p. 9-20, 2024. <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2024v13i1.p9-20>

VEYA, Rosana Taschetto et al. *Phosphate solubilization capacity by bacteria in soybean crops*. Brazilian Journal of Biology, v. 85, p. 1–8, 2025. DOI: 10.1590/1519-6984.289630.

VILLA, V. et al. Soil microbiota on disease tolerance in plants: a review. **Research, Society and Development**, Várzea Grande do Sul, v. 10, n. 8, e25910817161, 2021. 10.33448/rsd-v10i8.17161.

WECKNER, F. C. et al. Produção de diferentes genótipos de mangabeira (*Harconia speciosa* Gomes) sob a aplicação de diversos tipos de biofertilizantes no município de Humaitá, AM. 2021. <http://riu.ufam.edu.br/handle/prefix/5952>

WU, Yingjie et al. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi improves plant biomass and nitrogen and phosphorus nutrients: a meta-analysis. **BMC plant biology**, v. 24, n. 1, p. 960, 2024. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05638-9>