

OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

12 CONSUMO E PRODUÇÃO RESPONSÁVEIS



COMUNICADO TÉCNICO

490

Colombo, PR  
Setembro, 2023



# Metodologia para inoculação de bactérias endofíticas em microestacas de guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa*)

Juliana Degenhardt  
Krisle da Silva  
Alexandre Klas Bico  
Marguerite Quoirin

# Metodologia para inoculação de bactérias endofíticas em microestacas de guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa*)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Juliana Degenhardt, engenheira-agrônoma, doutora em Ciências da Horticultura, pesquisadora da Embrapa Florestas, Colombo, PR; Krisle da Silva, engenheira-agrônoma, doutora em Microbiologia Agrícola, pesquisadora da Embrapa Florestas, Colombo, PR; Alexandre Klas Bico, engenheiro-agrônomo, mestre em Agronomia (Produção Vegetal) pela Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR; Marguerite Quoirin, engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, professora da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

## Introdução

A escassez iminente de insumos agrícolas é uma preocupação global crescente (FAO, 2017; Gopinath et al., 2017). A disponibilidade limitada de recursos naturais, como fosfatos e potássio, tem contribuído para o problema, ameaçando a produção de alimentos (FAO, 2017; Alewell et al., 2020). Fatores como mudanças climáticas, variações sazonais, instabilidades políticas e eventos naturais extremos podem impactar a produção e distribuição de insumos agrícolas (FAO, 2017; Tilman et al., 2017), causando aumento de preços em certas regiões e, ou períodos específicos, trazendo insegurança alimentar.

Embora o uso de insumos químicos tenha impulsionado a agricultura e viabilizado níveis de produção de alimentos capazes de sustentar a população mundial, seu uso prolongado e indiscriminado pode causar problemas ambientais, como a poluição do solo e da

água, a resistência de pragas e doenças, a perda de biodiversidade e riscos à saúde humana (Pimentel, 2005; Pretty et al., 2018). A exposição a esses produtos pode levar a efeitos adversos, como distúrbios neurológicos e câncer (Munro et al., 2003). Portanto, investimentos em pesquisa e desenvolvimento de soluções mais sustentáveis para a produção agrícola são cruciais (FAO, 2017; Gopinath et al., 2017).

O uso de microrganismos vivos na agricultura, na forma de bioinsumos, está em ascensão devido à sua eficiência e menor impacto ambiental (Buralli; Ribeiro, 2021; Souza et al., 2022). Bactérias endofíticas com capacidade de promover o crescimento vegetal têm sido utilizadas como bioinsumos com sucesso, dentre outros fatores, por sua capacidade de produzir hormônios vegetais, como as auxinas, o que pode diminuir a dependência de auxinas sintéticas na propagação vegetativa (Santoyo et al., 2016; Singh et al., 2017).

Ao realizar esforços para isolar bactérias endofíticas de uma planta, é comum obter centenas de isolados que são armazenados em coleções bacterianas. Esses isolados precisam passar por processos de identificação e avaliação para determinar sua capacidade de promover o crescimento e o enraizamento das plantas. Existem várias estratégias para investigar essa capacidade, sendo a inoculação de bactérias em microestacas de plantas cultivadas *in vitro* uma alternativa interessante, uma vez que essa abordagem permite o estudo em ambiente controlado e em um curto período de tempo, aproveitando o espaço limitado disponível. Além disso, a identificação de bactérias com potencial de promoção de crescimento é o primeiro passo para o desenvolvimento de inoculantes microbianos.

A Embrapa Florestas possui pesquisas em desenvolvimento que visam isolar, caracterizar e selecionar bactérias endofíticas com potencial de promoção de crescimento de plantas. Entre as coleções em estudo, existe uma coleção de bactérias isoladas de jabuticabeira [*Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts], que ainda não foi avaliada quanto à capacidade de seus isolados em promover o enraizamento e crescimento de plantas. A jabuticabeira pertence à família Myrtaceae, uma das principais famílias frutíferas em termos de diversidade de espécies nativas do Brasil (Kinupp, 2011; Proença et al., 2023). A avaliação dessas bactérias em plantas cultivadas *in vitro* da mesma família, como a guabirobeira [*Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg], pode oferecer uma

importante alternativa para determinar o seu potencial como promotoras de crescimento.

A guabirobeira é uma árvore frutífera nativa do Brasil, presente nos biomas Mata Atlântica e Pampa, com ocorrência nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (Oliveira et al., 2023). Apesar do alto valor nutritivo de seus frutos, que apresentam teores de alguns minerais, como potássio e cálcio, superiores aos encontrados em frutos popularmente consumidos no País, como a banana e a maçã (Andrade et al., 2012), o consumo de seus frutos é insípiente.

Além dos frutos, as folhas e cascas da guabirobeira são utilizadas na medicina popular contra diarreia, problemas do trato urinário e leucorreia (Carrara, 1997). Pesquisas também indicam seu potencial para redução de peso devido ao seu efeito no controle de certas condições associadas à obesidade (Biavatti et al., 2004; Klafke, 2009). Sua sementes são ricas em glândulas com óleo essencial (Sanhotene, 1989).

Embora já exista um protocolo eficiente para a propagação *in vitro* de guabirobeira, o enraizamento ainda é o principal gargalo de reprodução vegetativa *in vitro* (Machado et al., 2020) e por estaquia (Scutti; Zanette, 2000; Teleginski, 2016; Primak et al., 2017).

O presente estudo apresenta um método eficiente de inoculação de microestacas de guabirobeira com bactérias endofíticas isoladas de jabuticabeira. Este protocolo poderá ser aplicado ao estudo de bactérias de outros gêneros e, ou em outras espécies florestais e frutíferas, com potencial

tanto para a avaliação de coleções de bactérias, quanto para o enraizamento de espécies recalcitrantes, como última etapa de sua micropropagação.

## Equipamentos

### Laboratório de Microbiologia

- Freezer para estoque da coleção de bactérias por longos períodos;
- Shaker incubadora e estufa com controle de temperatura para o crescimento de colônias de bactéria em meio de cultura líquido;
- pHmetro, balança, microondas, autoclave para preparo dos meios de cultura.

### Laboratório de Cultura de Tecidos

- Cabine de fluxo laminar para a repicagem das microestacas e inoculação das bactérias;
- Geladeira para a conservação das bactérias entre repicagens ou antes de seu uso e para armazenamento de soluções estoque;
- pHmetro, balança, microondas, autoclave para preparo dos meios de cultura de micropropagação da guabirobeira;
- Sala climatizada com controle de temperatura e fotoperíodo para a micropropagação da guabirobeira.

## Material e Métodos

### Material micropropagado de guabirobeira

O protocolo de micropropagação de guabirobeira utilizado já está publicado (Machado et al., 2020).

### Bactérias endofíticas

#### Espécies e procedência

Para o desenvolvimento deste protocolo foram empregadas bactérias provenientes da Coleção de bactérias multifuncionais da Embrapa Florestas, previamente isoladas de folhas e meristemas de jabuticabeira (*Plinia peruviana*) (Queiroz et al., 2020), identificadas com a sigla CNPF seguida de um código numérico (de 1 até 65 para os isolados de *P. peruviana*) e armazenadas em freezer (-20 °C). Foram selecionados 13 isolados da coleção para este trabalho (CNPF 1, CNPF 2, CNPF 3, CNPF 4, CNPF 10, CNPF 11, CNPF 12, CNPF 14, CNPF 22, CNPF 23, CNPF 25, CNPF 33 e CNPF 51), incluindo bactérias dos gêneros *Pantoea* (CNPF 23 e CNPF 33), *Bacillus* (CNPF 1), *Stenotrophomonas* (CNPF 2 e CNPF 4) e *Pseudomonas* (CNPF 3). Estes isolados foram selecionados devido a resultados de pesquisa anterior, na qual se constatou sua capacidade de produzir auxinas (compostos indólicos) (Queiroz et al., 2020), principal regulador de crescimento vegetal responsável pela indução da rizogênese (Hartmann et al., 2018). Embora o presente comunicado tenha sido desenvolvido com base nos resultados obtidos com a inoculação

destas bactérias nas microestacas de guabirobeira, é possível utilizar outras bactérias de interesse. Além disso, a estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasiliense*, recomendada para *Zea mays* (Poaceae) também foi avaliada mediante utilização do mesmo protocolo, como controle positivo.

### Cultivo e armazenamento das bactérias em alíquotas de uso

As bactérias da coleção foram repicadas mensalmente em placas de Petri descartável de 60 x 15 mm, contendo meio de cultura com dextrose, extrato de levedura e glutamato (DYGS) sólido (Rodrigues Neto et al., 1986).

Composição do meio DYGS sólido:

- Glicose (2 g L<sup>-1</sup>)
- Ácido málico (2 g L<sup>-1</sup>)
- Peptona bacteriológica (1,5 g L<sup>-1</sup>)
- Extrato de levedura (2 g L<sup>-1</sup>)
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,5 g L<sup>-1</sup>)
- MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0,5 g L<sup>-1</sup>)
- Ácido glutâmico (1,5 g L<sup>-1</sup>)
- 15 g L<sup>-1</sup> de ágar
- O pH do meio foi ajustado para 6,5. Autoclavagem: 20 min sob temperatura de 121 °C.

Para o crescimento, as bactérias plaqueadas são incubadas em BOD com temperatura de 28 ± 2 °C, durante 24 ou 48 horas, dependendo da velocidade de crescimento do isolado. Após serem retiradas da BOD, são armazenadas em geladeira sob temperatura de 4 °C para

conservação até eventual uso, para inoculação ou próxima repicagem.

## Inoculação das microestacas de guabirobeira

### Preparo do material vegetal

As brotações de guabirobeira mantidas em cultivo de micropropagação são utilizadas após um mês de repicagem para o meio de cultura de multiplicação, conforme descrito por Machado et al. (2020).

Como explantes para o desenvolvimento deste protocolo foram utilizadas microestacas apicais de aproximadamente 1,5 cm de comprimento e contendo, pelo menos, três nós, mantendo-se apenas o par de folhas mais jovem.

Composição do meio de cultura para indução de brotações axilares na micropropagação de guabirobeira (Machado et al., 2020):

- Sais do meio WPM (Lloyd; McCown, 1980)
- 2,2 µM de 6-benzilaminopurina (BAP)
- 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose
- 7 g L<sup>-1</sup> de ágar
- pH ajustado para 5,8.
- Autoclavagem: 20 min sob temperatura de 121 °C.

### Preparo das bactérias

Placas previamente obtidas a partir da repicagem da coleção de bactérias endofíticas são utilizadas para iniciar a multiplicação, para posterior inoculação em microestacas de guabirobeira (Figura 1). Para isso, as bactérias são repicadas em nocas placas de Petri contendo meio DYG'S sólido e incubadas a 28 °C. Após o crescimento, as bactérias são multiplicadas em meio DYG'S líquido (10 ml). As bactérias são então novamente incubadas, por 24 horas, a 28 °C e com agitação constante de 150 rpm.

Após o crescimento das suspensões bacterianas em meio de cultura líquido, a densidade ótica a 600 nm ( $DO_{600}$ ) é aferida em espectrofotômetro. Para o presente protocolo foram aceitos valores entre 0,600 e 0,800. Para a aferição, o meio de cultura DYGS líquido sem bactérias é utilizado como “branco”. Após a aferição, as soluções bacterianas são despejadas em uma placa de Petri esterilizada (uma placa para cada isolado de bactéria), onde serão inoculadas as bases das microestacas.

### Inoculação das microestacas

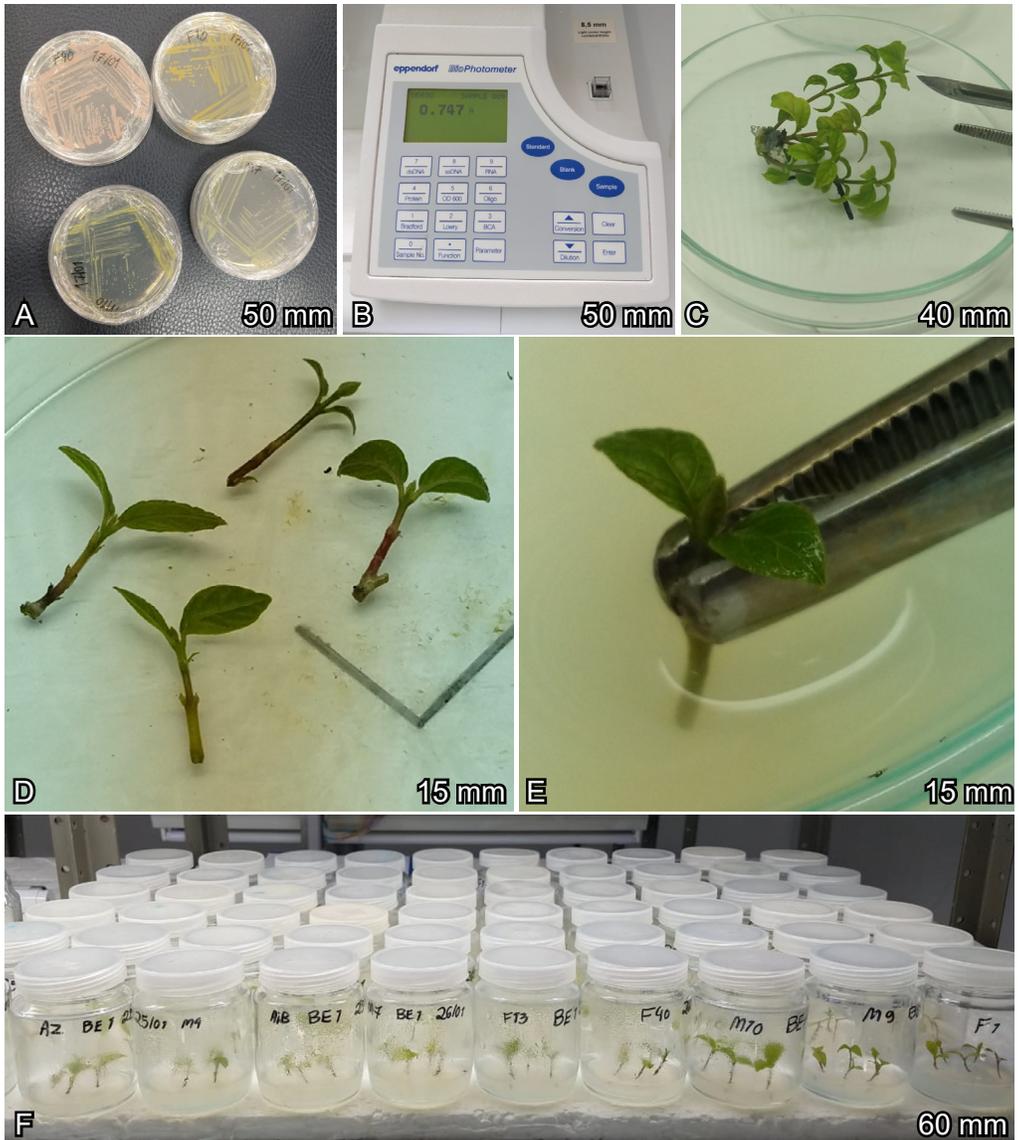
A porção basal das microestacas de guabirobeira (2 mm a 7 mm), preparadas conforme anteriormente descrito, são mergulhadas na solução bacteriana acondicionada na placa de Petri e permanecem por três segundos (tratamento pulso). A seguir, as microestacas são introduzidas em frascos (9 cm de altura, 7 cm de

diâmetro no fundo, 5 cm de diâmetro na boca e tampa de polipropileno) contendo 30 mL de meio de cultura WPM semisólido sem reguladores do crescimento vegetal (Figura 1).

No presente protocolo foram introduzidas cinco microestacas por frasco, podendo variar de acordo com a disponibilidade de frascos para o cultivo in vitro.

### Crescimento e aclimatização

Os frascos contendo as microestacas inoculadas são mantidos em temperatura de  $23 \pm 2$  °C, sob luz fornecida por lâmpadas LED tubulares (Elgin® branca fria), com irradiância de  $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 h. Após 45 dias, as microestacas já apresentam raízes totalmente formadas e os frascos podem ser abertos gradativamente ao longo de sete dias, iniciando a etapa de aclimatização. Após a abertura total da tampa, as microestacas enraizadas podem ser retiradas do frasco, quando, então, o meio de cultura deve ser lavado de suas raízes cuidadosamente sob água corrente, e elas podem, ser introduzidas em bandejas contendo vermiculita como substrato. A bandeja deve ficar inicialmente totalmente coberta por plástico, mantendo a umidade alta com irrigação regular (pode haver variação de periodicidade; o importante é que seja mantida alta umidade). O plástico deve ser aberto ou furado gradativamente ao longo de sete a dez dias até sua completa remoção. A partir de então, as mudas podem ser cultivadas em casa de sombra,



**Figura 1.** Processo de inoculação de bactérias endofíticas em microestacas de *Campomanesia xanthocarpa*. (A) Colônias de bactérias endofíticas cultivadas em meio de cultura DYGS sólido; (B) Espectrofotômetro medindo a  $DO_{600}$  de uma alíquota de suspensão bacteriana; (C) Explantes de *Campomanesia xanthocarpa* retirados de meio de cultura para indução de brotações; (D) Microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* cortadas e preparadas para a inoculação com bactérias endofíticas; (E) Microestaca em contato com suspensão bacteriana para a inoculação; (F) Cultivo de microestacas em sala de crescimento.

sob temperatura ambiente, com regas manuais diárias. Os procedimentos para

essas etapas do protocolo estão ilustrados na Figura 2.



**Figura 2.** Microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* inoculadas com as bactérias endofíticas. (A) Microestacas em meio de cultura após a inoculação com as bactérias; (B) Microestacas enraizadas 42 dias após a inoculação com bactérias endofíticas; (C) Estacas enraizadas sendo aclimatizadas.

## Avaliações

O crescimento das bactérias nas microestacas inoculadas pôde ser comprovado pelo halo de crescimento observado em volta da base do explante, visível, em média, a partir de três dias de cultivo. Para algumas estirpes (CNPf 10, CNPF 11 e CNPF 51) houve inclusive um super crescimento, caracterizado pela presença de bactéria em todo o meio de cultura. Em alguns destes casos, esse super crescimento foi prejudicial, uma vez que acabou por causar desfolha severa ou morte dos explantes. Nestes casos, recomenda-se que a concentração inicial da bactéria seja diminuída até que se observe o crescimento restrito a um halo ao redor dos explantes.

Com relação à eficiência das bactérias como promotoras de enraizamento e crescimento de plantas, foram avaliadas as características: porcentagem de enraizamento, número de raízes, comprimento da raiz mais longa, número de folhas,

comprimento da parte aérea, podendo ser utilizados outros parâmetros, dependendo da espécie e objetivo dos estudos.

## Considerações finais

Algumas estirpes avaliadas influenciaram positivamente o enraizamento (CNPf 23 e CNPF 33) e crescimento das plantas in vitro, o que demonstra que houve a infecção das microestacas com as bactérias utilizadas, comprovando a eficiência deste protocolo de inoculação.

O protocolo em questão viabiliza a avaliação de bactérias, com o propósito de potencializar o processo de enraizamento e desenvolvimento inicial de mudas de espécies vegetais, como a guabirobeira. A aplicação de bactérias promotoras de crescimento, isoladas a partir de plantas nativas e da rizosfera brasileira, se mostra vantajosa em termos ambientais em comparação com produtos químicos e tem como objetivo final o uso eficiente e

sustentável dos recursos naturais. Essas ações apresentam forte alinhamento às metas dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas (ONU), em especial do ODS12.

## Referências

- ALEWELL, C.; RINGEVAL, B.; BALLABIO, C.; ROBINSON, D. A.; PANAGOS, P.; BORRELLI, P. Global phosphorus shortage will be aggravated by soil erosion. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18326-7>.
- ANDRADE, D. R. M.; HELM, C. V.; MAZZA, C. A.; MAZZA, M. C. M. Caracterização por composição nutricional da guabiropa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Anais [...]**. Bento Gonçalves: SBF, 2012.
- BIAVATTI, M. W.; FARIAS, F. C.; CURTIUS, L. M. BRASIL; HORT, S.; SCHUSTER, L.; LEITE, S. N.; PRADO, S. R. T. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) JF Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2-3, p. 385-389, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.04.015>.
- BURALLI, R. J.; RIBEIRO, H. Uso de pesticidas agrícolas e impactos ao meio ambiente e à saúde humana. In: ANDREOLI, C. V.; PHILIPPI JUNIOR, A. (ed.). **Sustentabilidade no agronegócio**. Santana de Parnaíba: Manole, 2021. p. 664-701.
- CARRARA, M. dos R. **Espécies de Campomanesia Ruiz & Pavon (Myrtinae, Myrtaceae) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro**. 1997. 222 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- FAO. **The future of food and agriculture: trends and challenges**. Rome, 2017. 180 p.
- GOPINATH, G.; KALEMLI-OZCAN.; KARABARBOUNIS, L.; VILLEGAS-SANCHEZ C. "Capital Allocation and Productivity in South Europe." **Quarterly Journal of Economics**, v. 132, n. 4, p. 1915-1967, 2017.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D.; DAVIES, F. T.; GENEVE R. L.; WILSON S. B. **Hartmann & Kester's plant propagation: principles and practices**. 9. ed. New York: Pearson Education Limited, 2018.
- KLAFKE, J. Z. **Efeitos da Campomanesia xanthocarpa em parâmetros bioquímicos, hematológicos e de estresse oxidativo em pacientes hipercolesterolêmicos**. 2009. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Santa MariaRS.
- KINUPP, V. F. Espécies alimentícias nativas da Região Sul do Brasil. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Sul**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2011. p. 107-110.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, v. 30, p. 421-427, 1980.
- MACHADO, J. S.; DEGENHARDT, J.; MAIA, R. F.; QUOIRIN, M. Micropropagation of *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae), a medicinal tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Trees**, p. 1-9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-020-01958-z>.
- MUNRO, I. C.; CARLO, J. L.; ORR, J. C.; SUND, K. G.; WILSON, R. M.; KENNEPOHL E.; LYNCH B. S.; JABLINSKE M.; LEE N. L. A comprehensive, integrated review and evaluation of the scientific evidence relating to the safety of the herbicide glyphosate. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 33, n. 4, p. 407-475, 2003. DOI: <https://doi.org/10.3109/1091581920914189>.
- OLIVEIRA, M. I. U.; COSTA, I. R.; PROENÇA, C. E. B. *Campomanesia*. In: FLORA e Funga do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB10335>. Acesso em: 7 mar. 2023
- PIMENTEL, D. Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. **Environment, Development and Sustainability**, v. 7, n. 2, p. 229-252, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10668-005-7314-2>

- PRETTY, J.; BHARUCHA, Z. P.; PEREIRA, A. A. Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. In: YADAV, S. S.; REDDEN, R.; HATFIELD, J. L.; LOTZE-CAMPEN, H.; HALL, A. E. (ed.). **Crop adaptation to climate change**. 2nd ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2018. p. 71-83.
- PRIMAK, T. K.; LIMA, C. M.; CASSARINO, J. P. Ácido indololacético e ácido indolbutírico, na reprodução vegetativa da Guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg) via estaquia. **Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS**, v. 7 n. 1, 2017.
- PROENÇA, C. E. B.; AMORIM, B. S.; ANTONICELLI, M. C.; BÜNGER, M.; BURTON, G. P.; CALDAS, D. K. D.; COSTA, I. R.; FARIA, J. E. Q.; FERNANDES, T.; GAEM, P. H.; GIARETTA, A.; LIMA, D. F.; LOURENÇO, A. R. L.; LUCAS, E. J.; MAZINE, F. F.; MEIRELES, L. D.; OLIVEIRA, M. I. U.; PIZZARDO, R. C.; ROSA, P. O.; SANTANA, K. C.; SANTOS, L. L. D.; SANTOS, M. F.; SOUZA, M. C.; SOUZA, M. A. D.; STADNIK, A.; STAGGEMEIER, V. G.; TULER, A. C.; VALDEMARIN, K. S.; VASCONCELOS, T. N. C.; VIEIRA, F. C. S.; WALTER, B. M. T.; SOBRAL, M. *Myrtaceae*. In: FLORA e Funga do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2023. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>. Acesso em: 7 mar. 2023.
- QUEIROZ, E. G.; DEGENHARDT, J.; QUOIRIN, M.; DA SILVA, K. Endophytic bacteria associated with tissue culture and leaves of *Plinia peruviana*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2020.v55.01844>.
- RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JÚNIOR, V. A.; VICTOR, O. Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. citri tipo B. **Summa Phytopathol**, v. 12, p. 16, 1986.
- SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre: Sagra, 1989. 306 p.
- SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. del C.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92-99, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>.
- SCUTTI, M. B.; ZANETTE, F. Propagação vegetativa da guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) in vitro e por estaquia. **Scientia Agraria**, v. 1, n. 12, p. 75-82, 2000.
- SINGH, M.; KUMAR, A.; SINGH, R.; PANDE, K. D. Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. **3 Biotech**, v. 7, n. 5, p. 1-14, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0942-z>.
- SOUZA, F. P. de; CASTILHO, T. P. R.; MACEDO, L. O. B. An institutional framework for Bioinputs in Brazilian agriculture based on Ecological Economics. **Sustainability in Debate**, v. 13, n. 1, p. 247-247, 2022. <https://doi.org/10.18472/SustDeb.v13n1.2022.40820>
- TELEGINSKI, F. **Propagação vegetativa e germinação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg**. 2016. 95 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- TILMAN, D.; CLARK, M.; WILLIAMS, D.; KIMMEL K.; POLASKY S.; PACKER C. Future threats to biodiversity and pathways to their prevention. **Nature**, v. 546, p. 73-81, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature22900>.

**Embrapa Florestas**

Estrada da Ribeira, km 111, Guaraituba,  
Caixa Postal 319  
CEP 83411-000, Colombo, PR  
Fone: (41) 3675-5600  
www.embrapa.br/florestas  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**1ª edição**

Publicação digital (2023): PDF



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA E  
PECUÁRIA

**Comitê Local de Publicações  
da Embrapa Florestas**

Presidente

*Patrícia Póvoa de Mattos*

Vice-Presidente

*José Elidney Pinto Júnior*

Secretária-executiva

*Elisabete Marques Oaida*

Membros

*Annete Bonnet**Cristiane Aparecida Fioravante Reis**Elenice Fritzsos**Guilherme Schnell E Schühli**Marilice Cordeiro Garrastazú**Sandra Bos Mikich**Susete do Rocio Chiarello Penteado**Valderés Aparecida de Sousa*

Supervisão editorial/Revisão de texto

*José Elidney Pinto Júnior*

Normalização bibliográfica

*Francisca Rasche (CRB-9/1204)*

Projeto gráfico da coleção

*Carlos Eduardo Felice Barbeiro*

Editoração eletrônica

*Celso Alexandre de Oliveira Eduardo*

Fotos da capa

*Alexandre Klas Bico*

CGPE: 018259