

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS MORRINHOS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE  
TOMATE MEDIADA POR ISOLADOS BACTERIANOS

Autora: Thammi Queuri Gomes da Cunha  
Orientadora: DSc. Miriam Fumiko Fujinawa  
Coorientador: DSc. Nadson de Carvalho Pontes

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS MORRINHOS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE  
TOMATE MEDIADA POR ISOLADOS BACTERIANOS

Autor: Thammi Queuri Gomes da Cunha  
Orientador: DSc. Miriam Fumiko Fujinawa  
Coorientador: DSc. Nadson de Carvalho Pontes

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM OLERICULTURA, no Programa de Pós-Graduação em Olericultura, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos – Área de concentração Manejo Fitossanitário em Olerícolas.

MORRINHOS - GO  
2017

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos**

C972p Cunha, Thammi Queuri Gomes da.

Promoção de crescimento de plantas de tomate mediada por isolados bacterianos. / Thammi Queuri Gomes da Cunha. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2017.

41 f. : il. color.

Orientadora: Dra. Miriam Fumiko Fujinawa.

Co-orientador: Dr. Nadson de Carvalho Pontes.

Trabalho de conclusão de curso (mestrado) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Olericultura, 2017.

1. *Solanum lycopersicum* L. 2. BPCP. 3. Solubilização de fosfato. I. Fujinawa, Miriam Fumiko. II. Pontes, Nadson de Carvalho. III. Instituto Federal Goiano. Mestrado Profissional em Olericultura. IV. Título

CDU 635.64

## AGRADECIMENTOS

É imprescindível que ao se falar de agradecimento todo o reconhecimento seja, sobretudo, para Ele, meu querido Deus, que me deu a força que eu jamais imaginaria que tivesse.

Porém, essa força também é proveniente do apoio e incentivo de meus pais (Terezinha e Guilhermino) e irmãs (Thaiane e Thauanna), que me disseram: - você vai conseguir! Obrigada família!

Meu esposo, Leonardo, obrigada pela compreensão, por fazer do meu sonho o teu e aceitar o desafio. Minha amada filha, Antonella, obrigada por, apesar dos vários dias ausente, me receber sempre com um sorriso sincero que irradiava amor! Você, tão pequenina, me revigorava com uma força inexplicável.

Minha querida amiga Alyne, você está em todos os meus agradecimentos. Obrigada por acreditar em mim e doar seu tempo para me ajudar.

*Gracias*, minha orientadora Fumiko e coorientador Nadson que propuseram este trabalho e confiaram em mim a execução. Ao professor Helson e à Catharine que ajudaram a desenvolver parte deste trabalho. À Embrapa Cerrados - CPAC, representada pelo Fábio Bueno e a equipe do laboratório de microbicologia que auxiliaram toda a parte laboratorial, me instruindo pacientemente.

Devo agradecer ainda, à este programa de pós-graduação por ter acreditado no meu potencial ao me selecionar para o curso.

Enfim, não conseguiria chegar até aqui sem a ajuda de todas estas pessoas. É um sonho realizado, uma conquista! Uma gratidão imensa!

Muito obrigada!

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Thammi Queuri Gomes da Cunha, filha de Terezinha Gomes da Cunha e Guilhermino Gomes da Cunha, nasceu em Tucuruí – PA, no dia 08 de abril de 1987. Graduada em Tecnologia em Gestão Ambiental, em 2003, e especialista em Auditoria, Perícia e Gestão Ambiental, em 2007. Posteriormente, ingressou no curso de Agronomia, pela Universidade Estadual de Goiás, Campus Palmeiras de Goiás, concluindo-o em 2014. No ano de 2016, entrou para o Programa de Pós-Graduação em Olericultura pelo Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos.

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	2
2.1 O tomateiro.....	2
2.1.1 Histórico, taxonomia e descrição.....	2
2.1.2 Importância nutricional, econômica e social .....	3
2.1.3 Fatores que afetam a produção .....	4
2.1.4 Promoção de crescimento.....	5
2.2 Mecanismos de promoção de crescimento.....	6
2.2.1 Mecanismos diretos.....	6
2.2.2 Mecanismos indiretos.....	7
2.3 <i>Bacillus</i> spp. ....	8
2.4 Referências bibliográficas .....	10
3 CAPÍTULO I .....	15
Promoção de crescimento em tomateiro mediada por isolados bacterianos.....	15
RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	16

3.1	Introdução .....	17
3.2	Material e métodos .....	18
3.2.1	Desenvolvimento de plântulas de tomateiro em resposta à aplicação da suspensão bacteriana. ....	18
3.2.2	Crescimento e caracterização dos isolados.....	19
3.2.3	Avaliação da capacidade de solubilização de fosfato .....	19
3.2.4	Avaliação da capacidade de produzir AIA .....	20
3.3	Resultados e discussão.....	20
3.4	Conclusão.....	29
3.5	Referências bibliográficas.....	30

## RESUMO

CUNHA, THAMMI QUEURI GOMES. Instituto Federal Goiano, Campus Morrinhos, janeiro de 2017. **Promoção de crescimento em tomateiro mediada por isolados bacterianos.** Orientadora: Miriam Fumiko Fujinawa. Coorientador: Nadson de Carvalho Pontes.

A tendência da agricultura moderna é conduzir suas práticas de manejo que permitam um bom desempenho produtivo mesmo que as plantas estejam submetidas a condições adversas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de promoção de crescimento de plantas de tomate por isolados bacterianos, bem como elucidar os mecanismos de ação destes microrganismos por meio da verificação da síntese de ácido indol-3-acético (AIA) e da solubilização de fosfatos. Os ensaios foram realizados em duas etapas. A primeira etapa foi em condição de casa-de-vegetação, onde os isolados bacterianos foram avaliados quanto à habilidade de promover o crescimento de plantas de tomate cv. Santa Clara, considerando duas formas de aplicação, via solo e foliar. Sete variáveis foram avaliadas: diâmetro de colo, altura da planta, área foliar, índice SPAD, comprimento de raiz, massa fresca e massa seca de raiz. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial com dois modos de aplicação. Posteriormente, no segundo ensaio, estes microrganismos foram avaliados *in vitro* quanto à capacidade de sintetizar AIA e solubilizar fosfato. A produção de AIA foi quantificada a partir da leitura da absorbância em espectrofotômetro. Para a solubilização de fosfato foram utilizados os meios de cultura sólidos NBRIP, GL (P) e

YED. A constatação de colônias solubilizadoras foi identificada pela presença de um halo transparente ao redor das colônias. Os isolados GF264, GF274 e GF451 se mostraram promissores para a maioria das características morfológicas avaliadas. No entanto, não foi possível relacionar a promoção de crescimento de plantas com a síntese de AIA e solubilização de fosfatos. Assim, os resultados deste trabalho sugerem a realização de outros estudos para elucidar quais mecanismos de ação são responsáveis pelo crescimento de plantas pelos isolados bacterianos avaliados.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Solanum lycopersicum* L., auxina, BPCP, mecanismo de ação, solubilização de fosfato.

## ABSTRACT

CUNHA, THAMMI QUEURI GOMES. Goiano Federal Institute, Morrinhos Campus, 2017, january. **Growth promotion in tomato mediated by bacterial isolates**. Advisor: Miriam Fumiko Fujinawa. Coadvisor: Nadson de Carvalho Pontes.

The trend of modern agriculture is to conduct its management practices that allow a good productive performance even if the plants are subjected to adverse conditions. The objective of this work was to evaluate the ability to promote the growth of tomato plants by bacterial isolates, as well as to elucidate the mechanisms of action of these microorganisms by verifying the synthesis of indole-3-acetic acid (IAA) and solubilization of phosphates. The tests were performed in two stages. The first stage was in a greenhouse condition, where the bacterial isolates were evaluated for the ability to promote the growth of cv. Santa Clara, considering two forms of application, via soil and foliage. Seven variables were evaluated: neck diameter, plant height, leaf area, SPAD index, root length, fresh mass and root dry mass. The experimental design was a randomized complete block design with two modes of application. Subsequently, in the second assay, these microorganisms were evaluated in vitro for the ability to synthesize IAA and solubilize phosphate. The IAA production was quantified by reading the absorbance spectrophotometer. For solubilization of phosphate the solid culture media NBRIP, GL (P) and YED were used. The finding of solubilizing colonies was identified by the presence of a transparent halo around the colonies. Isolates GF264, GF274 and GF451 were shown to be promising for most of the morphological characteristics

evaluated. However, it was not possible to relate the promotion of plant growth with the synthesis of IAA and solubilization of phosphates. Thus, the results of this work suggest the realization of other studies to elucidate which mechanisms of action are responsible for the growth of plants by the evaluated bacterial isolates.

**KEYWORDS:** *Solanum lycopersicum* L., auxin, BPCP, mechanism of action, phosphate solubilization.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A tomaticultura é responsável por gerar renda durante o ano todo para o estado de Goiás, contudo, para o cultivo do tomateiro são necessárias quantidades elevadas de fertilizantes, embora a quantidade absorvida pela planta seja muito pequena (SILVA et al., 2006). Além disso, outros fatores afetam a produção de tomate, como as moléstias e adversidades climáticas, fazendo com que as plantas necessitem de medidas reparadoras, como manejo com fertilizantes e fungicidas, para garantir a produção (CEPEA; HORTIFRUTI, 2016).

Práticas alternativas de manejo, como a utilização de microrganismos, têm obtido resultados satisfatórios na promoção de crescimento e desenvolvimento de plantas. Bactérias promotoras de crescimento em plantas não só promovem o crescimento de forma direta, como também agem na RSI – Resistência Sistêmica Induzida e TSI – Tolerância Sistêmica Induzida (AHEMAD e KIBRET, 2013; GLICK, 2014).

A inserção destes micróbios no sistema de produção agrícola promove um grande benefício econômico e ambiental (FREITAS e AGUILAR VILDOSO, 2004). Contudo, é importante conhecer os mecanismos de ação envolvidos na promoção de crescimento de plantas, bem como quantificá-los a fim de selecionar os microrganismos com maior potencial de uso.

O objetivo desse estudo foi identificar isolados bacterianos capazes de promover o crescimento do tomateiro e caracterizá-los quanto aos mecanismos de ação envolvidos na promoção de crescimento de plantas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O tomateiro

#### 2.1.1 Histórico, taxonomia e descrição

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma hortaliça cosmopolita, originária das Américas, especificamente da região Andina. O centro de origem primário é um estreito território que faz fronteiras ao norte pelo Equador, ao sul pelo norte do Chile, a oeste pelo oceano Pacífico e a leste pela Cordilheira dos Andes. No entanto, a domesticação do tomateiro ocorreu por tribos indígenas primitivas do México, onde foi denominado de Tomate (GIORDANO e RIBEIRO, 2000; SILVA et al., 2007).

A princípio o tomateiro era apenas ornamental, pois a utilização de seu fruto na culinária causava receio pelo temor à toxicidade, visto que pertencia à mesma família de algumas plantas já conhecidas por serem venenosas. Contudo, foi na Itália que o tomate começou a ser inserido na alimentação humana, onde integrou-se vigorosamente à gastronomia. A olerácea chegou ao Brasil apenas no final do século XIX, através de imigrantes europeus e logo se tornou a segunda hortaliça de maior importância econômica, seguido da batata (FILGUEIRAS, 2008).

O tomateiro pertence à classe *Dicotyledoneae*, ordem *Tubiflorae* e família *Solanaceae*. A taxonomia do tomateiro foi alterada diversas vezes. Tournefort (1694) foi o primeiro a considerar os tomates cultivados em um gênero distinto, nomeando-o primariamente de *Lycopersicon*, usando a característica multilocular dos frutos para separar os gêneros *Lycopersicon* de *Solanum*. Contudo, a nomenclatura ainda sofreu algumas alterações, propostas por Linnaeus (1753) e Miller (1754), até a realização de estudos filogenéticos das solanáceas, demonstrando que os tomates e espécies do gênero

*Solanum* são muito próximos filogeneticamente, atribuindo novamente o tomate ao gênero *Solanum*, conforme determinado inicialmente por Linnaeus (PERALTA e SPOONER, 2006).

O tomateiro é uma solanácea herbácea, de caule flexível, cuja arquitetura natural se assemelha a uma moita, com muitas ramificações laterais (FILGUEIRAS, 2008). Todavia a arquitetura pode ser modificada pelo método de condução mais apropriado das plantas, conforme a variedade e finalidade, abrangendo práticas como poda apical, retirada de brotações laterais e raleio dos frutos, principalmente para frutos destinados ao segmento mesa, visando maior produção e qualidade (MARIM et al., 2005).

O clima mais adequado para o cultivo do tomate é do tipo tropical, com baixa umidade e alta luminosidade. Possui ampla capacidade de adaptação em diferentes condições climáticas e é indiferente ao fotoperíodo, podendo ser cultivado durante todo ano no Brasil, em todos os Estados, em maior ou menor escala. Contudo, o requerimento em temperatura varia conforme o desenvolvimento da planta, sendo para a germinação o ideal entre 16 a 29°C, para o desenvolvimento, temperatura diurna de 21 a 24°C e noturna entre 14 a 17°C. Além disso, a formação do licopeno é favorecida por temperatura diurna entre 20 a 24°C e noturna em torno de 18°C, visto que acima de 30°C inibe a formação de licopeno (SILVA et al., 2007).

### **2.1.2 Importância nutricional, econômica e social**

O fruto do tomateiro possui, de forma geral, baixo índice calórico e gordura. Apresenta mais de 90% de água; açúcares (glicose e frutose); ácidos acético, láctico e málico; vitamina C e  $\beta$ -caroteno (precursor da vitamina A); sendo ainda fonte de potássio, fósforo e ferro. No entanto, os teores destes elementos variam conforme a variedade, condições ambientais e nutrição das plantas (GIORDANO e RIBEIRO, 2000; MONTEIRO et al., 2008).

No âmbito econômico, o tomate é a segunda hortaliça de maior importância, atrás apenas da batata (FILGUEIRA, 2008). Segundo Makishima e Melo (2005), a importância econômica e social do tomate é atribuída ao grande volume de produção e quantidade de empregos gerados em toda a cadeia de produção do fruto até a comercialização do produto *in natura*, bem como dos processados. Considerando a produção total, 70% é destinado ao mercado para consumo *in natura* e o restante é matéria-prima para processamento industrial (MAKISHIMA e MELO, 2005; YARA, 2011).

Em território nacional, a produção de tomate mesa é mais concentrada na região Sudeste, que contribui com 54,4% do volume nacional, sendo São Paulo o maior produtor com 8,2 mil hectares de área plantada em 2015 e produção de 604,39 mil toneladas, equivalente a 73,508 kg/ha, 1,8% maior que o ano anterior (IEA – Instituto de Economia Agrícola, 2016). Já o tomate para agroindústria, a maior produção é tida no Estado de Goiás, responsável por cerca de 21,4% da produção nacional em 2016, o que representa 777.453 toneladas da hortaliça (IBGE, 2016).

Quanto à produção mundial, em 2015, o Brasil produziu 1.300.000 toneladas de tomate para processamento (WPTC – *World Processing Tomato Council*, 2016). A produção de tomate industrial em Goiás abrange, atualmente, 12 indústrias de processamento do produto instaladas no estado, o que representa grande impacto social e econômico para a região. Dentre os municípios produtores, destacam-se Cristalina, Itaberaí e Morrinhos. Além disso, Goiás é um importante produtor de tomate mesa, sendo os municípios próximos aos centros consumidores responsáveis pelo abastecimento do mercado, como Corumbá de Goiás, Goianápolis, Santa Rosa de Goiás, Anápolis, Campo Limpo e Catalão (RIBEIRO, 2015).

### **2.1.3 Fatores que afetam a produção**

As adversidades climáticas, tais como chuvas irregulares, temperatura desfavorável, granizo, excesso de radiação, têm sido os fatores que mais prejudicaram a produção de tomate nas últimas safras, afetando diretamente a qualidade dos frutos, o que elevou a taxa de descarte e conseqüentemente baixa oferta de bons frutos no mercado.

O excesso de umidade, associado a alta temperatura, também afeta a qualidade e produtividade dos frutos, pois os danos por pragas e doenças são mais acentuados devido à dificuldade de realizar o controle em conseqüência das frequentes chuvas. Dessa forma, os produtores ficam receosos em plantar no início do ano, prejudicando a safra sequencial de tomate mesa. Este incidente afeta toda a cadeia produtiva, pois a oferta da hortaliça no mercado torna-se escassa, fazendo com que o preço do produto se torne mais caro para o consumidor (CUSTÓDIO e ALBUQUERQUE, 2016).

A precibilidade da hortaliça é outro fator que também contribui com a redução da área plantada, pois este fato acentua o “ciclo de capitalização e descapitalização do produtor”, ou seja, a hortaliça quando atinge o ponto de colheita deve ser prontamente colhida e comercializada, independente do preço do mercado, assim quando os preços

estão baixos, o produtor pode ter muito prejuízo, ficando descapitalizado e sem condições de investir na próxima safra (DELEO, 2013).

O alto custo de produção do fruto é consequência de algumas variáveis como o dólar elevado, que influencia no valor dos insumos, aumento da energia, alta da taxa de juros e clima desfavorável, como o excesso de chuva que contribui com o aumento de gastos com fungicidas, devido ao favorecimento da incidência de doenças, e fertilizantes, visto que o excesso de pluviosidade proporciona a lixiviação de nutrientes, ressaltando-se que a despesa com adubos representa quase 20% do custo total de produção podendo variar conforme a região e tecnologia de produção (DELEO et al., 2016).

#### **2.1.4 Promoção de crescimento**

As plantas representam um complexo de sítios em que abrigam microrganismos, endofíticos e epifíticos, os quais são essenciais para o desenvolvimento vegetal, que pode ocorrer através da produção de fitormônios, melhoria da disponibilização e absorção de nutrientes e ainda pela capacidade antagônica de alguns microrganismos à fitopatógenos (FIGUEIREDO et al., 2010).

Diversas espécies vegetais têm sido beneficiadas com a habilidade que alguns microrganismos possuem de, por meio de mecanismos intrínsecos, promover o crescimento de plantas. Vários ensaios foram realizados comprovando o benefício da interação planta-microrganismo, em culturas perenes (SILVA et al., 2012), anuais (GOPALAKRISHNAN et al., 2014; PEDRO et al., 2012), hortaliças (GUIMARÃES et al., 2013), além de espécies florestais (MOREIRA e ARAÚJO, 2013) e outras culturas de interesse econômico. Entretanto, a relação estabelecida entre planta e microrganismo é muito particular, visto que cada espécie vegetal possui um padrão de colonização. Alguns microrganismos possuem habilidades distintas de promover o crescimento vegetal, seja por meio da síntese de auxinas, solubilização de fosfatos e óxidos de zinco, além de atuar no controle biológico de patógenos (BALDOTTO et al., 2010).

De modo geral, alguns microrganismos possuem a capacidade de aumentar significativamente a germinação de sementes e vigor das plântulas (BABU, et al., 2015), promover o estabelecimento de plantas submetidas em condições adversas (PEREIRA et al., 2016), aumentar o crescimento das plantas (SUWANNARACH et al., 2015) e promover incremento na produção (GOPALAKRISHNAN et al., 2014). Ademais, alguns microrganismos endofíticos tem a capacidade de degradar metais pesados, sendo esta

habilidade uma alternativa para utilizar em processos de fitorremediação (SINGH et al., 2016).

## **2.2 Mecanismos de promoção de crescimento**

A utilização de bactérias com características de promoção de crescimento vegetal tem sido uma alternativa promissora para a agricultura sustentável, visto a crescente demanda por insumos químicos, em consequência da necessidade de produzir mais alimentos devido ao aumento populacional. Dessa forma, BPCP – Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas, constituem-se em agentes potenciais para serem utilizados no manejo agrícola, tanto no âmbito da fertilização quanto no controle químico de fitopatógenos (GLICK, 2012).

As BPCP podem agir de forma direta ou indiretamente promovendo o crescimento em plantas por meio de diferentes mecanismos, aos quais podem agir individualmente ou em sinergia (PII et al., 2015).

### **2.2.1 Mecanismos diretos**

Dentre as BPCP, as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas RPCP, caracterizadas por colonizarem o ambiente radicular, realizam a mineralização da matéria orgânica e aumentam a disponibilidade de nutrientes por meio da conversão de formas insolúveis e disponíveis para a planta, como a solubilização de fosfatos através da produção de fosfatases ou ácidos orgânicos (KIM et al., 1998), solubilização de K, fixação de N pelas bactérias diazotróficas e aumento da solubilidade de micronutrientes, como a produção de sideróforos para a quelação de Fe (RAJKUMAR et al., 2010). Sendo importante ressaltar que estes elementos são considerados de maior restrição para o desenvolvimento e produtividade das culturas (GLICK, 2014; SCAGLIOLA et al., 2016). Assim, o suprimento de nutrientes solúveis na rizosfera proporciona efeito positivo na nutrição de plantas.

Algumas bactérias também possuem a habilidade de produzir hormônios vegetais, como as auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e ácido abscísico (RYBEL et al., 2010; SPAEPEN, 2015). A produção de auxinas já é relatada há muito tempo, visto que 80% dos microrganismos isolados da rizosfera têm a capacidade de produzir este hormônio como metabólito secundário (PATTEN e GLICK, 1996). O AIA produzido pelas bactérias

interfere no desenvolvimento da planta, pois altera o teor de AIA endógeno, elevando sua concentração no tecido vegetal (GLICK, 2012).

O AIA bacteriano interfere diretamente na expansão radicular, proporcionando maior acesso aos nutrientes. Além disso, as auxinas também estão associadas às respostas de defesa da planta, pois atuam como sinalizadores afetando a expressão de microrganismos fitopatogênicos (SPAEPEN e VANDERLEYDEN, 2011; GLICK, 2014).

### **2.2.2 Mecanismos indiretos**

As bactérias podem favorecer o crescimento das plantas por meio do controle biológico, sendo este um dos principais mecanismos das rizobactérias. Os principais modos de ação que envolvem o biocontrole é a competição com os fitopatógenos por nutrientes e espaço, RSI à planta hospedeira e produção de metabolitos antifúngicos (VALIDOV et al., 2009).

Algumas bactérias são capazes de produzir HCN – ácido cianídrico e COVs – compostos orgânicos voláteis, os quais agem indiretamente beneficiando o desenvolvimento das plantas por meio da supressão de patógenos. A maioria dos COVs produzidos em um ensaio realizado com estirpes de *Pseudomonas fluorescens* foram compostos contendo enxofre, como dissulfeto de dimetila, com propriedades antifúngicas e promotoras de crescimento em plantas (HERNÁNDEZ-LEÓN, et al., 2015).

A biossíntese da enzima ACCD – aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase, por algumas BPCP, quando a planta está submetida em situação de estresse, também é uma característica relevante no processo de promoção de crescimento de plantas, pois esta enzima age na diminuição dos níveis de etileno no solo. Visto que o excesso deste hormônio pode prejudicar o desenvolvimento vegetal ou mesmo causar a morte da planta (GLICK, 2014). Complementarmente, algumas bactérias têm a capacidade de metabolizar metais pesados presentes no solo, consoante a que alguns micróbios necessitam dos micronutrientes presentes nestes elementos para seu crescimento e desenvolvimento.

Algumas bactérias, no entanto, possuem mecanismos de resistência a elevadas concentrações destes metais, os quais pode ser através da imobilização, mobilização ou transformação de metais (AHEMAD, 2014), como a produção de sideróforos, protegendo a auxina microbiana de danos oxidativos (TRIPATHI et al., 2005), e metabolitos específicos (RAJKUMAR et al., 2010).

Ressalta-se, contudo, que as RPCP, são mais versáteis na transformação, utilização e solubilização de nutrientes comparadas às que vivem na massa de solo, sendo consideradas os microrganismos mais eficientes na reciclagem de nutrientes (GLICK, 2012), além dos demais benefícios como fitoestimulador (KUMAR et al., 2014), biorremediador (GROBELAK et al., 2015) e biopesticidas (YUTTAVANICHAKUL, et al., 2012). Entretanto, a associação de RPCP varia conforme a proximidade da bactéria com a raiz, bem como a intimidade da associação (GRAY e SMITH, 2005).

Várias RPCP têm sido relatadas proporcionando o crescimento de plantas, tais como *Azospirillum*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Azoarcus*, *Arthrobacter* e outros (SPAEPEN et al., 2009). O gênero *Bacillus*, especialmente, representa um grupo de rizobactérias extracelulares, que habitam o rizoplane ou espaços entre as células do córtex radicular, se mostram altamente hábeis na colonização das raízes e rizosfera (AHEMAD e KIBRET, 2013). Alguns benefícios da utilização de *Bacillus*, neste caso avaliado uma estirpe de *B. velezensis* é o aumento da biomassa de plantas, produção de AIA e amônia, além disso também apresenta atividade da enzima ACCD e produção de compostos voláteis, como acetoína e 2,3-butanodiol (MENG et al., 2016).

### **2.3 *Bacillus* spp.**

O gênero *Bacillus* compreende bactérias gram-positivas, aeróbios ou aeróbios facultativos, com formato de bastonetes retos, móveis por flagelos peritríquios, além disso, possuem endósporos com a característica de resistir às condições adversas (BHANDARI et al., 2013). Trata-se de rizobactérias com maior potencial para solubilizar fosfato inorgânico (AHMAD et al., 2008). Szilagyi-Zecchin et al. (2015) relataram o desempenho da estirpe FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *Plantarum* em produzir compostos indólicos (auxinas) e sideróforos, além de aumentar os teores de clorofila *a*, *b* e totais no tomateiro.

Babu et al. (2014) avaliaram a promoção do crescimento do tomateiro quando submetidos a tratamentos com diferentes bactérias, dentre estas estirpes de *B. subtilis* e *B. cereus*, sendo verificado a produção de AIA, solubilização de fosfato, além de apresentar atividade antagonista a *Alternaria solani* devido a produção de HCN, quitinase e glucanase; além disso, foi observada a presença de enzimas antioxidantes de peroxidase e polifenol oxidase.

Em outro estudo, plantas tratadas com algumas estirpes de *Bacillus* apresentaram maior absorção e translocação sistêmica de Acibenzolar-S-metil – ASM e de metabólitos

produzidos pelas bactérias. Também foram capazes de proporcionar aumento da absorção de pesticidas pelas plantas, mostrando ser uma ferramenta importante no manejo de sistemas agrícolas (MYRESIOTIS et al., 2014).

A utilização do gênero *Bacillus* na promoção de crescimento de plantas é favorecida por algumas características biológicas destes microrganismos, multiplicação rápida e fácil, com destaque para o benefício de manter-se viável em bioformulados devido à produção de endósporos, facilitando o manuseio junto a outros produtos (LANNA FILHO et al., 2010). Além disso, apresenta capacidade de produção de antibióticos (YASEEN et al., 2016).

## 2.4 Referências bibliográficas

AHMAD F; AHMAD I; KHAN MS. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research* 163: 173—181.

AHEMAD, M., KIBRET, M. 2013. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University – Science* 26: 1–20.

AHEMAD M. 2014. Remediation of metalliferous soils through the heavy metal resistant plant growth promoting bacteria: Paradigms and prospects. *Arabian Journal of Chemistry*. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535214002688>. Acessado em 26 de dezembro de 2016.

BALDOTTO LEB; BALDOTTO MA; OLIVARES FL; VIANA AP; BRESAN-SMITH R. 2010. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar vitória durante a aclimatização. *Revista brasileira de ciência do solo* 34: 349-360.

BABU AN; SUDISHA J; SHIN-ICHI I; AMRUTHESH KN; LAM-SON PT. 2015. Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenol oxidase. *Plant Science* 231: 62–73.

BHANDARI V; AHMOD NZ; SHAH HS; GPTA RS. 2013, março. Molecular Signatures for the *Bacillus* Species: Demarcation of the *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* clades in Molecular Terms and Proposal to Limit the Placement of New Species into the Genus *Bacillus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 2712–2726.

CUSTÓDIO F; ALBUQUERQUE L. 2016, fevereiro. Chuvas excessivas atrapalham a colheita do tomate de mesa em Goiás e afeta a qualidade e produtividade do fruto. Disponível em <https://www.noticiasagricolas.com.br/videos/hortifruti/168783-chuvas-excessivas-atrapalham-a-colheita-do-tomate-de-mesa-em-goias-e-afeta-a-qualidade-e-produtividade.html#.WJ5qSdIrJdg>. Acessado em 23 de dezembro de 2016.

DELEO, JP. 2013, abril. Por que o preço do tomate subiu tanto?. *Cepea*. Esalq/USP.

DELEO, JP; BRITO JUNIOR JS; PARANHOS GG. 2016, junho. Especial tomate: custo para se produzir um ha. *Hortifruti Brasil*. Disponível em <http://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/especial-tomate-custo-para-se-produzir-um-hectare-de-tomate-ultrapassa-r-100-mil.aspx>. Acessado em 23 de dezembro de 2016.

FIGUEIREDO MVB; SOBRAL JK; STAMFORD TLM; ARAÚJO JM. 2010, setembro. Bactérias promotoras de crescimento de plantas: estratégia para uma agricultura sustentável. Disponível em <http://www.bashanfoundation.org/marcia/marciaestrategia.pdf>. Acessado em 23 de dezembro de 2016.

FILGUEIRAS FAR. 2008. Solanáceas II: Tomate, a hortaliça cosmopolita. In: *Novo manual de olericultura: agroecologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. 3ª Ed. UFV. 194p.

FREITAS, S. S.; AGUILAR VILDOSO, C. I. 2004. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 28: 987-994.

GIORDANO LB; RIBEIRO CSC. 2000. Origem botânica e composição química do fruto. In: GIORDANO LB; SILVA JBC. 2000. RIBEIRO. *Tomate para processamento industrial*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica/Embrapa Hortaliças. p. 12-17.

GLICK BR. 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Hindawi Publishing Corporation, *Scientifica*.

GLICK, BR. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research* 169: 30– 39.

GOPALAKRISHNAN S; VADLAMUDI S; BANDIKINDA P; SATHYA A; VIJAYABHARATHI R; RUPELA O; KUDAPA H; KATTA K; VARSHNEY RK. 2014. Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in Rice. *Microbiological Research* 169: 40– 48.

GRAY EJ; SMITH DL. 2005. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 395–412.

GROBELAK A; NAPORA A; KACPRZAK M. 2015, julho. Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. *Ecological Engineering* 84: 22–28.

GUIMARAES AM; PAZ ICP; SANTIN RCM; PAULI G; SILVA ME; SOUZA RV; MATSUMURA ATS; SILVA ER. 2013, novembro. Utilização da rizobactéria *Bacillus amyloliquefaciens* na promoção de crescimento de alface (*Lactuca sativa* L.), em cultivo agroecológico. *Cadernos de Agroecologia*: ISSN 2236-7934. vol 8, n. 2.

HERNÁNDEZ-LEÓN R; ROJAS-SOLÍS D; CONTRERAS-PÉREZ M; OROZCO-MOSQUEDA MDELIC; MACÍAS-RODRÍGUEZ LI; REYES-DE LA CRUZ H; VALENCIA-CANTERO E; SANTOYO G. 2015, fevereiro. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biological Control* 81: 83- 92.

IEA – Instituto de Economia Agrícola. 2016, janeiro. *Previsões e estimativas das safras agrícolas do Estado de São Paulo, 2º levantamento, ano agrícola 2015/16 e levantamento final, ano agrícola 2014/15, novembro de 2015*. Disponível em <http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/AIA/AIA-05-2016.pdf>. Acessado em 23 de dezembro de 2016.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2016, março. *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA)*. Disponível em:

[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Levantamento\\_Sistematico\\_da\\_Producao\\_Agricola\\_\[mensal\]/Fasciculo/lspa\\_201603.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201603.pdf). Acessado em 20 de dezembro de 2016.

KIM KY; JORDAN D; MCDONALD GA. 1998. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility of Soils* 26:79–87.

KUMAR A; MAURYA BR; RAGHUWANSHI R. 2014, outubro. Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 3: 121- 128.

LANNA FILHO R; FERRO HM; PINHO RSC. 2010. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas* 4: 12- 20.

MAKISHIMA, N.; MELO, W. F. 2005. O rei das hortaliças. Embrapa Hortaliças.

MARIM BG; SILVA DJH; GUIMARÃES MA; BELFORT G. 2005, outubro. Sistemas de tutoramento e condução do tomateiro visando produção de frutos para consumo *in natura*. *Horticultura Brasileira*, Brasília: 23, n.4, p.951-955.

MENG Q; JIANG H; HAO JJ. 2016, março. Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biological Control* 98: 18–26.

MONTEIRO CS; BALBI ME; MIGUEL OG; PENTEADO PTPS; HARACEMIV SMC. 2008, janeiro/março. Qualidade nutricional e antioxidante do tomate “tipo italiano”. *Alimentos e Nutrição*:9, n.1, p. 25-31.

MOREIRA ALL; ARAÚJO FF. 2013, agosto. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.37, n.5, p.933-943.

MYRESIOTISCK; VRYZAS Z; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU E.2014. Enhanced root uptake of acibenzolar-S-methyl (ASM) by tomato plants inoculated with selected *Bacillus* plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Applied Soil Ecology* 77: 26–33.

PATTEN CL; GLICK BR. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. Pennsylvania State University. *Canadian Journal of Microbiology*42: 207-220.

PEDRO EAS; HARAKAVA R; LOCON CMM; GUZZO SD. 2012, novembro. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília: 47, n.11, p.1589-1595.

PERALTA IE; SPOONER DM. 2006. History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae). In: RAZDAN MK; MATTOO AK. *Genetic improvement of solanaceous crops: tomato*. CRC Press. p. 1- 24.

PEREIRA SIA; MOREIRA H; ARGYRAS K; CASTRO PML; MARQUES APCG. 2016. Promotion of sunflower growth under saline water irrigation by the inoculation of beneficial microorganisms. *Applied Soil Ecology* 105: 36–47.

PII Y; MIMMO T; TOMASI N; TERZANO R; CESCO S; CRECCHIO C. 2015, maio. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. *Biology and Fertility of Soils* 51: 403- 415.

RAJKUMAR M; AE N; PRASAD MNV; FREITAS H. 2010, janeiro. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends in Biotechnology* 28: 142- 149.

RIBEIRO K. 2015, maio. In natura ou processado: líder em tomate industrial e significativo em tomate mesa, Goiás encara altos custos de produção. *Revista Campo*.

RYBEL B; VASSILEVA V; PARIZOT B; DEMEULENAERE M; GRUNEWALD W; AUDENAERT D; CAMPENHOUT JV; OVERVOORDE P; JANSEN L; VANNESTE S; MOLLER B; WILSON M; HOLMAN T; ISTERDAEL GV; BRUNOUD G; VUYLSTEKE M; VERNOUX T; DE VEYLDER L; INZÉ D; WEIJERS D; BENNETT MJ; BEECKMAN T. 2010, outubro. A novel Aux/IAA 28 signaling cascade activates GATA23-dependent specification of lateral root founder cell identity. *Current Biology* 20: 1697–1706.

SCAGLIOLA M; PII Y; MIMMO T; CESCO S; RICCIUTI P; CRECCHIO C. 2016, junho. Characterization of plant growth promoting traits of bacterial isolates from the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.) and tomato (*Solanum lycopersicon* L.) grown under Fe sufficiency and deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry* 107: 187 -196.

SILVA, J. B. C.; GIORDANO, L. B.; FURUMOTO, O.; BIOTEUX, L. S.; FRANÇA, F. H.; BÔAS, G. L. V.; BRANCO, M. C.; MEDEIROS, M. A.; MAROUELLI, W.; CARVALHO E SILVA, W. L.; LOPES, C. A.; ÁVLIA, A. C.; NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, W. 2006, dezembro. Cultivo do tomate para industrialização. *Embrapa Hortaliças*. Disponível em [https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial\\_2ed/adubacao.htm](https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/adubacao.htm). Acessado em 20 de dezembro de 2015.

SILVA DJH; FONTES PCR; MIZUBUTI ESG; PIKANÇO MC. 2007. Tomate (*Lyconpersicon esculentum* Mill.). In: PAULA JÚNIOR de TJ; VENZON M. *101 CULTURAS: Manual de tecnologias agrícolas*. Belo Horizonte: EPAMIG. p. 735– 750.

SILVA HSA; TOZZI JPL; TERRASAN CRF; BETTIOL W. 2012. Endophytic microorganisms from coffee tissues as plant growth promoters and biocontrol agents of coffee leaf rust. *Biological Control* 63: 62–67.

SINGH N; MARWA N; MISHRA SK; MISHRA J; VERMA PC; RATHAUR S; SINGH N. 2016. *Brevundimonas diminuta* mediated alleviation of arsenic toxicity and plant growth promotion in *Oryza sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 125: 25–34.

SPAEPEN S; VANDERLEYDEN J; OKON, AY. 2009. Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. *Advances in Botanical Research*, vol. 51.

SPAEPEN S; VANDERLEYDEN J. 2011. Auxin and Plant-Microbe Interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*.

SPAEPEN S. 2015. Plant Hormones Produced by Microbes. In: Principles of plant-microbe interactions – microbes for sustainable agriculture. *Springer International Publishing Switzerland*. p. 247 – 256.

SUWANNARACH N; KUMLA J; MATSUI K; LUMYONG S. 2015. Characterization and efficacy of *Muscador cinnamomi* in promoting plant growth and controlling *Rhizoctonia* root rot in tomatoes. *Biological Control* 90: 25–33.

SZILAGYI-ZECCHIN VJ; MÓGOR AF; RUARO L; RODER C. 2015. Crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) estimulado pela bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 em cultura orgânica. *Revista de Ciências Agrárias* 38: 26-33.

TRIPATHI M; MUNOT HP; SHOUCHE Y; MEYER JM; GOEL R. 2005. Isolation and Functional Characterization of Siderophore-Producing Lead- and Cadmium-Resistant *Pseudomonas putida* KNP9. *Current Microbiology* 50: 233–237.

VALIDOV SZ; KAMILOVA F; LUGTENBERG BJJ. 2009. *Pseudomonas putida* strain PCL1760 controls tomato foot and root rot in stonewool under industrial conditions in a certified greenhouse. *Biological Control* 48: 6 -11.

WPTC – World processing tomato council. 2016, setembro. WPTC World production estimate of tomatoes for processing (in 1000 metric tonnes). Disponível em <http://www.gandolfiparma.com/wp-content/uploads/2016/10/WPTC-World-Production-estimate-as-of-30-September-2016.pdf>. Acessado em 10 de janeiro de 2017.

YARA. 2011. Produção mundial de tomate. Disponível em <http://www.yarabrasil.com.br/nutricao-plantas/culturas/tomate/fatores-chaves/producao-mundial-tomate/>. Acessado em 23 de dezembro de 2016.

YASEEN Y; GANCEL F; DRIDER D; BÉCHET M; JACQUES P. 2016, fevereiro. Influence of promoters on the production of fengycin in *Bacillus* spp. *Research in Microbiology* 167: 272 -281.

YUTTAVANICHAKUL W; LAWONGSA P; WONGKAEW S; TEAUMROONG N; BOONKERD N; NOMURA N; TITTABUTR P. 2012. Improvement of peanut rhizobial inoculant by incorporation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as biocontrol against the seed borne fungus, *Aspergillus Niger*. *Biological Control* 63: 87–97.

### **3 CAPÍTULO I**

(Normas de acordo com a revista Horticultura Brasileira)

#### **Promoção de crescimento em tomateiro mediada por isolados bacterianos**

##### **Resumo**

A tendência da agricultura moderna é conduzir suas práticas de manejo que permitam bom desempenho produtivo mesmo que as plantas estejam submetidas a condições adversas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de isolados bacterianos em promover o crescimento de plantas de tomate, bem como elucidar os mecanismos de ação destes microrganismos por meio da verificação da síntese de auxina e solubilização de fosfatos. Os isolados foram avaliados em casa-de-vegetação sob as formas de aplicação foliar e solo e posteriormente foram realizados os ensaios *in vitro*. Sete variáveis foram avaliadas: diâmetro de colo, altura da planta, área foliar, índice SPAD, comprimento de raiz, massa fresca e seca de raiz. A produção de AIA foi determinada pela coloração rosada que a suspensão bacteriana apresentou quando em contato com o reagente de Salkowisk. A solubilização de fosfato foi verificada pela presença de um halo transparente ao redor das colônias. Apenas um isolado não sintetizou AIA, no entanto, somente os isolados GF95 e KL4 foram hábeis na solubilização de fosfatos. De modo geral, os isolados GF264, GF274 e GF451 se mostraram promissores para a maioria das características morfológicas avaliadas. Contudo, os resultados deste trabalho sugerem a avaliação de outros

mecanismos de ação para elucidar as atividades responsáveis pelo crescimento de plantas pelos isolados bacterianos avaliados.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum* L., auxina, BPCP, mecanismo de ação, solubilização de fosfato.

### **Abstract**

The trend of modern agriculture is to conduct its management practices that allow good productive performance even if the plants are subjected to adverse conditions. The objective of this work was to evaluate the ability of bacterial isolates to promote the growth of tomato plants, as well as to elucidate the mechanisms of action of these microorganisms through the verification of auxin synthesis and solubilization of phosphates. The isolates were evaluated in greenhouse under the foliar and soil application forms and later the in vitro tests were carried out. Seven variables were evaluated: neck diameter, plant height, leaf area, SPAD index, root length, fresh and dry root mass. The production of IAA was determined by the pink coloration that the bacterial suspension presented when in contact with the Salkowisk reagent. Phosphate solubilization was verified by the presence of a transparent halo around the colonies. Only one isolate did not synthesize IAA, however, only the GF95 and KL4 isolates were able to solubilize phosphates. In general, isolates GF264, GF274 and GF451 have shown promise for most of the morphological characteristics evaluated. However, the results of this work suggest the evaluation of other mechanisms of action to elucidate the activities responsible for the growth of plants by the evaluated bacterial isolates.

Keywords: *Solanumlycopersicum* L., auxin, BPCP, mechanism of action, phosphate solubilization.

### 3.1 Introdução

O tomateiro (*Solanumlycopersicum*L.)é uma das hortaliças mais importantes em nível mundial. Os 10 países que mais produzem tomate para processamento são responsáveis por aproximadamente 97% da produção, equivalente a cerca de 34 milhões de toneladas. Os Estados Unidos lideram o ranking mundial com mais de 11 milhões de toneladas, já o Brasil ocupa o oitavo lugar, com pouco mais de 1 milhão de toneladas (WPTC, 2016). A vulnerabilidade do tomateiro a condições de estresse, como veranicos ou chuvas excessivas, assim como a incidência de pragas e patógenos,prejudica o desempenho produtivo das plantas ou mesmo depreciam a qualidade dos frutos(Silva *et al.*, 2007; Deleo, 2016). Em consequência,são utilizadosde forma expressiva, agroquímicos e fertilizantes com o intuito de amenizar esses prejuízos.Porém seus efeitos não são duradouros e alteram o equilíbrio do solo, além de causar outro agravante: a degradação da qualidade ambiental e prejuízos à saúde da população (Jainet *al.*, 2014).

Nesse contexto, existe a necessidade de se buscar tecnologias alternativas, quem minimizem o uso intensivo de agrotóxicos e insumos químicos utilizados no manejo tradicional das lavouras. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) agem sem prejuízos ao hospedeiro e ao meio ambiente, gerando plantas mais resistentes aos estresses do meio e menos dependentes de insumos e defensivos (Glick, 2014).

O crescimento de plantas por ação das BPCP, especialmente das rizobactérias, mais eficientes na transformação, utilização e solubilização de nutrientes comparadas às que vivem na massa de solo (Glick, 2012), ocorre em função de alguns mecanismos de proteção contra patógenos, tais como a produção de bioativos químicos e indução de resistência sistêmica (ISR) e mecanismos de indução de tolerância sistêmica(ITS) (Jainet *al.*, 2014) contra estresses abióticos como ambientes salinos (Balet *al.*, 2013), déficit hídrico (Naveedet *al.*, 2014; Kaushale Wani, 2016), estresse osmótico (Zhang *et al.*, 2010), temperatura (Ali *et al.*, 2009), deficiência nutricional (Scagliolaet *al.*, 2016) e capacidade de degradar metais pesados (Singh *et al.*, 2016). Nesses mecanismos estão envolvidos uma série de eventos intermediários, com destaque para alteração dos níveis de fitormônios, como ácido indol-3-acético (AIA), giberelinas, citocininas etileno, produção de ácidos orgânicos e enzimas como fosfatases, aumentando a disponibilização de nutrientes para as plantas e a produção de ACC deaminase, a qual tem sido muito abordada recentemente por sua abrangente significância na ITS (Glick, 2012; 2014).A produção de hormônios, como auxinas, citocininas e giberelinas, tem como uma de suas consequências o crescimento do

sistema radicular, que promovem o aumento da superfície de absorção das raízes e consequentemente maior disponibilidade de água e nutrientes para a planta (Jain *et al.*, 2014).

Embora seja uma técnica bastante abordada nos últimos anos, a utilização do recurso das BPCPs com sucesso requer, além do conhecimento da fisiologia vegetal, mais pesquisas voltadas para maior compreensão da ecologia desses microrganismos, bem como da elucidação dos mecanismos de ação envolvidos na promoção de crescimento (Solano *et al.*, 2007; Glick, 2014). Assim, a ação das BPCPs varia conforme a estirpe bacteriana, o genótipo da planta e o ambiente envolvido (Schrothe Hancock, 1982). Dessa forma, foi realizado um estudo com o objetivo de avaliar a capacidade de promoção de crescimento de plantas de tomate por isolados bacterianos, bem como elucidar os mecanismos de ação destes microrganismos por meio da verificação da síntese de AIA e da solubilização de fosfatos.

## **3.2 Material e métodos**

### **3.2.1 Desenvolvimento de plântulas de tomateiro em resposta à aplicação da suspensão bacteriana.**

Para os testes de promoção de crescimento, foram utilizados 29 isolados bacterianos, fornecidos pelo laboratório Farroupilha, de Patos de Minas, Minas Gerais. Esses foram previamente selecionados a partir da capacidade de produção massal, com base no número de endósporos produzidos durante o processo de fermentação. Nesta etapa, avaliou-se o efeito dos isolados quanto ao incremento no desenvolvimento de plântulas de tomateiro, por meio da aplicação da suspensão no solo e foliar. Para tal, plântulas de tomate da Cultivar Santa Clara foram transplantadas após 30 dias da semeadura para vasos de 500mL contendo substrato à base de terra de subsolo, esterco de aves e areia (2:1:1). Decorridos quatro dias após o transplante (DAT), procedeu-se a primeira aplicação da suspensão bacteriana. Foi aplicado 8mL de suspensão ( $2 \times 10^7$  ufc/mL) por plantas, a qual permitia cobertura de todas as folhas por meio da pulverização, chegando ao ponto de escorrimento. Na aplicação via solo, foi utilizado o mesmo volume de suspensão. Foi utilizado também como tratamento, o produto comercial Serenade® (Bayer Crop Science S.A.), à base de *B. subtilis* cepa QST 713, diluído 1:100 (aproximadamente  $10^7$  ufc/mL). A segunda aplicação correu aos 10 DAT e a terceira aos 17 DAT. Aos 13 DAT, foram

avaliadas as variáveis diâmetro de colo (DIAM), altura de planta (ALT), área foliar (AF) e índice SPAD. Aos 24 DAT, realizou-se a avaliação do comprimento de raiz (RCOMP), matéria fresca de raiz (MFR) e matéria seca de raiz (MSR). O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições para cada tratamento, em esquema fatorial (isolados x modo de aplicação). A parcela experimental foi constituída de duas plantas. Os tratamentos com os isolados de bacterianos foram comparados ao controle, pulverizado apenas com água destilada, através do teste de Dunnett ( $P \leq 0,05$ )

### **3.2.2 Crescimento e caracterização dos isolados**

Para crescimento e caracterização dos 29 isolados, preservados pelo método Castellani, foram utilizados os meios Luria- Bertani(LB)líquido (10g de triptona, 5g de extrato de levedura, 10g de NaCl e pH ajustado para 7,0 com NaOH 5N) e sólido (adicionado 15g de ágar), TSB (6g de TSB) e TSA (6g de TSB e 15g de ágar). Em todos os meios os volumes das soluções foram ajustados para 1L com água destilada. Os meios de cultura foram autoclavados a 120°C durante 30 minutos e uma alíquota de 200µl foi inoculada no meio LB e TSA líquido e incubados sob agitação contínua a 150rpm por 48h a 30°C. Posterior ao período de incubação, 20µL da suspensão com bactérias crescidas em meio LB foram isoladas em placas de Petri contendo meio TSA e LB sólido e incubadas em estufa por 48h a 27°C. Em seguida, procedeu-se a caracterização morfológica a partir da observação das colônias isoladas, sendo avaliadas características de manifestação de crescimento, tamanho, forma, elevação, borda, superfície, produção de muco, consistência da massa de crescimento, opacidade e cor.

### **3.2.3 Avaliação da capacidade de solubilização de fosfato**

Foram utilizados três meios distintos para avaliação da capacidade de solubilização de fosfato de cálcio pelos isolados, YED-P (5g de extrato de levedura, 5g de glicose, 10g de  $\text{Ca}_2\text{PO}_4$  e 15g de ágar), NBRIP (10g de glicose, 5g de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , 5g de  $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ , 2,5ml de  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,2g de KCl, 0,1g de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e 15g de ágar e pH ajustado para 6,8) e GL (P) (10g de glicose, 2g de extrato de levedura, 2,5ml de  $\text{K}_2\text{PO}_4$ , 1g de  $\text{CaCl}_2$  e 15g de ágar e o pH ajustado para 6,5). Os meios de cultura tiveram o pH ajustado utilizando HCl e NaOH. Após o preparo dos meios, esses foram esterilizados em autoclave a 120°C durante 30 minutos e vertidos em placas de Petri, em câmara de fluxo. Após o período de incubação para crescimento das bactérias em meio de cultura, foram dispostos

20µL da suspensão de forma equidistante, em placas de Petri contendo meio YED-P, NBRIP e GL (P) e incubadas novamente em estufa por 7 dias a 27°C. A solubilização de fosfato pelos isolados foi verificada pela formação de um halo transparente entorno da colônia.

### **3.2.4 Avaliação da capacidade de produzir AIA**

A quantificação da produção de AIA pelos isolados foi determinada pelo método descrito por Sawar e Kremer (1995), modificado por Reis Júnior et al. (2004). Os isolados bacterianos crescidos em meio LB tiveram sua densidade ótica ajustada para 0,5 de absorbância em um espectrofotômetro a 500nm. Uma alíquota de 2,0mL dessa suspensão foi adicionada a 28mL do meio LB contendo 100µg mL<sup>-1</sup> de triptofano filtrado. Os inóculos foram incubados por 72h no escuro a 30°C, sob agitação contínua de 150 rpm. Após esse período, 1mL da suspensão bacteriana foi centrifugada a 8.000g por 15 minutos. Uma alíquota de 150µL deste material foi aplicada em placas de poliestireno contendo 100µL de reagente Salkowisk (1,0mL de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,5M em 50mL de HClO<sub>4</sub> 35%) e a mistura incubada no escuro a temperatura ambiente por 30 minutos. O resultado positivo para produção de AIA foi observado quando as soluções apresentaram coloração rosada. A placa de poliestireno contendo as soluções foi submetida à análise de absorbância em espectrofotômetro a 492nm. Para estimar a concentração de AIA foi utilizada uma curva padrão com concentrações conhecidas (0, 25, 50, 100, 200, 500, 1000µM).

### **3.3 Resultados e discussão**

Alguns isolados bacterianos apresentaram capacidade de promover incremento no crescimento de plântulas de tomateiro. Para as variáveis diâmetro de colo (Figura 1A), índice SPAD (Figura 1B), comprimento de raiz (Figura 1C) e matéria seca de raiz (Figura 1D), esse efeito ocorreu de maneira independente em relação ao modo de dispensa da suspensão bacteriana (Figura 1). Entretanto, para os componentes altura de planta, área foliar e matéria fresca de raiz, a observação de efeito dos isolados sobre estas foi dependente do modo de aplicação (Figura 2).

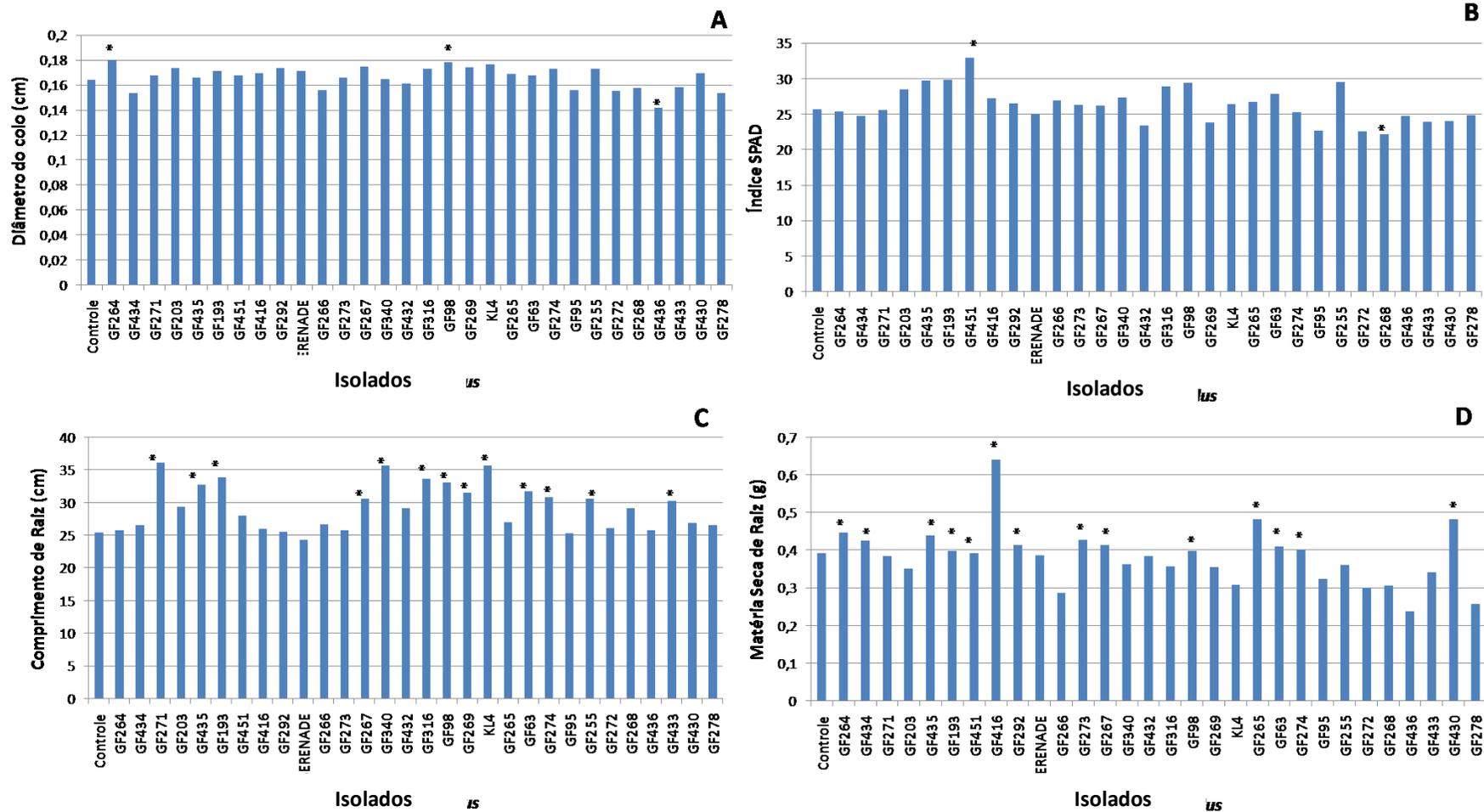


Figura 1. Efeito dos isolados bacterianos sobre o desenvolvimento das plântulas de tomateiro com base nas variáveis diâmetro de colo (A), índice SPAD (B), comprimento de raiz (C) e matéria seca de raiz (D). \* Diferiu da testemunha não tratada (Dunnett,  $p \leq 0,05$ ). Morrinhos, IF Goiano, 2015.

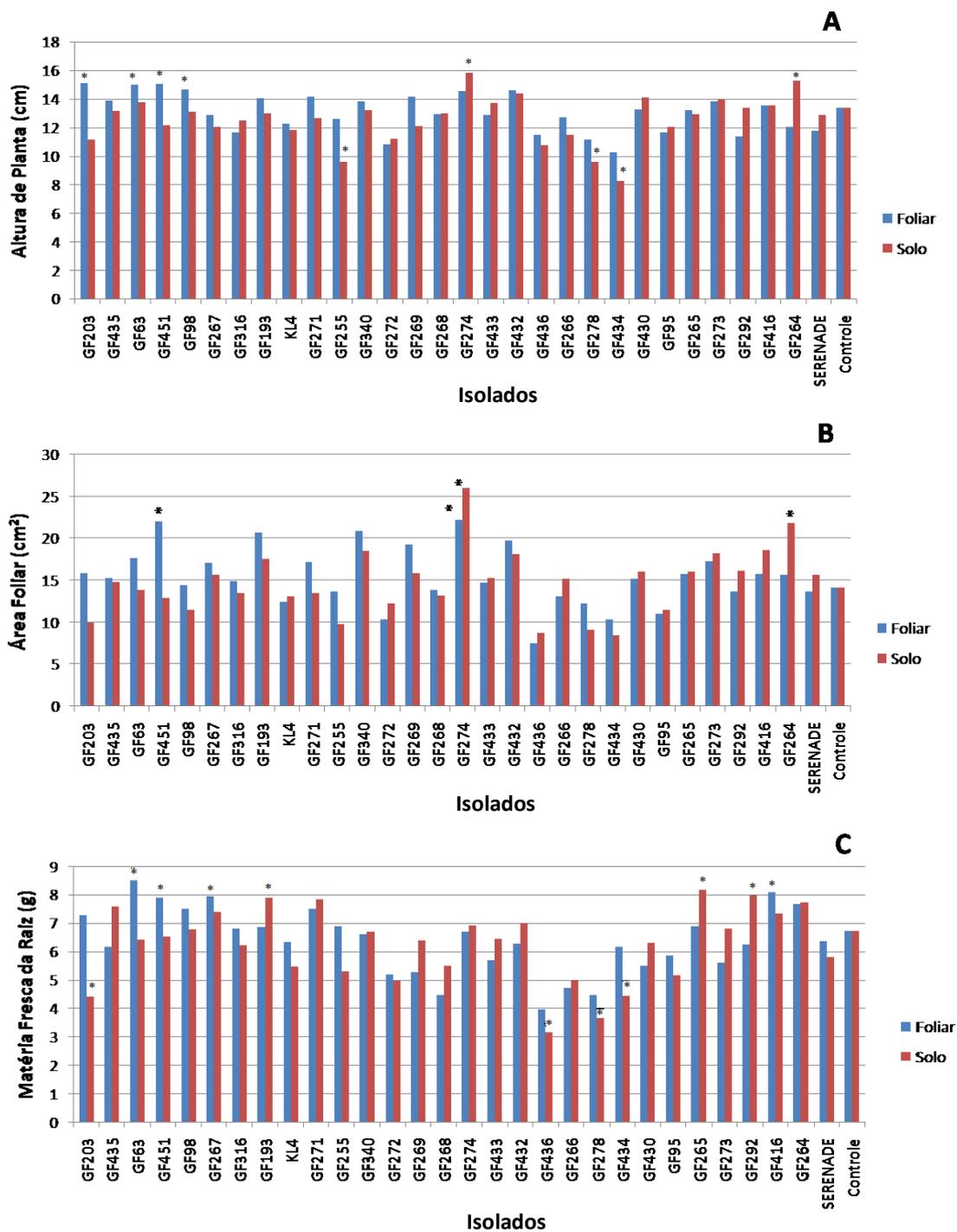


Figura 2. Efeito da interação dos isolados bacterianos e o modo de aplicação sobre o desenvolvimento das plântulas de tomateiro com base nas variáveis altura de planta (A), área foliar (B), Matéria fresca de raiz (C). \* Diferiu da testemunha não tratada (Dunnett,  $p < 0,05$ ). Morrinhos, IF Goiano, 2015.

Ao avaliar diâmetro de colo, os isolados GF264 e GF98 proporcionou efeito positivo, com cerca de 0,18cm de diâmetro, comparado ao controle (0,16cm). No

entanto, o GF436 gerou efeito negativo, podendo ser nulo ou prejudicial ao crescimento das plantas (Figura 1A). Quanto ao índice SPAD, o GF451 (32,95) se destacou, obtendo melhor resultado, contrastando com o GF268 (22,15) (Figura 1B).

Contudo, os isolados bacterianos foram mais responsivos para as variáveis comprimento da raiz, sendo que 13 isolados atingiram em média 33cm, equivalente a 30% em relação ao controle, e matéria seca de raiz, destacando o efeito significativo de 14 isolados avaliados.

Para a variável altura de planta alguns isolados (GF203, GF63, GF451 e GF98) proporcionaram incremento quando aplicados via foliar, enquanto outros (GF264 e GF274) somente quando aplicado via solo. No entanto alguns isolados prejudicaram o crescimento das plantas quando aplicados via solo (GF255, GF278 e GF434) (Figura 2A).

Os isolados que proporcionaram aumento da área foliar foram o GF 451 aplicado via foliar, GF264 via solo e GF 274 incrementou a variável independentemente do modo de aplicação (Figura 2B). Quanto à matéria fresca da raiz, mais uma vez o isolado GF451 aplicado via foliar se destacou, além do GF63, GF267 e GF416; quando aplicados via solo alguns isolados também tiveram efeito positivo (GF292, GF265 e GF193). No entanto, alguns isolados bacterianos implicaram negativamente quando comparados ao controle quando aplicados via solo (GF203, GF436, GF278, GF430), produzindo cerca de 4,3g de matéria fresca de raiz (Figura 2C). Contudo sabe-se da importância de identificar isolados com potencial para induzir o desenvolvimento das raízes, uma vez que a expansão radicular favorece maior absorção de água e nutrientes, além de melhorar a eficiência do uso da água de plantas sob condição de estresse hídrico (Jain *et al.*, 2014).

Notadamente, alguns isolados promoveram incremento pelas variáveis avaliadas, enquanto que outros isolados inibiram o crescimento das plantas de tomate. Assim como o modo de aplicação, influenciou significativamente no desempenho destes isolados em relação às variáveis estudadas. Ao se tratar de microrganismos este fato é compreendido, visto que deve haver uma relação de afinidade entre o hospedeiro e o simbiote, uma vez que o mecanismo pelo qual um microrganismo promove o crescimento vegetal depende de vários fatores, tais como a estirpe microbiana e a cultivar, ou seja, promotores de crescimento podem ser efetivos em uma espécie vegetal, porém não em outra (Schroth e Hancock, 1982).

Nos ensaios de crescimento e caracterização dos isolados, todos os isolados foram semeados nos meios TSB e LB líquido, sendo que todos os isolados cresceram expressivamente após 24h após incubação. Foi observado crescimento mais homogêneo no meio LB, sendo este utilizado para realização dos ensaios seguintes. Após a caracterização morfológica dos isolados em meio LB foi gerado um dendograma de similaridade entre isolados bacterianos gerado pelo algoritmo UPGMA e matriz de similaridade calculada pelo índice *Simple Matching* (Figura 3). O dendrograma apresenta para 90% de similaridade 5 grupos. O grupo 1 formado pelos isolados GF 193 e GF 264, grupo 2 apenas pelo isolado GF 269, grupo 3 pelos isolados GF 378, GF63 e GF416, grupo 4 apresentando maior número de isolados GF 274, GF 292, GF316, GF95, GF434, GF 266, GF 268, GF 255, GF 271, GF 435, GF 451, GF 272 e GF 98e o grupo 5 pelos isolados GF 203, GF 267, GF273, GF 436, GF430, GF265, GF 340, GF 432, KL4 e GF433. Correlacionando os isolados que apresentaram melhor desempenho na promoção de crescimento quanto às características morfológicas avaliadas, os isolados GF451 e GF274 pertencem ao grupo 4, porém o isolado GF264 pertence ao grupo 2, diferindo do grupo de semelhança fenotípica. As características fenotípicas dos isolados não servem de base para a seleção dos isolados para promoção de crescimento, pois podem sofrer variações do ambiente (Schroth e Hancock, 1982).

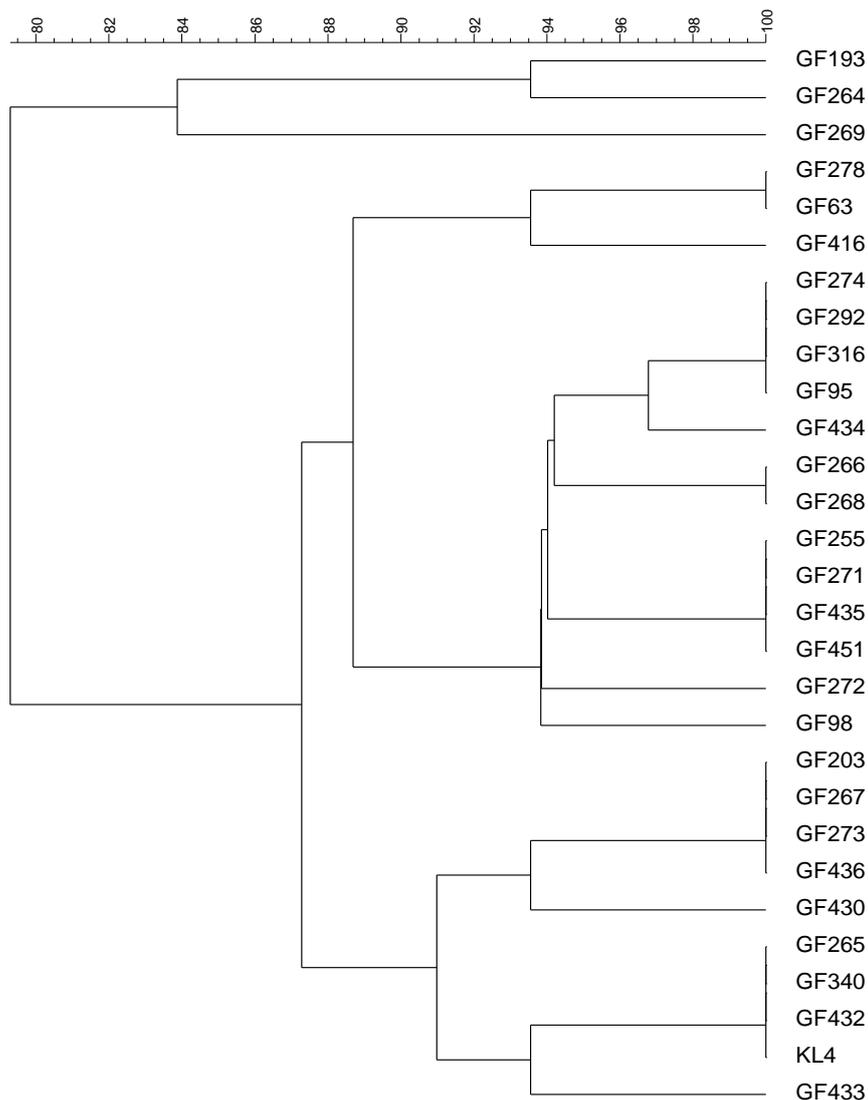


Figura 3. Dendograma de similaridade entre isolados bacterianos gerado pelo algoritmo UPGMA e matriz de similaridade calculada pelo índice Simple Matching, a partir dos dados de morfologia de colônias em meio LB. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2017.

A capacidade de solubilização de fosfato foi testada em três meios diferentes NBRIP, GL (P) e YED, após 7 dias de incubação foi avaliada pela presença ou ausência de um halo transparente entorno das colônias. Os isolados que tiveram capacidade de solubilizar fosfato apresentaram a presença do halo e isso foi observado somente nos isolados GF95 e KL4 (Figura 4). Os halos apresentavam tamanhos de 0,4 e 0,1 cm entorno das colônias dos isolados GF95 e KL4, respectivamente. Todavia, a solubilização de fosfato destes dois isolados ocorreu apenas em meio NBRIP.

Costa *et al.* (2013) ao avaliarem estirpes de bactérias isoladas da rizosfera de feijão-caupi, também verificaram a baixa capacidade de solubilização em meio NBRIP

sólido. Contudo ressalta-se a importância da solubilização de fosfato por microrganismos, essencial para disponibilizar o nutriente para a planta, visto que trata-se de um elemento facilmente adsorvido nos minerais do solo, formando complexos insolúveis (Novais *et al.*, 2007).

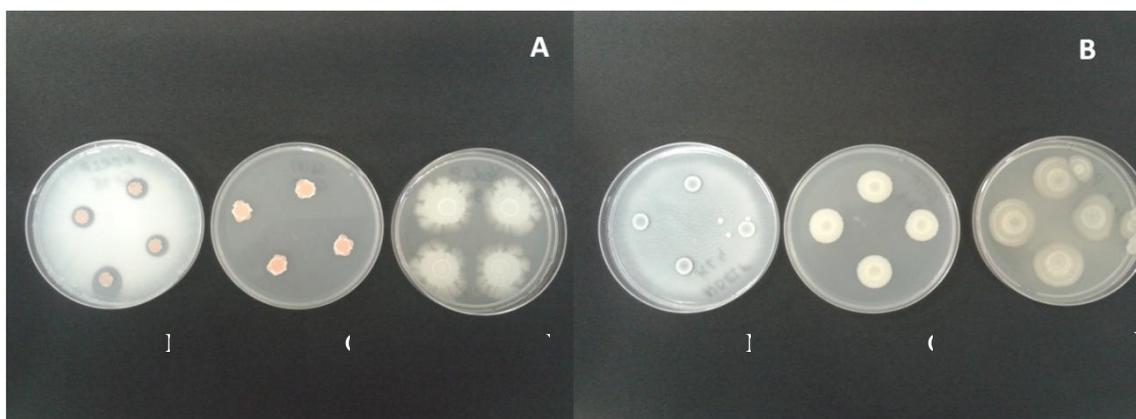


Figura 4. Solubilização de fosfato pelos isolados em meio NBRIP, GL (P) e YED, após 7 dias de incubação. Os isolados solubilizadores foram: A:GF 95 e B: KL 4. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2017.

Alguns isolados, no entanto, além de não solubilizarem fosfato, cresceram somente em meio NBRIP, visto que trata-se de um meio de cultura mais rico em nutrientes. Ao avaliar a solubilização de fosfatos de algumas estirpes bacterianas, pertencentes, dentre outros, às espécies de *Bacillus megaterium* (*B. aryabhatai*) e *B. subtilis*, em meios NBRIP, concluiu-se que este é um bom indicador para avaliar a capacidade de solubilização de fosfatos por estes microrganismos (Liu *et al.*, 2015). O isolado GF95 não apresentou promoção de crescimento de plantas na avaliação em casa-de-vegetação, possivelmente devido a característica solúvel do fertilizante usado, fosfato natural reativo.

Quanto à produção de AIA pelos isolados, a maioria reagiu com a solução de Salkowisk apresentando coloração rosada após 30min no escuro confirmando a produção de AIA por todos isolados (Figura 5). A leitura em espectrofotômetro estimou a quantidade de AIA produzida pelas bactérias quando comparado à curva padrão, ajustados de acordo com a equação:  $y = 0,001x + 0,226$  ( $R^2 = 0,990$ ) (Figura 6). Para alguns isolados, no entanto, não foi realizada a leitura de AIA, pois não foi possível ajustar a densidade ótica para 0,5 em espectrofotômetro a 500nm.



Figura 5. Microplaca de poliestireno mostrando a produção de AIA pelos isolados bacterianos (fileiras 1 e 2) comparados a concentrações conhecidas de 0, 25, 50, 100, 200, 500, 1000 $\mu$ M (fileira 3). Planaltina, Embrapa Cerrados, 2017.

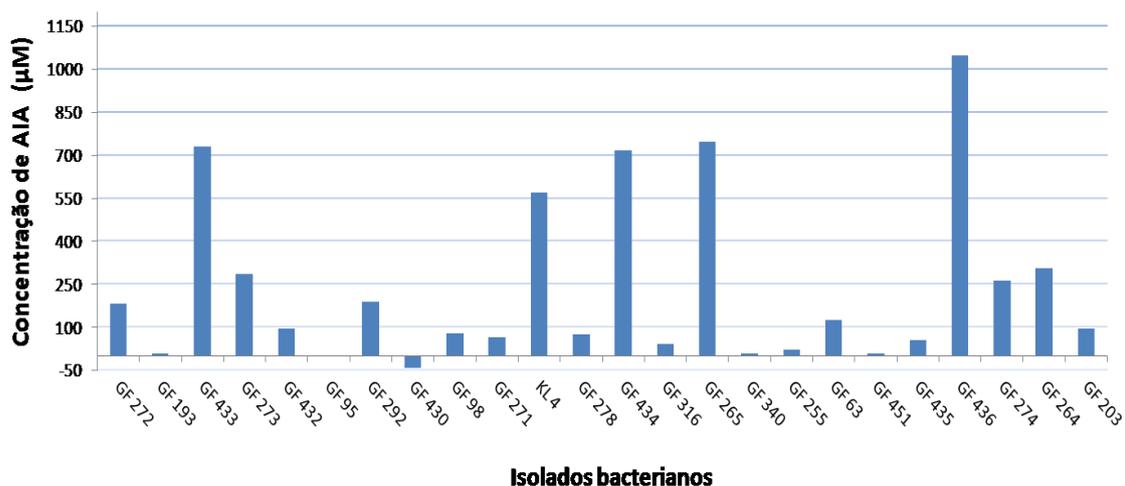


Figura 6. Concentração de AIA pelos isolados bacterianos, lida em espectrofotômetro a 492nm. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2017.

Ao comparar a produção de AIA com a promoção de crescimento pelos isolados, nota-se que a maioria das bactérias com característica de promoção de crescimento sintetizaram menos que 300 $\mu$ M de AIA. Por exemplo, o isolado GF436, que mais produziu o fitormônio (1048 $\mu$ M), implicou negativamente no desenvolvimento das plantas, para a variável diâmetro de colo e matéria fresca de raiz, além do baixo desempenho para as todas as outras variáveis. Enquanto que o isolado GF451, embora a baixa produção de AIA (7 $\mu$ M), incrementou cinco variáveis de crescimento avaliadas,

apenas não teve efeito no diâmetro de colo e comprimento de raiz. Num trabalho realizado por Ghyselink *et al.* (2013), dos três isolados que obtiveram melhor desempenho na promoção do crescimento de plantas de batata, apenas um produziu AIA (91,21mg/mL), sendo os efeitos da promoção de crescimento decorrente de outras variáveis avaliadas, como capacidade de biocontrole do fitopatógeno, enzimas hidrolíticas, produção de sideróforos, solubilização de fosfato, atividade da enzima ACCD e produção de amônia.

A maioria dos isolados que proporcionaram maior crescimento de raiz produziram entre 6 e 64 $\mu$ M de AIA, ou seja, concentrações baixas em relação aos demais. O efeito da inoculação com RPCP no desenvolvimento de raízes é decorrente do aumento da superfície radicular, ou seja, as raízes laterais e pêlos radiculares aumentam, todavia ocorre o encurtamento da raiz principal (Spaepen e Vanderleyden, 2011).

Além disso, o efeito negativo no desenvolvimento de plantas pelos isolado que sintetizaram maiores quantidades de AIA pode ser decorrente do desequilíbrio hormonal que alguns microrganismos produtores de auxinas causam, uma vez que a resposta fisiológica de hormônios vegetais é alcançada em baixas concentrações (Taiz e Zeiger, 2004; Spaepen e Vanderleyden, 2011).

Neste trabalho, não foi verificado uma relação direta entre o crescimento de plantas e a síntese de AIA e solubilização de fosfatos. Sabendo-se que as BPCP possuem diversos mecanismos que promovem o crescimento vegetal, os quais podem agir individualmente ou em sinergia (Pii *et al.*, 2015), ou seja, alguns mecanismos não respondem de forma independente (Spaepen e Vanderleyden, 2011).

Como exemplo da interação ou influência de outros mecanismos promotores de crescimento de plantas, Ghyselink *et al.*, 2013 ao avaliarem o antagonismo de microrganismos em relação à *Rhizoctonia solani* e *Phytophthora infestans*, bem como a capacidade destes na solubilização de fosfatos, produção de AIA, HCN, NH<sup>3</sup> e ACC deaminase, verificou-se que 22 isolados de *Bacillus* spp. utilizados nos ensaios, cinco inibiram o crescimento dos patógenos, mas não promoveram o crescimento de plantas através de nenhum dos mecanismos avaliados. Ainda pôde ser constatado o potencial promotor de crescimento de várias espécies olerícolas pela estirpe BAC03 de *Bacillus velezensis*, avaliado quanto a capacidade de sintetizar AIA, NH<sup>3</sup>, compostos orgânicos voláteis e atividade da enzima ACC deaminase (Meng *et al.*, 2106).

Assim, o sucesso de alguns isolados pode ser devido a outros mecanismos que não foram avaliados neste trabalho. Desse modo, para compreender melhor a ação desses microrganismos no crescimento do tomateiro é necessário abranger os estudos, avaliando outros mecanismos que envolvem o crescimento de plantas por ação microbiana.

Os isolados bacterianos GF451, GF264 e GF274 foram mais promissores, apresentando desempenho positivo para a maioria das variáveis avaliadas. Dente estes, apenas o GF264 tem identificação em nível de espécie, sendo o *Bacillus methylotrophicus*.

### **3.4 Conclusão**

Vários são os mecanismos promotores de crescimento de plantas, sendo evidenciado neste estudo que alguns isolados avaliados em casa-de-vegetação, que promoveram o crescimento vegetal, pode não ter sido decorrente da produção de AIA e solubilização de fosfato. Os isolados mais promissores foram o GF451, GF264 e GF274, porém, é necessário avaliar outros mecanismos a fim de elucidar as características promotoras de crescimento de plantas por tais BPCP. Contudo é indispensável a realização de ensaios em campo para confirmar o desempenho destes isolados em casa-de-vegetação, bem como a eficácia dos resultados *in vitro*.

### 3.5 Referências bibliográficas

ALI SZ; SANDHYA V; GROVER M; KISHORE N; RAO LV; VENKATESWARLU B. 2009. *Pseudomonas* sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. *Biology and Fertility of Soils* 46:45–55.

BAL HB; NAYAK L; DAS S; ADHYA TK. 2013. Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. *Plant Soil* 366: 93–105.

COSTA, EM; NÓBREGA RSA; CARVALHO F; TROCHMANN A; FERREIRA LVM; MOREIRA FMS. 2013. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48: 1275 -1284.

DELEO, JP; BRITO JUNIOR JS; PARANHOS GG. 2016, junho. Especial tomate: custo para se produzir um ha. *Hortifruti Brasil*. Disponível em <http://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/especial-tomate-custo-para-se-produzir-um-hectare-de-tomate-ultrapassa-r-100-mil.aspx>. Acessado em 23 de dezembro de 2016.

GHYSELINCK J; VELIVELLI SLS; HEYLEN K; O'HERLIHY E; FRANCO J; ROJAS M; DE VOS P; PRESTWICH BD. 2013, março. Bioprospecting in potato fields in the Central Andean Highlands: Screening of rhizobacteria for plant growth-promoting properties. *Systematic and Applied Microbiology* 36: 116–127.

GLICK BR. 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Hindawi Publishing Corporation, *Scientifica*.

GLICK, BR. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research* 169: 30– 39.

JAIN S; VAISHNAV A; KASOTIA A; KUMARI S; CHOUDHARY DK. 2014. Plant growth-promoting bacteria elicited induced systemic resistance and tolerance in plants. In: AHMAH P; RASOOL S. *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance, A Sustainable Approach*. p. 109- 132.

KAUSHAL M; WANI SP. 2016. Rhizobacterial-plant interactions: Strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 231: 68–78.

LIU Z; LI YC; ZHANG S; FU Y; FAN X; PATEL JS; ZHANG M. 2015. Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from calcareous soils. *Applied Soil Ecology* 96: 217–224.

MENG Q; JIANG H; HAO JJ. 2016, março. Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biological Control* 98: 18–26.

NAVEED M; MITTER B; REICHENAUER TG; WIECZOREK K; SESSITSCH A. 2014. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by

*Burkholderia phytofirmans* PsJN and *Enterobacter* sp. FD17. *Environmental and Experimental Botany* 97: 30– 39.

NOVAIS RF; SMYTH TJ; NUNES FN. 2007. Fósforo. In: NOVAIS RF; ALVAREZ VH; BARROS NF; FONTES RL; CANTARUTTI RB; NEVES JCL (eds). *Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – SBCS*.

PII Y; MIMMO T; TOMASI N; TERZANO R; CESCO S; CRECCHIO C. 2015, maio. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. *Biology and Fertility of Soils* 51: 403- 415.

REIS JÚNIOR, FB; SILVA MF; TEIXEIRA KRS; URQUIAGA S; REIS VM. 2004. Identificação de isolados de *Azospirillum amazonense* associados a *Brachiaria* spp., em diferentes épocas e condições de cultivo e produção de fitormônio pela bactéria. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 28:103-113.

SARWAR, M.; KREMER, R.J. 1995. Enhanced suppression of plant growth through production of L-tryptophan derived compounds by deleterious rhizobacteria. *Plant and Soil* 172: 261-269.

SILVA DJH; FONTES PCR; MIZUBUTI ESG; PICANÇO MC. 2007. Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: PAULA JÚNIOR de TJ; VENZON M. *101 CULTURAS: Manual de tecnologias agrícolas*. Belo Horizonte: EPAMIG. p. 735– 750.

SCAGLIOLA M; PII Y; MIMMO T; CESCO S; RICCIUTI P; CRECCHIO C. 2016, junho. Characterization of plant growth promoting traits of bacterial isolates from the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.) and tomato (*Solanum lycopersicon* L.) grown under Fe sufficiency and deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry* 107: 187 -196.

SINGH N; MARWA N; MISHRA SK; MISHRA J; VERMA PC; RATHAUR S; SINGH N. 2016. *Brevundimonas diminuta* mediated alleviation of arsenic toxicity and plant growth promotion in *Oryza sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 125: 25–34.

SCHROTH MN; HANCOCK JG. 1982, junho. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science* 216: 1376- 1381.

SOLANO BR; MAICAS JB; IGLESIAS MTP; DOMENECH J; MANERO G. 2007. Systemic Disease Protection Elicited by Plant Growth Promoting Rhizobacteria Strains: Relationship Between Metabolic Responses, Systemic Disease Protection, and Biotic Elicitors. *Biological Control* 98: 451 -457.

SPAEPEN S; VANDERLEYDEN J. 2011. Auxin and Plant-Microbe Interactions. *ColdSpring Harbor Perspectives in Biology*.

TAIZ L; ZEIGER E. 2006. Fisiologia vegetal. Artmed.

WPTC – World processing tomato council. 2016, setembro. WPTC World production estimate of tomatoes for processing (in 1000 metric tonnes). Disponível em <http://www.gandolfiparma.com/wp-content/uploads/2016/10/WPTC-World-Production-estimate-as-of-30-September-2016.pdf>. Acessado em 10 de janeiro de 2017.

ZHANG H; MURZELLO C; SUN Y; KIM M; XIE C; JETER RM; ZAK JC; DOWD SE; PARÉ PW. 2010. Choline and osmotic-stress tolerance induced in *Arabidopsis* by the soil microbe *Bacillus subtilis* (GB03). *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal - APS Journals*23: 1097–1104.