

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES**  
**LUCIANA FRANCISCO**

**DIVERSIDADE DA BACTÉRIA ENDOFÍTICA**  
***Methylobacterium* E POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE**  
**CRESCIMENTO**

Mogi das Cruzes, SP

2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES**  
**LUCIANA FRANCISCO**

**DIVERSIDADE DA BACTÉRIA ENDOFÍTICA**  
***Methylobacterium* E POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE**  
**CRESCIMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação da Universidade de Mogi das Cruzes para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de Concentração: Biotecnologia Aplicada a Recursos Naturais e Agronegócios

**Prof. Orientador : Dr. Wellington Luiz de Araújo**

Mogi das Cruzes – SP

2010

### FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Francisco, Luciana

Diversidade da bactéria endofítica *Methylobacterium* e potencial para promoção de crescimento / Luciana Francisco. – 2010.

116 f.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) -  
Universidade de Mogi das Cruzes, 2010

Área de concentração: Biotecnologia Aplicada a  
Recursos Naturais e Agronegócios

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Welington Luiz de Araújo

1. Bactérias endofíticas 2. *Methylobacterium* 3.  
Promoção de crescimento 4. Tomateiro (*Lycopersicon  
esculentum* Mill) I. Araújo, Welington Luiz de

CDD 579.3

### ATAS

#### ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

Às nove horas do dia dezessete de dezembro de dois mil e nove, na Universidade de Mogi das Cruzes, realizou-se a defesa de dissertação "Diversidade da bactéria endofítica methylobacterium e potencial para promoção de crescimento" para obtenção do grau de Mestre pelo(a) candidato(a) **Luciana Francisco**. Tendo sido o número de créditos alcançados pelo(a) mesmo(a) no total de 48 (quarenta e oito), a saber: 24 unidades de crédito em disciplinas de pós-graduação e 24 unidades de crédito no preparo da dissertação, o(a) aluno(a) perfaz assim os requisitos para obtenção do grau de Mestre. A Comissão Examinadora estava constituída dos Senhores Professores Doutores Welington Luiz de Araújo e Elisa Esposito da Universidade de Mogi das Cruzes, João Lúcio de Azevedo da Universidade de São Paulo, sob a presidência do(a) primeiro(a), como orientador(a) da dissertação. A Sessão Pública da defesa de dissertação foi aberta pelo Senhor Presidente da Comissão que apresentou o(a) candidato(a). Em seguida o(a) candidato(a) realizou uma apresentação oral da dissertação. Ao final da apresentação da dissertação, seguiram-se as arguições pelos Membros da Comissão Examinadora. A seguir a Comissão, em Sessão Secreta, conforme julgamento discriminado por cada membro, considerou o(a) candidato(a)

APROVADA por UNANIMIDADE  
 (aprovado(a)/reprovado(a)) (unanimidade/maioria)

Mogi das Cruzes, 17 de dezembro de 2009.

Comissão Examinadora

Julgamento

Prof. Dr. Welington Luiz de Araújo

APROVADA  
 (aprovado(a)/reprovado(a))

Profª Drª Elisa Esposito

APROVADA  
 (aprovado(a)/reprovado(a))

Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo

APROVADA  
 (aprovado(a)/reprovado(a))

*A minha família, por estar comigo a cada longo passo e a cada tropeço...*

**DEDICO**

*A minha filha Isabelle, pelas horas que me emprestou...*

**OFEREÇO**

*“Bom mesmo é ir a luta com determinação, abraçar a vida com paixão,  
perder com classe e vencer com ousadia, pois o triunfo pertence a quem se  
atreve...”*

*A vida é muita para ser insignificante”.*

*(Charles Chaplin)*

## AGRADECIMENTOS

Quero expressar os meus melhores agradecimentos e o meu profundo reconhecimento a todos aqueles que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para a concretização deste trabalho:

A Universidade de Mogi das Cruzes e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, pelo conhecimento e formação;

Ao Professor Dr. Welington Luiz Araújo agradeço a orientação científica, o incentivo, a confiança depositada, a disponibilidade, o conhecimento compartilhado e o apoio durante a realização de todo o trabalho;

Aos demais professores desta instituição, em especial Prof<sup>a</sup>. Dra. Elisa Espósito pelos ensinamentos indispensáveis concedidos;

Aos Amigos e Colegas do Laboratório de Biologia Molecular e Ecologia Microbiana / NIB - Núcleo Integrado de Biotecnologia: Aline Aparecida Camargo das Neves, Carol Bertini, Emy Tiyo Mano, Fernanda Alves Caravieri, Fernanda Cristina Storte Santos, Flávia Mendes da Cunha Holanda, Gabriela Delphino, Janaína Mendes Ferreira, Juliana G. Crescente, Maria Cristina Pires de Brum, Marília Pitombo Bixilia, Maristela Boaceff Ciraulo e Roberta Sommers, tenho a agradecer o companheirismo nos bons e maus momentos, o agradável convívio, o ótimo ambiente de trabalho que me proporcionaram e a amizade compartilhada durante esses dois anos de convivência;

Em especial aos amigos Almir José Ferreira e Felipe Rezende de Lima, pela permanente contribuição, pela eficiência e empenho na realização das tarefas, pela disponibilidade em ajudar, pela paciência em ensinar, companheiros de todos os dias, pelas risadas e ajuda fundamental no meu trabalho;

Aos alunos da Pós-Graduação, pela ajuda prestada no decorrer dos trabalhos, em especial para Kelly Cristina Rosa, Marcos Antonio Galanjauskas e Sabrina Albuquerque;

A todos os meus amigos, tenho a agradecer a amizade, carinho, apoio, incentivo e coragem que sempre me deram em todos os momentos;

Finalmente, agradeço à minha família, em especial aos meus Pais, Irmãs, Cunhados e principalmente minha filha Isabelle, pela presença sempre atenta, amor, carinho dedicado, compreensão, ajuda, apoio, incentivo e encorajamento que sempre me deram ao longo da minha vida.

*Muito Obrigada!*

## RESUMO

Bactérias endofíticas promotoras de crescimento podem conferir características vantajosas ao hospedeiro favorecendo sua produção e sugerindo que podem apresentar importante potencial biotecnológico. Da mesma forma, trabalhos recentes mostram que *Methylobacterium* spp. pode estar associada à promoção de crescimento em diferentes espécies vegetais, tornando preeminente estudos que visam o desenvolvimento de estratégia para seleção de agentes eficientes no crescimento de plantas. O presente estudo, teve como objetivo avaliar a diversidade de bactérias endofíticas do gênero *Methylobacterium* e o seu potencial para a promoção de crescimento de duas cultivares de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). Os experimentos foram conduzidos em câmara úmida e posteriormente em casa de vegetação avaliando 27 isolados endofíticos pigmentados (coloração rósea), em sementes de Tomate Cereja Samambaia e Tomate Santa Cruz Kada Gigante. Com base nos resultados os isolados bacterianos selecionados apresentaram variação nos resultados quanto a frequência de germinação nas sementes das duas espécies de tomateiro. Os isolados mais eficientes no potencial para aumento da taxa de germinação de sementes para os dois cultivares foram: *Bacillus thuringiensis*, *Hymenobacter xinjiangensis*, *Methylobacterium fujisawaense* e *Methylobacterium* sp. Os isolados menos eficientes que reduziram a emergência das sementes e desenvolvimento de plântulas dos tomateiros foram: *Methylobacterium* sp., *Rhodococcus* sp., *Prochlorococcus marinus* e *Prochlorococcus* sp. Entre os isolados: *Bacillus thuringiensis*, *Hymenobacter xinjiangensis*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Methylobacterium* sp. e *Rhodococcus* sp. propiciaram a maior eficiência de solubilização de fosfato e fixação de nitrogênio. Os isolados bacterianos foram identificados por meio do sequenciamento do gene 16S rDNA. Em geral o gênero *Methylobacterium* mostrou-se interferindo na emergência das sementes, no tamanho da planta hospedeira, contudo no desenvolvimento das plântulas das duas variedades de tomateiro, visto que uma mesma bactéria pode estimular a germinação em uma planta e inibir em outra.

**Palavras-Chave:** Bactérias endofíticas, *Methylobacterium*, Promoção de Crescimento e Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill).

## ABSTRACT

Endophytic growth promoters may confer advantageous traits to the host by favoring its production and suggesting that may have important biotechnological potential. Likewise, recent studies show that *Methylobacterium* spp. may be associated with the promotion of growth in different plant species, making prominent studies that focus on developing strategy for screening agents effective in plant growth. This study aimed to evaluate the diversity of endophytic bacteria *Methylobacterium* and their potential to promote growth of two cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) The experiments were conducted in a moist chamber and subsequently evaluated in a greenhouse 27 endophytic isolates pigmented (pink color) in seeds of Tomato Cherry bracken and Tomato Saint Cross Kada Giant. Based on the results of the selected bacterial isolates showed variation in results regarding the frequency of germination in seeds of two species of tomato. The most efficient isolates the potential for increasing the rate of seed germination for both cultivars were: *Bacillus thuringiensis*, *Hymenobacter xinjiangensis*, *Methylobacterium fujisawaense* and *Methylobacterium* sp. The less efficient strains that have reduced seed emergence and seedling development of tomato plants were: *Methylobacterium* sp., *Rhodococcus* sp., *Prochlorococcus marinus* and *Prochlorococcus* sp. Among the isolates: *Bacillus thuringiensis*, *Hymenobacter xinjiangensis*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Methylobacterium* sp. and *Rhodococcus* sp. results in the highest efficiency of phosphate solubilization and nitrogen fixation. The bacterial isolates were identified using 16S rDNA. In general, the genus *Methylobacterium* was found to be interfering with the emergence of seeds, the size of the host plant, but the development of the seedlings of two varieties of tomato, whereas the same bacteria can stimulate germination in a plant and inhibit another.

**Key words:** endophytic bacteria, *Methylobacterium*, Promoting Growth and Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Enquadramento por grupos de alguns cultivares mais comuns de tomateiro ...	35
<b>Tabela 2:</b> Distribuição dos gêneros dos isolados de bactérias endofíticas de <i>Tecoma stans</i> e <i>Blechnum brasiliense</i> .....	50
<b>Tabela 3:</b> Resultados dos testes com isolados bacterianos endofíticos: identificação, planta hospedeira, efeito na promoção de crescimento, solubilização de fosfato, fixação de nitrogênio e resultado da análise no Gen Bank .....	52
<b>Tabela 4:</b> Média da Taxa de Germinação, Altura Total (raiz e parte aérea), Altura da Raiz, Número de Folhas e Amostragem de Peso Fresco em Tomate Cereja Samambaia .....	61
<b>Tabela 5:</b> Média da Taxa de Germinação, Altura Total (raiz e parte aérea), Altura da Raiz, Número de Folhas e Amostragem de Peso Fresco em Tomate Santa Cruz Kada Gigante. ....	64
<b>Tabela 6:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 26/11/2007 a 29/11/2007.....	91
<b>Tabela 7:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 29/11/2007 a 02/12/2007.....	91
<b>Tabela 8:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 15/01/2008 a 18/01/2008.....	92
<b>Tabela 9:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 18/01/2008 a 21/01/2008.....	92
<b>Tabela 10:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 22/01/2008 a 25/01/2008.....	93
<b>Tabela 11:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 25/01/2008 a 28/01/2008.....	93
<b>Tabela 12:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 06/02/2008 a 09/02/2008.....	94
<b>Tabela 13:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 09/02/2008 a 12/02/2008.....	94
<b>Tabela 14:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 26/02/2008 a 29/02/2008.....	94
<b>Tabela 15:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 27/02/2008 a 01/03/2008.....	95
<b>Tabela 16:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 17/07/2008 a 20/07/2008.....	95
<b>Tabela 17:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 26/07/2008 a 29/07/2008.....	96
<b>Tabela 18:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 28/07/2008 a 31/07/2008.....	96
<b>Tabela 19:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 29/07/2008 a 01/08/2008.....	96
<b>Tabela 20:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 30/08/2008 a 02/09/2008.....	97
<b>Tabela 21:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 31/08/2008 a 03/09/2008.....	97
<b>Tabela 22:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 06/09/2008 a 09/09/2008.....	98
<b>Tabela 23:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 20/09/2008 a 23/09/2008.....	98

<b>Tabela 24:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 11/10/2008 a 14/10/2008.....	99
<b>Tabela 25:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 17/01/2009 a 20/01/2009.....	99
<b>Tabela 26:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 20/01/2009 a 23/01/2009.....	99
<b>Tabela 27:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 17/02/2009 a 20/02/2009.....	100
<b>Tabela 28:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 06/02/2008 a 11/02/2008 .....	100
<b>Tabela 29:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 09/02/2008 a 14/02/2008 .....	101
<b>Tabela 30:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 08/07/2008 a 13/07/2008 .....	101
<b>Tabela 31:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 10/07/2008 a 15/07/2008 .....	102
<b>Tabela 32:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 17/07/2008 a 22/07/2008 .....	102
<b>Tabela 33:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 19/07/2008 a 24/07/2008 .....	103
<b>Tabela 34:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 26/07/2008 a 31/07/2008 .....	103
<b>Tabela 35:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 28/07/2008 a 02/07/2008 .....	104
<b>Tabela 36:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 29/07/2008 a 03/08/2008 .....	104
<b>Tabela 37:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 30/08/2008 a 04/09/2008.....	105
<b>Tabela 38:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 06/09/2008 a 11/09/2008 .....	105
<b>Tabela 39:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 20/09/2008 a 25/09/2008 .....	106
<b>Tabela 40:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 11/10/2008 a 16/10/2008 .....	106
<b>Tabela 41:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 17/01/2009 a 22/01/2009 .....	107
<b>Tabela 42:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 20/01/2009 a 25/01/2009 .....	107
<b>Tabela 43:</b> Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 17/02/2009 a 22/02/2009 .....	108
<b>Tabela 44:</b> Média e Desvio Padrão da Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no testes realizados no período de 26/11/2007 a 17/02/2009 .....	108
<b>Tabela 45:</b> Média e Desvio Padrão da Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no testes realizados no período de 06/02/2008 a 17/02/2009 .....	109
<b>Tabela 46:</b> Média e Desvio Padrão da Análise do Processo de Germinação que possuem efeito benéfico quando comparado ao grupo controle em Tomate Cereja Samambaia.....	110
<b>Tabela 47:</b> Média e Desvio Padrão da Análise do Processo de Germinação que possuem efeito inibitório quando comparado ao grupo controle em Tomate Cereja Samambaia.....	110

<b>Tabela 48:</b> Média e Desvio Padrão da Análise do Processo de Germinação que possuem efeito benéfico quando comparado ao grupo controle em Tomate Santa Cruz Kada Gigante.....	111
<b>Tabela 49:</b> Média e Desvio Padrão da Análise do Processo de Germinação que possuem efeito inibitório quando comparado ao grupo controle em Tomate Santa Cruz Kada Gigante.....	111
<b>Tabela 50:</b> Análise de Germinação em Tomate Cereja Samambaia (tratamento em casa de vegetação) no período de 10/10/2009 a 30/10/2009.....	112
<b>Tabela 51:</b> Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação).....	112
<b>Tabela 52:</b> Altura da Raiz das Plantas de Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação).....	112
<b>Tabela 53:</b> Contagem do Número de Folhas em Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação).....	112
<b>Tabela 54:</b> Amostragem do Peso Fresco em Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação).....	113
<b>Tabela 55:</b> Taxa de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante (tratamento em casa de vegetação), no período de 16/10/2009 a 05/11/2009..	113
<b>Tabela 56:</b> Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação).....	113
<b>Tabela 57:</b> Altura da Raiz das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação).....	113
<b>Tabela 58:</b> Contagem do Número de Folhas em Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação).....	114
<b>Tabela 59:</b> Amostragem do Peso Fresco em Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação).....	114
<b>Tabela 60:</b> Média e Desvio Padrão da Taxa de Germinação em Tomate Cereja Samambaia (cultivo com substrato em bandeja de sementeira) (tratamento em casa de vegetação).....	114
<b>Tabela 61:</b> Média e Desvio Padrão da Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação).....	114
<b>Tabela 62:</b> Média e Desvio Padrão da Altura da Raiz das Plantas de Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação).....	115
<b>Tabela 63:</b> Média e Desvio Padrão da Contagem do Número de Folhas em Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação).....	115
<b>Tabela 64:</b> Média e Desvio Padrão da Amostragem do Peso Fresco em Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação).....	115
<b>Tabela 65:</b> Média e Desvio Padrão da Taxa de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante (cultivo com substrato em bandeja de sementeira) (tratamento em casa de vegetação).....	115
<b>Tabela 66:</b> Média e Desvio Padrão da Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante (tratamento em casa de vegetação).....	116
<b>Tabela 67:</b> Média e Desvio Padrão da Altura da Raiz das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante (tratamento em casa de vegetação).....	116
<b>Tabela 68:</b> Média e Desvio Padrão da Contagem do Número de Folhas em Tomate Santa Cruz Kada Gigante (tratamento em casa de vegetação).....	116
<b>Tabela 69:</b> Média e Desvio Padrão da Amostragem do Peso Fresco em Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação).....	116

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Parque Nagib Najjar destacado em laranja e Serra do Itapety ao fundo.....	43
<b>Figura 2:</b> Pontos de coleta dos exemplares vegetais no Parque Najib Najjar na cidade de Mogi das Cruzes, SP .....	44
<b>Figura 3:</b> Solubilização de fosfato por bactérias endofíticas.. ..	54
<b>Figura 4:</b> Crescimento de bactérias em meio de cultura livre de Nitrogênio.....	55
<b>Figura 5:</b> Porcentagem de germinação de sementes de Tomate Cereja Samambaia após inoculação com bactérias endofíticas.....	57
<b>Figura 6:</b> Porcentagem de germinação de sementes de Tomate Santa Cruz Kada Gigante após inoculação com bactérias endofíticas.....	58
<b>Figura 7:</b> Plântulas de Tomate Cereja Samambaia (câmara úmida).....	59
<b>Figura 8:</b> Plântulas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante (câmara úmida). .....	60
<b>Figura 9:</b> Média de germinação de sementes de Tomate Cereja Samambaia após inoculação com bactérias endofíticas com cultivo em casa de vegetação .....	61
<b>Figura 10:</b> Média e Desvio Padrão da Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Cereja Samambaia .....	61
<b>Figura 11:</b> Média e Desvio Padrão da Altura da Raiz das Plantas de Tomate Cereja Samambaia. ....	62
<b>Figura 12:</b> Média e Desvio Padrão da Contagem do Número de Folhas em Tomate Cereja Samambaia .....	62
<b>Figura 13:</b> Média e Desvio Padrão da Amostragem do Peso Fresco em Tomate Cereja Samambaia .....	62
<b>Figura 14:</b> Plântulas de Tomate Cereja Samambaia. (casa de vegetação).....	63
<b>Figura 15:</b> Aspectos de Plântulas de Tomate Cereja Samambaia. ....	63
<b>Figura 16:</b> Porcentagem de germinação de sementes de Tomate Santa Cruz Kada Gigante após inoculação com bactérias endofíticas no cultivo em casa de vegetação .....	64
<b>Figura 17:</b> Média e Desvio Padrão da Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante. ....	65
<b>Figura 18:</b> Média e Desvio Padrão da Altura da Raiz das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante .....	65
<b>Figura 19:</b> Média e Desvio Padrão da Contagem do Número de Folhas em Tomate Santa Cruz Kada Gigante.....	65
<b>Figura 20:</b> Média e Desvio Padrão da Amostragem do Peso Fresco em Tomate Santa Cruz Kada Gigante. ....	66
<b>Figura 21:</b> Plântulas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante (casa de vegetação).....	67
<b>Figura 22:</b> Aspectos de Plântulas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante. ....	67

## SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO .....	14
2 INTRODUÇÃO .....	16
2.1 ASPECTOS GERAIS .....	16
2.2 BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS .....	20
2.3 IMPORTÂNCIA DE ALGUMAS BACTÉRIAS ASSOCIADAS ÀS PLANTAS .....	22
2.3.1 O gênero <i>Methylobacterium</i> .....	22
2.4 PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL .....	25
2.4.1 Fixação do N <sub>2</sub> .....	27
2.4.2 Disponibilização de nutrientes – Solubilização de Fosfato .....	30
2.5 TOMATEIRO .....	31
2.5.1 Sementes .....	31
2.5.2 Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill) .....	32
2.5.2.1 Aspectos Gerais .....	32
2.5.2.2 Importância econômica do tomateiro .....	37
2.5.2.3 Tomate tipo Cereja ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill) .....	39
2.5.2.4 Tomate Santa Cruz Kada Gigante .....	40
3 OBJETIVOS .....	42
3.1 OBJETIVO GERAL .....	42
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	42
4 MÉTODO .....	43
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA E DAS PLANTAS HOSPEDEIRAS .....	43
4.2 ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS .....	44
4.2.1 Desinfecção superficial .....	44
4.2.2 Isolamento .....	44
4.3 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DAS BACTÉRIAS .....	45
4.4 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO .....	46
4.5 FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO .....	46
4.6 SELEÇÃO DAS BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS .....	46
4.7 INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS EM SEMENTES .....	47
4.8 CONFIRMAÇÃO DA COLONIZAÇÃO DE PLÂNTULAS POR <i>Methylobacterium</i> spp. ....	49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	50
5.1 RIQUEZA DE ESPÉCIES BACTERIANAS ASSOCIADA À <i>T. STANS</i> E <i>B. BRASILIENSE</i> .....	50
5.2 DIVERSIDADE BACTERIANA ASSOCIADA AO GÊNERO <i>Methylobacterium</i> .....	51
5.3 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO .....	53
5.4 FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS .....	54
5.5 EFEITO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE TOMATEIRO .....	56

6 CONCLUSÕES .....	68
REFERÊNCIAS .....	70
APENDICE .....	90

# 1 APRESENTAÇÃO

A cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill), dentre as hortaliças, representa uma das mais importantes e expressivas culturas no cenário agrícola mundial. O tomate é a segunda hortaliça mais importante do Brasil, perdendo apenas para a batata. Hoje, o Brasil situa-se entre os maiores produtores mundiais, ao lado de Estados Unidos e Itália. A produção brasileira hoje é cerca de 3.347.650 de toneladas com uma área cultivada de 56.986 hectares (AGRIANUAL, 2008). Ao natural é consumido em saladas e, ainda, em molhos e temperos. Quando industrializado é empregado como matéria-prima para obtenção de extrato, purê, suco, catchup e fruto depelado. Porém, existem limitações na cultura, como o alto custo de insumos, além da quantidade demasiada de adubos têm resultado em perdas de produção devido a desequilíbrios e distúrbios nutricionais, que afetam sensivelmente a produtividade e a qualidade comercial dos frutos. O aparecimento dessas dificuldades levou à busca de novas alternativas para o cultivo de espécies que exigem tratamentos culturais intensivos como o tomateiro. O fato de ser o tomate uma hortaliça consumida *in natura*, a preocupação com a saúde dos consumidores devido à possibilidade de resíduos de agroquímicos, vem causando um aumento na procura pelo tomate produzido com menor quantidade de insumos químicos e geralmente certificado pelos órgãos como o Instituto Biodinâmico (IBD) (BRASIL, 1999; PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA, 2003). Sendo assim, as pesquisas com fontes alternativas de incorporação de nutrientes têm ganhado investimentos, dentre estas as pesquisas envolvendo metodologias alternativas de promoção de crescimento e controle de patógenos, principalmente com enfoque no uso de microrganismos que ocorrem naturalmente em associação com as plantas. Os microrganismos endofíticos interagem e podem conferir vantagens à planta hospedeira, colaborando com o controle biológico e com o crescimento da planta por meio da produção de fitohormônios e outros compostos, podendo para isso estar presentes nos mais variados tecidos e órgãos de plantas, inclusive nas sementes (PEIXOTO NETO *et al.*, 2002).

Portanto, é de grande interesse a exploração de bactérias endofíticas potencializadoras do crescimento vegetal, visando a sua posterior aplicação em sementes para a introdução no campo, resultando em plantas com potencial superior de produção. Para tanto, no presente trabalho, foram realizadas análises com isolados do gênero *Methylobacterium*, sendo avaliada a sua diversidade e o seu potencial para a promoção de crescimento em duas variedades

comerciais de Tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). Foi avaliada também a capacidade destas bactérias em solubilizar fosfato e fixar biologicamente nitrogênio. Assim, este trabalho teve como principal objetivo selecionar bactérias endofíticas do gênero *Methylobacterium* com potencial para promoção de crescimento vegetal do tomateiro.

## 2 INTRODUÇÃO

### 2.1 ASPECTOS GERAIS

Endófitos são microrganismos que habitam o interior das plantas, sendo encontrados em órgãos e tecidos vegetais como folhas, ramos e raízes sem causar doenças e sem produzir estruturas externas visíveis (AZEVEDO & ARAÚJO, 2007). A comunidade endofítica é constituída principalmente por fungos e bactérias que, ao contrário dos microrganismos patogênicos, não causam prejuízo à planta hospedeira (PEIXOTO NETO *et al.*, 2002). Essa relação endofítica pode ter surgido a partir do aparecimento de vegetais superiores no planeta, ou seja, há centenas de milhões de anos (STROBEL, 2002). Evidências de microrganismos associados às plantas foram detectadas em tecidos de folhas e ramos fossilizados (TAYLOR & TAYLOR, 2000), mostrando uma co-evolução extremamente especializada entre os organismos envolvidos nesta interação. A grande vantagem que os microrganismos endofíticos têm em colonizar as plantas é que os tecidos internos proporcionam um ambiente protegido das adversidades do meio, tais como raios UV, chuvas e flutuações de temperatura, bem como maior disponibilidade de nutrientes, evitando assim competição com outros microrganismos que habitam, por exemplo, a superfície da planta e a rizosfera (MCINROY & KLOEPPER, 1995; MCINROY & KLOEPPER, 1995b). Logo, o endofitismo pode ser visto como uma estratégia de sobrevivência destes microrganismos.

As fontes mais prováveis de microrganismos endofíticos são as sementes (ADAMS & KLOEPPER, 1996), materiais propagativos (DONG *et al.*, 1994), a rizosfera (HALLMANN *et al.*, 1997b) e o filoplano (BEATTIE & LINDOW, 1995). De forma geral, a penetração nos tecidos vegetais pode ocorrer por meio de estômatos, lenticelas, ferimentos e áreas de emergência de raízes secundárias (AZEVEDO, 1999).

O início do estudo dos microrganismos endofíticos ocorreu recentemente, especialmente por seu potencial na produção de metabólitos de interesse econômico, incluindo novos fármacos. As interações entre microrganismos já são conhecidas há muito tempo, porém a teoria sobre a associação benéfica ou neutra entre bactérias e plantas só teve início com o trabalho de Perotti (1926) citado por Hallmann *et al.* (1997) e Araújo (2000). Com exceção da associação de plantas com fungos micorrízicos diazotróficos da rizosfera,

acreditava-se que as demais interações levariam à formação de lesões nos tecidos vegetais, as quais poderiam causar a morte da planta. No entanto, a partir dos anos 70 com estudos a respeito dos endófitos ocorreu uma mudança nesse pensamento. Estes estudos confirmaram a interação mutualista entre a planta e endófitos na qual a planta hospedeira representa proteção e fonte de nutrientes e em contrapartida os endófitos produzem compostos químicos como enzimas, alcalóides e antibióticos que atuam como agentes controladores de microrganismos patogênicos e de insetos pragas, aumentando o valor adaptativo da planta hospedeira. Esta íntima relação entre bactérias endofíticas e seus hospedeiros envolveu processos coevolutivos, influenciando mecanismos fisiológicos da planta (MISAGHI & DONNDELINGER, 1990).

Atualmente sabe-se que bactérias e fungos podem viver endofiticamente em diferentes partes das plantas, como raízes, ramos, folhas, sementes, frutos, tubérculos e mesmo flores, colonizando os espaços intercelulares, vasos do xilema ou mesmo apresentando colonização intracelular (MUNDT & HINKLE, 1976; GARBEVA *et al.*, 2001; STURZ *et al.*, 1999; DARBYSHIRE & GREAVES, 1971; HALLMANN *et al.*, 1997), e em diversas culturas de importância agrônômica como milho, algodão, tomate, batata, citros e videira dentre outras (BELL *et al.*, 1995b; JACOBS *et al.*, 1985; HINTON & BACON, 1995; QUADT-HALLMANN *et al.*, 1997).

Entretanto, a partir dos anos 80, os trabalhos se tornaram mais frequentes e, atualmente, todas as espécies vegetais estudadas até o momento, tais como: cana-de-açúcar (CAVALCANTE & DOBEREINER, 1988), trigo (RUPPEL *et al.*, 1992; PIRTTILA *et al.*, 2005), citros (CHILDS *et al.*, 1965; GLIENKE, 1995; ARAÚJO *et al.*, 2001), banana (PEREIRA *et al.*, 1999), milho (FISHER *et al.*, 1992; SILVA, 1998), estilosantes (PEREIRA, 1993; PEREIRA *et al.*, 1993), morango, tomateiro, pimenteira (PILLAY & NOWAK, 1997; FREITAS & PIZZINATTO, 1991; DICKLOW *et al.*, 1993), grão de bico e berinjela (KUMAR, 1998), alfafa (OLSEN & MISAGHI, 1981), beterraba (BUGBEE *et al.*, 1975; JACOBS *et al.*, 1985; THRANE *et al.*, 2000), rabanete (LEEMAN *et al.*, 1995), sorgo (CHIARINI *et al.*, 1998), batata, alface (BAKKER *et al.*, 1986; GASONI *et al.*, 2001; FREITAS *et al.*, 2003), algodão (MISAGHI; DONNDELINGER, 1990), soja (KUKLINSKY-SOBRAL *et al.*, 2004), eucalipto (PROCÓPIO, 2004), arroz (SANDHIYA *et al.*, 2005), cacau (RUBINI *et al.*, 2005) e várias plantas ornamentais (YUEN & SCHROTH, 1986), demonstram existência de microrganismos endofíticos.

Com o acúmulo de informações sobre a interação endófitos-planta (AZEVEDO *et al.*, 2000; ARAÚJO *et al.*, 2001), e com a determinação das diferentes funções desses microrganismos no interior da planta, tem-se dado atenção ao estudo de bactérias endofíticas,

que podem atuar no controle biológico de inúmeras doenças (HALLMANN *et al.*, 1997; M'PIGA *et al.*, 1997), na promoção de crescimento vegetal (HALLMANN *et al.*, 1997; BENT & CHANWAY, 1998), e na biorremediação de áreas poluídas (NEWMAN & REYNOLDS, 2005).

Por apresentarem uma associação íntima com a planta hospedeira as bactérias endofíticas despertam grande interesse agrônômico. Segundo Misaghi & Donndelinger, (1990) esses microrganismos estão completamente compatibilizados com o hospedeiro, sendo esta interação, resultado de milhares de anos de convivência comum, tendo levado à coevolução dos organismos endofíticos com as respectivas espécies hospedeiras, ou a um aprimoramento de relações patogênicas. Atualmente pouco se conhece a respeito dos aspectos ecológicos, fisiológicos e genéticos envolvidos na interação planta/endófitos. Entretanto, como já descrito, é relevante a importância dos microrganismos endofíticos para a planta. O estudo mais aprofundado desta interação possibilitará a utilização destes microrganismos em programas de melhoramento de espécies vegetais de interesse, pois estes microrganismos endofíticos podem ser manipulados geneticamente e reintroduzidos na planta hospedeira, conferindo novas características a essa planta, como resistência a patógenos, pragas e a produção de proteínas e vitaminas, etc.

Os endófitos são potencialmente úteis na agricultura e na indústria, particularmente na alimentícia e farmacêutica. Podem ser utilizados como vetores para introdução de genes de interesse nas plantas (FAHEY, 1988; MURRAY *et al.*, 1992), como agentes inibidores de pragas e patógenos (Volksch *et al.*, 1992) e como fontes de metabólitos primários (STAMFORD *et al.*, 1998) e secundários de interesse como o taxol, poderoso anticancerígeno (STIERLE *et al.*, 1993; WANG *et al.*, 2000), a criptocandina, lipopeptídeo antimicótico (STROBEL *et al.*, 1999) e diversos outros antibióticos.

Microrganismos endofíticos têm apresentado a capacidade de estimular o crescimento das plantas por mecanismos diretos (disponibilização de nutrientes e/ou produção de hormônios vegetais) ou por mecanismos indiretos (antagonismos contra patógenos ou resistência a drogas) (DI-FIORE & DEL-GALLO, 1995; CHANWAY, 1998).

Segundo Fuentes-Ramirez *et al.* (1993) é possível que bactérias possam promover o aumento de produtividade da planta por produzir substâncias que atuam na regulação do crescimento, ou por fixar nitrogênio, ou ambos. Pillay & Nowak (1997) avaliaram a influência de bactérias endofítica e epifíticas, *in vitro*, na promoção do crescimento vegetal e

verificaram que a densidade do inóculo, temperatura e genótipo do hospedeiro são fatores que interferem neste mecanismo.

Os hormônios vegetais são reguladores naturais do crescimento das plantas, influenciando os processos fisiológicos em baixas concentrações. Estes reguladores de crescimento vegetal são classificados em auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno (RAVEN *et al.*, 2002). A produção de auxinas, citocininas e giberelinas por diversas bactérias do solo, da rizosfera, endofítica e epífíticas já foi relatada (FUENTES-RAMIREZ *et al.*, 1993; PATTEN & GLICK, 1996; KUKLINSKY, 2004), sendo esta uma característica importante para as bactérias que promovem o crescimento vegetal.

A fixação de nitrogênio e a produção de hormônios vegetais por microrganismos endofíticos são os mecanismos mais explorados para a avaliação da promoção de crescimento vegetal, no estudo da interação endófito-planta hospedeira. Os hormônios vegetais são reguladores naturais de crescimento das plantas, e estes podem ser descritos como auxinas (atuam na diferenciação celular, crescimento radicular, promovem crescimento dos frutos e controlam a abscisão), citocininas (envolvidas na regulação do crescimento, diferenciação e senescência vegetal), giberelinas (estimulam a divisão e alongamento celular, interrompendo a dormência e aumentando o desenvolvimento dos frutos), ácido abscísico (está envolvido na regulação da transpiração, na quebra na dormência e no desenvolvimento inicial das sementes) e etileno (atua no amadurecimento dos frutos, promove a abscisão de folhas, flores e frutos, além de influenciar a expressão do sexo feminino) (RAVEN *et al.*, 2002).

A inoculação de microrganismos em sementes antes do plantio tem sido prática agrônômica rotineira na China Continental, em meados de 80 com a distribuição de 3.000 toneladas de inoculantes em 35.000.000 de hectares (CHEN *et al.*, 1995), demonstrando dessa forma a importância de bactérias associadas a plantas para a proteção da planta hospedeira. O mecanismo de promoção de crescimento vegetal por microrganismos endofíticos ainda necessita de muitos estudos para um melhor entendimento dos fatores envolvidos. Além da interação entre genótipo da planta e a comunidade endofítica promotora de crescimento, outros fatores interagem neste processo, como as comunidades microbianas epífíticas e da rizosfera. Dessa forma, a utilização aplicada de bactérias endofíticas na produção agrícola depende do entendimento dos mecanismos de interação bactéria-planta e da habilidade de manter manipular e modificar populações benéficas sob condições de campo (HALLMANN *et al.*, 1997). Além disso, o habitat endofítico possui características mais favoráveis à expressão de genes promotores de crescimento vegetal que a rizosfera, como alta disponibilidade energética e baixa competitividade com outras espécies. Isto possibilita a

expressão de genes associados à promoção do crescimento vegetal ao longo de todo o ciclo da planta hospedeira sob menor influência de fatores ambientais.

## **2.2 BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS**

Desde 1940 foram publicados vários relatos sobre bactérias endofíticas nativas em sementes, óvulos, tubérculos, raízes, caules, folhas e frutos (HALLMANN *et al.*, 1997). Nos últimos anos tem havido um crescente interesse no estudo da ocorrência, do potencial de colonização e da utilização dessas bactérias para promoção de crescimento e controle biológico de doenças de plantas. As bactérias endofíticas não estão sujeitas à competição por nutrientes que normalmente ocorre no solo da rizosfera e têm maior eficiência uma vez que, ao contrário das colonizadoras de rizosfera, já estão internamente no sistema radicular, onde os compostos bioativos por elas sintetizados encontram-se prontamente disponíveis às plantas. A associação de bactérias endofíticas-planta consiste numa interação íntima, na qual a planta fornece os nutrientes e habitat, enquanto a bactéria irá promover o crescimento e proteção da planta (NEWMAN & REYNOLDS, 2005).

Os primeiros relatos da presença de fungos e bactérias no interior de tecidos de plantas datam do final do século XIX. Mundt & Hinkle (1976) citam que um pesquisador chamado Fernbach, em 1888, detectou a presença de células bacterianas no interior de tecidos de tomate, cenoura e beterraba açucareira. Segundo Vogl, citado por White Jr. *et al.* (1996), em 1898 foi detectado um fungo endofítico em sementes de *Lolium temulentum* L. e foi observado ascomicetos, vivendo no interior de gramíneas sem, contudo, causar qualquer dano aparente. Entretanto, foi somente nas últimas duas décadas, que os estudos têm focado nos efeitos benéficos que a aplicação dos endófitos nas plantas pode gerar, por exemplo, o aumento da produção e a redução da severidade de doenças. Também existem estudos versando sobre a biodiversidade microbiana e plantas servindo como reservatório de material genético, abrigando microrganismos endofíticos (BACON & WHITE, 2000; CHEN *et al.*, 1995; CLAY, 1990; KOWALSKI & SADLOVSKI, 1993; MCINROY & KLOEPPER, 1995).

Embora bactérias endofíticas tenham sido detectadas dentro de sementes por microscopia (MUKHOPADHYAY *et al.*, 1996), acredita-se que muito provavelmente tais microrganismos penetram nas sementes por ferimentos causados por danos físicos, e não são provenientes da planta. White Jr. *et al.* (1996), trabalhando com *Acremonium* em gramíneas, afirmaram que a transmissão deste fungo para a próxima geração, geralmente, ocorre via penetração no embrião dentro da semente. Segundo Hallmann *et al.* (1997), é possível que

populações extremamente baixas de microrganismos endofíticos estejam presentes em regiões mais internas das sementes.

Segundo Hinton & Bacon (1995), o caminho mais lógico para a colonização dos tecidos por microrganismos endofíticos parece começar com a migração da bactéria ou fungo para locais onde sementes estejam germinando, ou as raízes estejam crescendo. A partir daí ocorre a colonização da radícula e do coleótilo e finalmente se disseminam sistemicamente na planta.

Assim como a presença de bactérias na rizosfera, a presença e a permanência de bactérias endofíticas também são influenciadas por fatores bióticos e abióticos (SEGHERS *et al.*, 2004). De maneira geral, a densidade de bactérias endofíticas é menor que aquela observada para bactérias de rizosfera e bactérias patogênicas (ROSENBLUETH *et al.*, 2004). Os poucos exemplos de plantas, aparentemente, livres de comunidades microbianas internas podem ser devido a dificuldades de isolamento e cultivo desses microrganismos (ROSENBLUETH *et al.*, 2006). O isolamento do microrganismo de tecidos com superfície previamente esterilizada e a visualização da bactéria nos tecidos internos do hospedeiro por microscopia são requerimentos para determinar se uma espécie é endofítica. Entretanto, esta visualização nem sempre é possível, visto que em alguns casos a densidade microbiana está abaixo do limite de observação. Por isso, o uso do termo "possível endófito" está sendo recomendado, bem como a avaliação da capacidade dessa bactéria de re-infectar plantas ou plântulas limpas (ROSENBLUETH *et al.*, 2006).

Com a finalidade de se verificar a localização e a forma de infecção destes microrganismos endofíticos em plantas hospedeiras, trabalhos foram desenvolvidos utilizando métodos citoquímicos e microscopia eletrônica, possibilitando melhor compreensão destes processos de colonização (RUPPEL *et al.*, 1992). As bactérias endofíticas possuem, da mesma forma que fitopatógenos, a capacidade de penetrar na planta e colonizar sistemicamente o hospedeiro, podendo habitar o apoplasto (MAHAFFEE *et al.*, 1997; QUADTHALLMANN *et al.*, 1997), vasos condutores (MAHAFFEE *et al.*, 1997; HALLMANN *et al.*, 1997) e ocasionalmente o meio intracelular (QUADTHALLMANN; KLOPPER, 1996; QUADTHALLMANN *et al.*, 1997).

Com esta colonização sistêmica da planta, estas bactérias podem alterar as condições fisiológicas e morfológicas do hospedeiro, além de atuar sobre as populações de outros microrganismos presentes no interior da planta (ANDREOTE *et al.*, 2004; ANDREOTE *et al.*, 2006). De acordo com Misaghi e Donndelinger (1990), a íntima relação entre bactérias endofíticas e seus hospedeiros envolveu processos coevolutivos podendo, inclusive, influenciar mecanismos fisiológicos da planta. Genes da planta expressos na presença de endófitos

fornecem pistas sobre os efeitos dos endófitos nas plantas. Análises moleculares sobre as respostas de defesa da planta na presença das bactérias podem elucidar como esse mecanismo limita o crescimento das populações bacterianas em tecidos internos (ROSENBLUETH *et al.*, 2006).

Há vários efeitos positivos atribuídos às bactérias endofíticas, como a promoção do crescimento vegetal (HALLMANN *et al.*, 1997; BENT; CHANWAY, 1998; SESSITSCH *et al.*, 2002; INIGUEZ *et al.*, 2004; TSAVKELOVA *et al.*, 2007), fixação de N<sub>2</sub> e controle biológico de pragas e doenças (DÖBEREINER; BODDEY, 1981; HALLMANN *et al.*, 1997; M'PIGA *et al.*, 1997; DOWNING *et al.*, 2000; VERMA *et al.*, 2001), indução de resistência sistêmica (HALLMANN *et al.*, 1997; MADHAIYAN *et al.*, 2004), produção de sideróforos (BURD *et al.*, 1998), produção de antibióticos (STROBEL; DAISY, 2003) e ainda no uso dessas bactérias em plantas como fitoremediadores de áreas poluídas (BARAC *et al.*, 2004; NEWMAN; REYNOLDS, 2005; BARZANTI *et al.*, 2007).

No controle biológico, os microrganismos endofíticos são amplamente utilizados como antagonistas aos agentes causadores das doenças em plantas (AZEVEDO *et al.*, 2000). O antagonismo pode se dar por competição por nutrientes, produção de substâncias nocivas aos patógenos ou indução de resistência sistêmica da planta hospedeira e tem o potencial de reduzir o consumo de agroquímicos. Em tomate, a aplicação da bactéria *Pseudomonas* sp. (linhagem PsJN) induziu resistência sistêmica a *Verticillium dahliae*, demonstrando que a colonização do endófito é capaz de ativar o sistema de defesa da planta, resultando assim na resistência ao patógeno (SHARMA; NOWAK, 1998; KAVINO *et al.*, 2007).

## **2.3 IMPORTÂNCIA DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS ÀS PLANTAS**

### **2.3.1 O gênero *Methylobacterium***

Os estudos sobre simbiose entre plantas leguminosas e bactérias associadas geralmente são referentes a rizóbios, bactérias pertencentes à família *Rhizobiaceae*. A família *Rhizobiaceae* é um dos mais explorados quanto à promoção de crescimento vegetal (COSTACURTA & VANDERLEYDEN, 1997). Estas bactérias são conhecidas por fixarem nitrogênio atmosférico em nódulos (estruturas vegetais desenvolvidas a partir da interação destas bactérias com as plantas) e, também, como fertilizantes naturais na produção agrícola de leguminosas (QUISPEL, 1988; BLOEMBERG *et al.*, 2001; JENSEN & HAUGGAARD-

NIELSEN, 2003). Contudo, Sy *et al.* (2001) descreveram uma nova espécie bacteriana, *Methylobacterium nodulans*, envolvida na formação de nódulos e fixação de nitrogênio em *Crotalaria* (leguminosa), sugerindo que esta bactéria pode apresentar um papel importante no suprimento de N<sub>2</sub> para estas plantas. Bactérias do gênero *Methylobacterium* podem estar relacionadas à fixação biológica do nitrogênio em culturas não-leguminosas. Embora tenha sido demonstrada a existência de um isolado deste gênero que nodula e fixa nitrogênio em simbiose com leguminosas (SY *et al.*, 2001), outras *Methylobacterium* spp. foram isoladas de plantas como algodão, milho doce (MCINROY & KLOEPPER, 1991) e cultivares selvagens e tradicionais de arroz (ELBELTAGY *et al.*, 2001).

O gênero *Methylobacterium* pertence à ordem *Rhizobiales*, mas à Família *Methylobacteriaceae*, mostrando filogenia com a Família *Rhizobiaceae*. Bactérias deste gênero apresentam coloração rósea devido à síntese de carotenóides e são metilotróficas facultativas (Pink pigment facultatively methylotropic - PPFMs) sendo encontradas em relação epifíticas e endofíticas com diferentes espécies vegetais (HOLLAND & POLLACCO, 1994; SY *et al.*, 2001; ARAÚJO *et al.*, 2001; ARAÚJO *et al.*, 2002; KOENIG *et al.*, 2002; VAN DIEN *et al.*, 2003). Microrganismos metilotróficos são capazes de consumir metanol como fonte de carbono. A primeira linhagem descrita foi isolada por Bassalik em 1913 e foi denominada *Bacillus extorquens*. Recentemente, *M. oryzae* foi descrita como uma nova espécie de *Methylobacterium* endofítica de arroz (MADHAIYAN *et al.*, 2007). Os membros do gênero *Methylobacterium* ocupam os mais diferentes habitats, incluindo solo, água, superfícies de folha, nódulos, grãos de arroz, ar, sedimentos e ambientes tipicamente urbanos (VAN AKEN *et al.*, 2004).

Essas bactérias podem crescer utilizando compostos de apenas um carbono (C1) como metanol e metilamina (TOYAMA *et al.*, 1998). Foi descrito que *M. populum* isolado BJ001 é um endófito que está envolvido na degradação de compostos energéticos tais como 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), hexaidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazina (HMX) e hexaidro-1,3,5-triazina (RDX) (VAN AKEN *et al.*, 2004).

As bactérias deste gênero interagem de forma simbiótica com diferentes espécies de plantas e estudos têm mostrado *Methylobacterium* como importante endófito, colonizando citros (ARAÚJO *et al.*, 2001; ARAÚJO *et al.*, 2002); pinus (PIRTTILA *et al.*, 2000); soja (KUKLINSKY-SOBRAAL *et al.*, 2004); crotalária (SY *et al.*, 2001), algodão (MADHAIYAN *et al.*, 2006) entre outras plantas (CHANPRAME *et al.*, 1996). Possuem crescimento ativo em tecidos meristemáticos, formando populações entre 10<sup>4</sup> e 10<sup>6</sup> UFCs (DORONINA *et al.*, 2002).

ANDREOTE *et al.* (2006) utilizaram *Catharanthus roseus* e *Nicotiana clevelandii* como plantas modelo para um estudo de interação entre *M. mesophilicum* e *X. fastidiosa*.

A presença do gene da nitrogenase (*NifH*) já foi descrita em espécies deste gênero (SY *et al.*, 2001), sugerindo a possibilidade destes organismos fixarem N<sub>2</sub>, suprindo a planta hospedeira com fontes orgânicas de nitrogênio. Esta interação foi reforçada também pela presença de genes envolvidos com a nodulação de plantas (gene *nodA*) em linhagens de *Methylobacterium* (SY *et al.*, 2001) e pela produção do hormônio vegetal citocina, sugerindo que este gênero pode apresentar uma importante função no crescimento vegetal. No entanto, um maior número de estudos em *Methylobacterium* spp. é necessário para melhor aproveitá-las como promotoras de crescimento vegetal (MADHAIYAN *et al.*, 2006). Um isolado de *M. extorquens* chamado ME4 foi testado e mostrou habilidade de promover crescimento em *Nicotiana tabacum*, *Lycopersicon esculentum*, *Sinapis alba* e *Fragaria vesca*, mas não apresentou ganho aparente quando em avaliação com outras 6 espécies vegetais (ABANDA-NKPWATT *et al.*, 2006). Em outro estudo, *Methylobacterium* aumentou a germinação de sementes de cana-de-açúcar em 19,5% comparado com o controle e quando a inoculação foi feita combinada com *Rhizobium* sp., notou-se aumento do crescimento da planta e da nodulação comparado com as inoculações isoladas de *Methylobacterium* e *Rhizobium* (MADHAIYAN *et al.*, 2005).

Lee *et al.* (2006) observaram que as citocininas sintetizadas por *Methylobacterium* sp. atuam como um sinal molecular, estimulando as células do tecido vegetal a se dividirem. Desta forma, por meio da orientação química, há a desmetilação da pectina presente na parede celular das células vegetais e, conseqüentemente, ocorre a liberação do metanol. *Methylobacterium* spp. também é capaz de sintetizar pectinase e celulase, sugerindo que estas bactérias podem apresentar indução de resistência sistêmica na planta hospedeira (FERREIRA FILHO *et al.*, 2001), fato este confirmado em estudos posteriores (MADHAIYAN *et al.*, 2006).

Estudos têm demonstrado que *Methylobacterium* spp. coloniza a superfície de folhas de diferentes hospedeiros (CHANPRAME *et al.*, 1996). Em citros, espécies de *Methylobacterium* têm sido isoladas como endófito de ramos (ARAÚJO *et al.*, 2002; LACAVA *et al.*, 2004), e nesta planta esta população interage com o patógeno *Xylella fastidiosa* (ARAÚJO *et al.*, 2002), estimulando o desenvolvimento dos sintomas da CVC por favorecimento no desenvolvimento de *X. fastidiosa* (LACAVA *et al.*, 2004). Espécies do gênero *Methylobacterium* são descritas como promotoras de crescimento vegetal (MADHAIYAN *et al.*, 2006a) ou indutoras de resistência sistêmica (MADHAIYAN *et al.*, 2006b).

Araújo *et al.* (2002) verificaram que plantas de citros com sintomas de Clorose Variegada dos Citros (CVC) apresentavam uma maior população de *Methylobacterium* em relação às plantas não infectadas com *Xylella fastidiosa*, sugerindo uma possível interação entre os microrganismos. Posteriormente, Lacava *et al.* (2004) confirmaram essa relação, devido ao favorecimento do crescimento de *X. fastidiosa in vitro* quando na presença do sobrenadante de *M. extorquens* no meio de cultura. Entretanto, o mesmo não foi observado quando se utilizou *M. mesophilicum*, Araújo *et al.* (2002) sugerem que *Methylobacterium* spp. seja um importante endófito de citros frente à ocorrência da CVC, contudo, pouco se sabe sobre os mecanismos químicos, fisiológicos e ecológicos envolvidos nessas associações.

Representantes desse gênero podem também promover o crescimento da planta por meio da produção de hormônios vegetais como o ácido indolacético (AIA), citocininas ou vitaminas (BASILE *et al.*, 1985; TROTSSENKO *et al.*, 2001; KOENIG *et al.*, 2002). Além disso, *Methylobacterium* pode estar associada ao metabolismo de nitrogênio das plantas (HOLLAND; POLACCO, 1992) e ao controle biológico (MADHAIYAN *et al.*, 2006; ABANDA-NKPWATT *et al.*, 2006).

Devido à significativa presença e capacidade de interação com diferentes tecidos vegetais, é possível especular que o gênero *Methylobacterium* apresenta significativa interação com a planta hospedeira, inclusive por meio de mecanismo de promoção de crescimento vegetal e desenvolvimento do hormônio vegetal citocinina (HOLLAND, 1997; SY *et al.*, 2001; KOENIG *et al.*, 2002), mostrando a importância desta bactéria no desenvolvimento vegetal.

## **2.4 PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL**

Bactérias em habitats naturais colonizam o interior e exterior de órgãos de plantas e podem ser benéficas, neutras ou prejudiciais ao seu crescimento. As bactérias promotoras de crescimento de plantas fazem parte da população residente das plantas como epifíticas ou endofíticas e não são fitopatogênicas. Microrganismos endofíticos têm sido associados com a promoção do crescimento de várias culturas, como tomate, alface, batata e milho (HALLMANN *et al.*, 1997), aumentando de 20 a 100% algumas características avaliadas como o número de raízes, o peso da matéria seca, a área foliar e a taxa de germinação das sementes (FROMMEL *et al.*, 1991). Chanway *et al.* (2000) verificaram aumento de até 82% na biomassa de mudas de um híbrido de abeto, no Canadá, quando aplicaram uma bactéria

endofítica, em testes de campo. Frommel *et al.* (1991) observaram que plantas de tomateiro tratadas com um isolado endofítico de *Pseudomonas* sp. apresentaram um crescimento de cerca de 26 a 28% na altura das plantas e, conseqüentemente, maior enfolhamento. *Neotyphodium coenophialum*, um fungo endofítico muito estudado no hemisfério norte, aumentou o crescimento de raízes e o perfilhamento de forrageiras, em testes de campo sob condições de estresse (ARECHAVALETA *et al.*, 1989).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas podem ser utilizadas para tratamento de sementes, explantes e mudas micropropagadas, incorporadas ao substrato de plantio, tratamento de estacas, tubérculos e raízes, pulverizações na parte aérea incluindo folhagem e frutos, e em pós-colheita. Já existem diversos produtos biológicos a base de bactérias promotoras de crescimento de plantas sendo comercializados no mundo e nos Estados Unidos embora no Brasil ainda não exista registro para nenhum deles (CHANWAY *et al.*, 2000).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas atuam promovendo diretamente o crescimento pela produção de ácido cianídrico, hormônios vegetais, enzimas como a ACC-deaminase, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos, fixação do nitrogênio e aumento da absorção de nutrientes pelas raízes, entre outros (CONN *et al.*, 1997; LAZAROVITS & NOWAK, 1997). A promoção de crescimento é considerada indireta quando a planta está sendo infectada por um patógeno e as bactérias promotoras de crescimento de plantas atuam como agentes de controle biológico por meio da produção de ácido cianídrico, bacteriocinas e antibióticos, competição por espaço, Fe<sup>+3</sup> e outros nutrientes, parasitismo, indução de resistência e proteção cruzada (CHANWAY *et al.*, 2000).

Na China, as bactérias promotoras de crescimento de plantas são conhecidas e comercializadas como bactérias que aumentam a produtividade - Yield Increasing Bacteria (YIB) (KLOEPPER, 1997) e em 1987 já eram aplicadas em larga escala, em 48 diferentes culturas, atingindo 3,35 milhões de hectares (WENHUA & HETONG, 1997). Nesse país, aumentos de produtividade tão significativos como 23,1 e 22,5 % têm sido obtidos pela aplicação dessas bactérias em batata doce e batata, respectivamente (ZHANG *et al.*, 1996).

Os gêneros bacterianos que mais se destacam como promotores de crescimento são: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, *Azospirillum* e *Azotobacter* (ZAADY *et al.*, 1993; RODRÍGUEZ & FRAGA, 1999) essas bactérias endofíticas estão relacionadas com produção de auxinas, etileno e citocininas, aumento da absorção de água e nutrientes, bem como a supressão de microrganismos deletérios está também associada ao aumento do crescimento da planta.

A agricultura orgânica vem se tornando opção importante, atendendo a uma crescente demanda dos consumidores, tanto em nível nacional quanto internacional, cujas necessidades criam nichos de mercado que são cada vez mais exigentes em relação à qualidade e segurança de produtos alimentares. Neste contexto, o tratamento de sementes com alguns microrganismos tem sido utilizado, pois, além de proteger as plantas contra fitopatógenos, pode promover o seu crescimento. Esse mecanismo se refere ao desenvolvimento das plantas de forma geral, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência e desenvolvimento das plântulas e produção de grãos e frutos (HARMAN, 2000).

No cultivo de grande número de espécies olerícolas, além da utilização de microrganismos antagonistas, a incorporação de aminoácidos, micronutrientes, reguladores de crescimento e micorrizas, tem sido pesquisada, visando produtos menos agressivos ao ambiente, melhor desenvolvimento das mudas para obtenção de maior produtividade e melhor agregação de insumos agrícolas às sementes gerando sustentabilidade, baseando-se em enfoque que visa a proteção ambiental (TRENTINI, 2004).

Atualmente existem vários bioprodutos disponíveis no mercado internacional principalmente oferecidos por empresas norte-americanas, canadenses, européias, australianas e indianas. Alguns recomendados para biocontrole de enfermidades de plantas, outro para promoção de crescimento e alguns outros presumidamente capazes de possuir ambas as funções. Os nomes e os princípios ativos bacterianos de alguns biofertilizantes e, ou, biopesticidas comercializados dos EUA: BioYield (*Bacillus* spp), Companion (*Pseudomonas fluorescens* A506), EcoGuard (*Bacillus licheniformis* SB3086), HiStick NIT (*Bacillus subtilis* MB1600), Serenade (*Bacillus pumilus*), YeldShield (*Bacillus* spp), Subtilex (*Bacillus subtilis* MB1600), Actinovate (*Streptomyces lydicus*), Mycostop (*Streptomyces griseoviridis* strain K61), Deny (*Burkholderia cepacia*) e Premium Azospi (*Azospirillum* sp.) (ROMEIRO, 2007).

#### **2.4.1 Fixação do N<sub>2</sub>**

Há vários mecanismos descritos sobre como endófitos promovem o crescimento dos vegetais que os abrigam. A fixação do nitrogênio (N<sub>2</sub>) atmosférico é um mecanismo bem estudado e há vários exemplos descritos na literatura de isolamento de microrganismos endofíticos com capacidade de fixar nitrogênio e disponibilizá-lo às plantas. Baldani *et al.* (1986) isolaram *Herbaspirillum seropedicae* de ramos e raízes de milho, arroz e sorgo. Cavalcante e Döbereiner (1988) isolaram uma bactéria diazotrófica, *Acetobacter diazotrophicus*, associada à cana-de-açúcar. Paula *et al.* (1993) reportaram uma associação

micorrízica desta bactéria com o fungo *Glomus clarum* em batata doce, sorgo e cana-de-açúcar. A fixação de  $N_2$  é controlada pelos genes *nif*, em especial, o *nif D* e o *nif H* e por isso usado como marcador em estudos onde se busca elucidar possíveis mecanismos de promoção de crescimento.

O nitrogênio (N) é o quarto elemento mais abundante nas plantas, sendo superado apenas pelo carbono (C), pelo oxigênio (O) e pelo hidrogênio (H). O nitrogênio é constituinte essencial de aminoácidos, proteínas, bases nitrogenadas, ácidos nucleicos, hormônios, clorofila, entre outros (MORGANTE, 2003). O nitrogênio é abundante na natureza, constituindo cerca de 80% do gás atmosférico, na forma de  $N_2$ . No entanto, organismos eucariontes são incapazes de absorver  $N_2$  e convertê-lo a uma forma assimilável devido à tripla ligação existente entre os átomos do  $N_2$ , o qual constitui uma das mais fortes que se tem conhecimento na natureza (HUNGRIA *et al.*, 1994).

As principais fontes de nitrogênio assimilável pelas plantas são: 1) nitrogênio do solo, proveniente principalmente da decomposição da matéria orgânica; 2) nitrogênio obtido pela fixação não-biológica, resultante de descargas elétricas, combustão e vulcanismo; 3) nitrogênio fornecido pelos fertilizantes; e 4) nitrogênio fornecido pelo processo de fixação biológica (HUNGRIA *et al.*, 2001). Entretanto, o nitrogênio presente na matéria orgânica do solo é limitado, podendo ser esgotado rapidamente após alguns cultivos. Já o processo químico o qual transforma  $N_2$  em amônia, representa a forma assimilada com maior rapidez pelas plantas, mas a um custo elevado, pois o processo químico o qual transforma  $N_2$  em amônia, requer hidrogênio (derivado do gás de petróleo), catalisador contendo ferro, altas temperaturas (300 a 600 °C) e altas pressões (200 a 800 atm.) (HUNGRIA *et al.*, 2001). Conseqüentemente, o gasto de fontes energéticas não renováveis é elevado e estima-se que sejam necessários, aproximadamente, seis barris de petróleo por tonelada de amônia ( $NH_3$ ) sintetizada. Um outro agravante na utilização dos fertilizantes nitrogenados reside na baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, raramente ultrapassando 50%. Deve-se considerar, ainda, que o uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados resulta em poluição ambiental, pois a lixiviação do nitrogênio e o escoamento desse nutriente pela superfície do solo resultam em acúmulo de formas nitrogenadas nas águas dos rios, lagos e lençóis de água subterrâneos, podendo atingir níveis tóxicos a peixes e ao homem (HUNGRIA *et al.*, 2001).

A terceira fonte de nitrogênio é representada pela Fixação Biológica do Nitrogênio - FBN, processo realizado por determinados procariontes, denominados organismos fixadores de  $N_2$  ou diazotróficos. As bactérias capazes de fixar biologicamente o  $N_2$  possuem uma enzima chamada dinitrogenase, que é formada por duas unidades proteicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro-proteína (MoFe-proteína), ambas capazes de transportar elétrons. Durante a

reação de redução do  $N_2$ , a dinitrogenase é auxiliada por uma terceira molécula transportadora de elétrons, a ferridoxina, a qual, na sua forma reduzida, transfere um elétron para a unidade Fe-proteína que, então, reduzida, doa o elétron recebido para a MoFe-proteína, a qual acumula os elétrons até que ocorram oito transferências concentrando oito elétrons, os quais são necessários para que a redução completa do  $N_2$  à  $NH_3$  ocorra (MORGANTE, 2003).

Em termos globais, estima-se que a FBN contribua com 65% da entrada anual de N na Terra, enquanto que a produção industrial contribui com 24% e a fixação não-biológica com cerca de 10% (HUNGRIA *et al.*, 2001). De acordo com Drozdowicz (1997) as bactérias fixadoras de  $N_2$  se associam a diversas plantas em diferentes graus de especificidade, levando a sua classificação como bactérias associativas (*Azospirillum* sp.), endofíticas (*Acetobacter diazotrophicus* e *Burkholderia* sp.) e simbióticas (rizóbios). Os rizóbios constituem um grupo de bactérias Gram negativas que incluem os gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* e *Allorhizobium* (GARRITY & HOLT, 2001) que se caracterizam pela formação de nódulos na planta hospedeira. A formação de nódulos é um processo complexo, que ocorre em várias etapas, e envolve mudanças fisiológicas e morfológicas tanto na célula hospedeira, como na bactéria. As mudanças na bactéria visam, principalmente, o recebimento de fontes de carbono da planta hospedeira, para prover o Adenosina tri-fosfato (ATP) e poder redutor necessário para o processo de fixação biológica, enquanto que as mudanças na planta hospedeira visam assimilara amônia produzida pelas bactérias (HUNGRIA *et al.*, 1994).

Para que ocorra a formação dos nódulos, ambos, bactéria simbiótica e planta hospedeira, desenvolveram um complexo sistema de interação, mantendo assim, uma comunicação molecular. Esse sistema faz com que bactérias simbióticas vivendo saprofiticamente no solo percebam sinais químicos sintetizados pela planta hospedeira, geralmente flavonoides, os quais fazem com que bactérias simbióticas sejam atraídas em direção às raízes da planta, por quimiotactismo positivo (DROZDOWICZ, 1997).

Os flavonoides induzem a transcrição de genes de nodulação (*nod*, *nol* e *noe*) nas bactérias, conduzindo à síntese e secreção dos fatores *Nod*. Os fatores *Nod* são lipo-quitino-oligossacarídeos responsáveis, principalmente, pelo reconhecimento entre bactéria e planta hospedeira e pela indução de uma intensa divisão celular no córtex da raiz. As bactérias, então, serão atraídas por quimiotactismo a rizosfera, onde vão se multiplicar, colonizando os tricomas (pelos) radiculares. Os tricomas enrolam-se, envolvendo grupos de bactérias, que em seguida, degradam uma porção da parede celular do tricoma, levando a invaginação do plasmalema. A seguir, as bactérias invadem o tricoma, utilizando o canal formado pela invaginação do plasmalema, dando origem ao cordão de infecção (MORGANTE, 2003; HUNGRIA *et al.*, 1994).

O cordão de infecção irá migrar em direção as células em divisão no córtex da raiz da planta que recebe o nome de nódulo primário, nessa etapa, as bactérias presentes no interior do cordão de infecção, continuam se multiplicando. Ao chegar às proximidades do nódulo primário, o cordão de infecção se ramifica para invadir as células vegetais. Pequenos grupos de bactérias, contidas no interior de vesículas membranosas, são liberados dentro do citoplasma das células vegetais do nódulo primário. A partir do estabelecimento do nódulo radicular, as bactérias, que se encontram dentro das células radiculares hospedeiras param de se multiplicar, aumentam de tamanho e sofrem várias alterações bioquímicas para se transformarem em bactérias especializadas na fixação de nitrogênio, os bacteróides (MORGANTE, 2003).

#### **2.4.2 Disponibilização de nutrientes – Solubilização de Fosfato**

Disponibilização de nutrientes, como a solubilização de fósforo, é outro mecanismo de promoção de crescimento descrito na literatura como um efeito dos endófitos nas plantas (GLICK & BASHAN, 1997). O fósforo é um nutriente mineral essencial ao desenvolvimento das plantas, pois é componente de compostos importantes das células vegetais, incluindo açúcares-fosfato, intermediários da respiração e da fotossíntese, bem como, dos fosfolipídeos que compõem as membranas celulares. É também componente de nucleotídeos utilizados no metabolismo energético das plantas, além de ser encontrado nos vegetais na forma de fosfato inorgânico (MALAVOLTA *et al.*, 1997; TAIZ & ZEIGER, 2004). A importância do fósforo no crescimento é observada em diversos trabalhos através de resultados obtidos com relação a parâmetros morfológicos ou bioquímicos. A produção e partição de massa seca ou biomassa entre a parte aérea e raízes das plantas são parâmetros adequados para avaliar a influência de diferentes disponibilidades de fósforo sobre o crescimento vegetal (CORRÊA *et al.*, 2004; FERNANDES *et al.*, 2003; SFREDO *et al.*, 1994).

A solubilização de fosfato é extremamente importante para o crescimento da planta, visto que a quantidade disponível deste elemento é pequena. Calcula-se que os microrganismos solubilizadores de fosfato constituem 20 a 40% da população cultivável de microrganismos do solo (CHABOT *et al.*, 1996). Ainda pode haver a produção de sideróforos que facilitam o transporte de certos nutrientes para a planta (PAULITZ & LÍNDERMAN, 1989; BEVIVINO *et al.*, 1998). Várias espécies de bactérias têm sido identificadas como capazes de solubilizar compostos fosfatados inorgânicos, como os fosfatos di e tricálcico, hidroxiapatitas e rochas fosfatadas. Existem populações consideráveis de alguns grupos de bactérias no solo e na rizosfera vegetal, como os gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* como principais e

outras como *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aereobacter*, *Flavobacterium* e *Erwinia* (RODRIGUEZ & FRAGA, 1999). Entretanto, mesmo sendo grande a diversidade de bactérias solubilizadoras de fosfato no solo, os níveis populacionais observados realmente são baixos para que ocorra uma competição com outras bactérias comumente associadas a rizosfera. Para que a quantidade de fósforo liberado por estes microrganismos seja suficiente para promover o crescimento vegetal, deve-se promover a inoculação destes organismos em concentrações elevadas (BELIMOV *et al.*, 1995; KUNDU & GAUR, 1984). Dessa forma a procura por espécies adaptadas às plantas de interesse deve ser realizada constantemente, permitindo o desenvolvimento de inoculantes mais eficientes e que promovam o crescimento vegetal. NA maior parte das análises, em testes *in vivo*, não se consegue confirmar os resultados obtidos no laboratório. Em associações micorrízicas a disponibilização de nutrientes para as plantas pelo fungo associado é bastante comum. Tanto que a produção de mudas florestais inoculadas com microrganismos endofíticos, fungos ou bactérias é uma tecnologia que está ganhando espaço no mercado (CHANWAY *et al.*, 2000; MARX & CORDELL, 1989; KROPP & LANGLOIS, 1990).

Deve-se ressaltar que os mecanismos acima descritos, bem como outros, são em geral estudados isoladamente. Sabendo-se que na natureza há inúmeras interações, é provável que alguns isolados endofíticos promovam o crescimento das plantas exercendo mais de um mecanismo. O uso de misturas de isolados é uma alternativa interessante para aumentar as possibilidades de sucesso na aplicação de endófitos promotores de crescimento para fins experimentais e, futuramente, comerciais.

## **2.5 TOMATEIRO**

### **2.5.1 Sementes**

Semente, por definição, é um meio de dispersão de plantas superiores capazes de se movimentarem passivamente, que sob condições ideais germinam, propagando a espécie. Geralmente contidas em frutos, as sementes são resultantes da propagação sexuada e formadas pelo amadurecimento do óvulo, posteriormente à fecundação. A semente é basicamente composta de uma testa ou casca, com função de proteção; endosperma (reserva nutricional) e o embrião, constituído de um eixo embrionário com células meristemáticas com

um ou dois cotilédones, que também são fontes de nutrientes para o embrião e para a plântula em crescimento. A germinação da semente começa com a emergência da radícula e depende de vários fatores: embebição da semente, presença de oxigênio, condições ideais de temperatura, ausência de impedimento mecânico da superfície do solo, ausência de ataque de microrganismos patogênicos e, dependendo da espécie, de outros fatores como luz e quebra da dormência (FELIPPE, 2007).

O endosperma das sementes é rico em nutrientes fundamentais para alimentar a plântula resultante da sua germinação. Devido ao grande valor nutricional das sementes, o homem tem usado esses grãos como alimento. Assim, atualmente, cerca de 90% dos alimentos são produzidos por meio de sementes (MENTEN, 1991). Os termos "sementes" e "grãos" se destinam apenas à identificação das formas de utilização, pois botanicamente não há distinção. Porém, os atributos de qualidade das sementes e grãos são diferentes, como por exemplo, o fato de que as sementes devem atingir requisitos mínimos de pureza varietal e germinação, aspectos não considerados para grãos (MARCOS FILHO, 2005).

A superfície externa da semente de tomate apresenta coloração amarelo-acinzentada, tem de 3 a 5 mm de diâmetro e forma ovalada com depressões laterais. O número de sementes por fruto varia conforme a cultivar, mas existe cultivares onde podem ser encontradas mais de 200 sementes por fruto. A semente é composta por uma cobertura protetora (tegumento e tricomas), pelo eixo embrionário (radícula e hipocótilo) e pelo tecido de reserva (dois cotilédones e endosperma). Existem genótipos que são partenocárpicos, isto é, não produzem sementes. Esse caráter é controlado pelo gene recessivo pat-2 (MELO, 2007).

Para atender uma produção em toneladas de tomate, há necessidade de se estabelecer um programa adequado de produção de sementes. Na hora da colheita, deve-se dar preferência à colheita manual dos frutos, fazendo com isto uma seleção de frutos bem formados, completamente maduros, apresentando coloração avermelhada, sem defeitos graves e sem sintomas de doenças. A colheita dos frutos no estágio correto de maturação resulta em sementes com alto vigor e poder germinativo. A extração de sementes é geralmente realizada por equipamentos específicos, que trituram os frutos e separam parcialmente as sementes da polpa (AGRINUAL, 2008).

## **2.5.2 Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)**

### **2.5.2.1 Aspectos Gerais**

O tomateiro é uma dicotiledônea, pertencente à ordem Tubiflorae, família Solanaceae e atualmente ao gênero *Solanum*. A nomenclatura científica do tomate tem uma história longa e confusa. Antes de Linnaeus recebeu vários nomes, entre eles *Poma amoris* (maçã do amor). Por sua vez, Linnaeus classificou o tomate como *Solanum lycopersicum*, sendo incluído no mesmo gênero da batata *Solanum tuberosum*. Entretanto, algum tempo depois de Linnaeus, taxonomistas decidiram que o tomate realmente pertencia ao gênero *Lycopersicon*. Então, o nome foi mudado para *Lycopersicon lycopersicum*. No entanto, botânicos não concordaram com o nome dado pelos taxonomistas, e o nome específico foi alterado para *Lycopersicon esculentum*. Mais recentemente, alguns trabalhos têm mostrado que o tomate, *Lycopersicon esculentum*, possui uma correlação genética muito próxima com espécies do gênero *Solanum*. Com isso o gênero *Lycopersicon* deixou de ser reconhecido, voltando ao gênero *Solanum*, sendo classificado como *Solanum esculentum*. Posteriormente, botânicos e taxonomistas concordaram que a espécie deveria ser *Lycopersicon*, nome original dado por Linnaeus. Assim, atualmente o tomate é classificado como *Solanum Lycopersicon* (GIORDANO & RIBEIRO, 2000; PERALTA *et al.*, 2000; PERALTA *et al.*, 2001).

A espécie vegetal tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) é considerada como modelo para estudos de genética clássica e molecular, por ser um diplóide simples que consiste de 12 pares de cromossomos (RICK; YODER, 1988) e possuir genoma relativamente pequeno (0,9 pg/genoma haplóide) (ARUMUGANATHAN; EARLE, 1991). Devido à sua importância econômica, o tomate tem sido usado como principal modelo para estudos da maturação de frutos. Esta importância prática, combinada com a facilidade de propagação, o curto ciclo de vida e a possibilidade de cultivo durante o ano todo em casa de vegetação, fez do tomate o modelo vegetal mais utilizado para a pesquisa do desenvolvimento e maturação de frutos (GIOVANNONI, 2001; CHAVES; MELLO-FARIAS, 2006).

O centro primário de origem do tomateiro é um estreito território, limitado ao norte pelo Equador, ao sul pelo norte do Chile, a oeste pelo oceano Pacífico e a leste pela Cordilheira dos Andes. Antes da colonização espanhola, o tomate foi levado para o México - centro secundário, onde passou a ser cultivado e melhorado. Foi introduzido na Europa via Espanha, entre 1523 e 1554. Da Europa, o tomate se difundiu para outros países, tendo sido reintroduzido nos Estados Unidos provavelmente em 1781, pelos colonizadores. No Brasil, seu hábito de consumo foi introduzido por imigrantes europeus no final do século XIX.

Existem evidências de que os italianos foram os primeiros a cultivar o tomate, por volta de 1550. Na verdade essa planta era cultivada como uma curiosidade, possivelmente pelo valor ornamental de seus frutos. Seu uso culinário foi dificultado por temor as suas

“características venenosas” pelo fato de pertencerem à mesma família 4 de plantas reconhecidamente tóxicas. Sabe-se hoje que o tomate contém um alcaloide, a tomatina, que se encontra em elevada concentração nas folhas e nos frutos verdes e que se degrada em componentes inertes nos frutos maduros (FILGUEIRA, 2000).

Somente a partir de 1900 o tomate começou a ter importância mundial como espécie cultivada e durante todo o processo de migração, o tomate passou por restrições no tamanho populacional dando como resultado uma redução considerável na sua variabilidade genética. O tomate é uma das espécies mais cultivadas em todo o mundo e apresenta diferentes segmentos para atender as mais diversas demandas do mercado (MELO, 1989; SILVA *et al.*, 2000). É uma solanácea herbácea, com caule flexível, piloso quando a planta é jovem e que se torna fibroso com o passar do tempo. A arquitetura natural da planta lembra uma moita, com abundante ramificação lateral, sendo profundamente modificada pela poda (FILGUEIRA, 2000).

O tomateiro é uma planta perene, de porte arbustivo, sendo cultivada anualmente. A planta pode desenvolver-se de forma rasteira, semi-ereta ou ereta. Pode apresentar crescimento limitado nas variedades de crescimento determinado e ilimitado nas de crescimento indeterminado. As plantas se desenvolvem bem em amplo espectro de latitude, tipos de solo, temperaturas e métodos de cultivo. Temperaturas abaixo de 10 °C e acima de 34 °C, iluminação diurnas inferiores a 12 horas, drenagem deficiente e excesso de nitrogênio provocam sérios prejuízos à cultura (ALVARENGA, 2004).

Os tomates contêm cerca de 93 a 95% de água. Os 5 a 7% restantes, que formam a matéria seca, são constituídos principalmente de componentes estruturais insolúveis em álcool (fibra alimentar), açúcares e proporções menores de compostos inorgânicos, ácidos orgânicos, proteínas e lipídeos. Os teores de açúcares solúveis (frutose e glicose) correspondem a cerca de 50 a 65 % da matéria seca do fruto. A sacarose, um outro açúcar solúvel, quando presente nos tomates frescos, encontra-se em níveis baixos. O sabor e aroma são conferidos principalmente pela relação entre o açúcar e os ácidos, sendo que a acidez é resultante dos ácidos orgânicos, tendo como principais o ácido cítrico e o málico. Os componentes estruturais do fruto são basicamente os constituintes fibrosos e representam cerca de 20% da matéria seca (SILVA & GIORDANO, 2000).

As variedades de tomate de mesa são classificadas de acordo com o formato do fruto em dois grupos: oblongo, quando o diâmetro longitudinal é maior que o transversal, e redondo, quando o diâmetro longitudinal é menor ou igual ao transversal (BRASIL, 2002) (Tabela 1). A forma do tomate está relacionada ao grupo a que pertence a cultivar. Cultivares

do grupo Santa Cruz apresentam frutos de formato oblongo ou alongado e predominantemente bilocular, tolerando-se, todavia a presença de três lóculos e do grupo salada ou caqui que possuem formato redondo, globoso ou achatado são tipicamente pluriloculares (CAMARGO, 1992; FERREIRA *et al.*, 2004).

**Tabela 1:** Enquadramento por grupos de alguns cultivares mais comuns:

CULTIVAR	GRUPO	FORMATO	COR FINAL	DURABILIDADE
Momotaro	Caqui	Redondo	Rosado	Normal
Olympo	Caqui	Redondo	Rosado	Normal
Cereja	Cereja	Redondo	Vermelho ou Amarelo	Normal
Andréa	Italiano	Oblongo alongado	Vermelho	Normal
Colibri	Italiano	Oblongo alongado	Vermelho	Normal
Alambra	Saladete	Redondo	Vermelho	Longa vida
Bona	Saladete	Redondo	Vermelho	Longa vida
Carmem	Saladete	Redondo	Vermelho	Longa vida
Densus	Saladete	Redondo	Vermelho	Longa vida
Stylus	Saladete	Redondo	Vermelho	Longa vida
Fanny	Saladete	Redondo	Vermelho	Normal
Fanny Ty	Saladete	Redondo	Vermelho	Normal
Mandarin	Saladete	Redondo	Amarelo	Normal
Scala	Saladete	Redondo	Vermelho	Normal
Avansus	Santa Cruz	Oblongo	Vermelho	Longa vida
Débora	Santa Cruz	Oblongo	Vermelho	Normal
Kyndio	Santa Cruz	Oblongo	Vermelho	Normal
Santa Clara	Santa Cruz	Oblongo	Vermelho	Normal

Está relacionada a durabilidade do tomate depois de colhido, ou seja, a vida pós-colheita ou vida útil do produto em condições normais de conservação. Longa vida: esta é uma denominação utilizada para os tomates de cultivares que possuem uma vida pós-colheita mais prolongada, permanecendo firmes por um período maior de tempo. Normal: Os tomates que possuem esta característica tem menor vida útil, duram menos, mas, em geral, são mais saborosos que os tomates longa vida (LOPES, 1994).

Embora as vitaminas estejam presentes em pequenas quantidades no tomate, estas substâncias são importantes do ponto de vista nutricional. A vitamina C é um nutriente antioxidante que traz benefícios para o organismo humano (FETT, 2000; SILVA & GIORDANO, 2000; TOLONEN, 1995), e seu teor no tomate equivale a quase 50 e 75% do teor contido na laranja e no limão, respectivamente (BALBACH, 1992).

O licopeno, um carotenóide de cor vermelha que tem o tomate como a sua principal fonte, foi destacado recentemente também como uma potente vitamina antioxidante, protegendo o organismo contra alguns dos danos produzidos pelos radicais livres, e, reportado

como substância bioativa para o organismo humano, pois, tem sido associada em reduzir a incidência de certos tipos de câncer, particularmente o de próstata. O aquecimento ou cozimento, quando não em excesso, pode aumentar a biodisponibilidade do licopeno, por promover a ruptura das células e liberar o licopeno, favorecendo, assim, sua absorção para o organismo. O óleo, por solubilizar o licopeno, também pode potencializar o seu aproveitamento pelo organismo (FETT, 2000; TOLONEN, 1995).

O crescimento e a produção do tomateiro e de outras culturas de importância econômica dependem, além de outros fatores, de adequado suprimento de nutrientes pelo solo às plantas. Sendo assim, para se obter alta produção de frutos comercializáveis é necessário conhecer os seus requerimentos nutricionais. Levando-se em conta os processos fisiológicos das plantas, o N, comparado aos outros nutrientes, tem maior efeito sobre as taxas de crescimento e absorção de elementos, sendo, portanto, mais importante em termos de controle da nutrição ótima das culturas (HUETT & DETTMANN, 1988).

As exigências nutricionais do tomateiro podem ser supridas pela adição ao solo de fertilizante químico, de matéria orgânica ou de ambos. A produção de frutos é possível com a prática alternativa de fertilização do solo com matéria orgânica (RAHMAN *et al.*, 1997; HUNTER & TUIVAVALAGI, 1998) devido à alta concentração de N normalmente presente na mesma proporção (ATIYEH *et al.*, 2000). A disponibilidade de N para as plantas depende da taxa de mineralização da matéria orgânica, que vai depender da quantidade de N imobilizado e disponível, da temperatura, da umidade, do pH e da aeração do solo, das perdas do N por lixiviação e da relação carbono-nitrogênio do material. Foi constatado que valores mais altos de produtividade são obtidos quando se adiciona N mineral à matéria orgânica (SALEK *et al.*, 1981; FRANCIS & COOPER, 1998).

O tomateiro, devido à sua importância econômica, é explorado em ampla faixa de condições climáticas. No entanto, para que os rendimentos sejam ótimos, esta cultura tem requerimentos específicos. Na região Sudeste em altitudes em torno de 600 m, as melhores produções são obtidas em épocas de precipitação e temperatura baixas, normalmente no período de outono-primavera. A chamada "época não ótima" caracteriza-se por elevadas temperaturas, altas umidade relativa, radiação solar e precipitação pluviométrica. Estas condições são consideradas adversas ao cultivo do tomateiro por favorecer o desenvolvimento de pragas e doenças, acelerar os processos de respiração, floração e formação dos frutos (SAM & IGLESIAS, 1994), causar desenvolvimento vegetativo reduzido, aumentar a taxa de abortos florais e produzir frutos de baixa qualidade, diminuindo, desta forma, os rendimentos econômicos (DOMINÍ *et al.*, 1993).

A cultura do tomateiro, dentre as hortaliças, representa uma das mais importantes e expressivas culturas no cenário agrícola mundial. O tomate é a segunda hortaliça mais importante do Brasil, perdendo apenas para a batata. Contudo sua condução é difícil, por ser muito susceptível a pragas e doenças e exigir vários tratamentos culturais, causando assim um risco econômico elevado e é uma das hortaliças mais exigentes em nutrientes Alvarenga, 2000 e uma das mais intensamente adubadas em todo o mundo (SILVA & VIZZOTO, 1989). O uso de produtos químicos torna-se massivo (SOUZA, 1998).

Quantidades demasiadas de adubos têm resultado em perdas de produção devido a desequilíbrios e distúrbios nutricionais, que afetam sensivelmente a produtividade e a qualidade comercial dos frutos. O aparecimento dessas dificuldades levou à busca de novas alternativas para o cultivo de espécies que exigem tratamentos culturais intensivos como o tomateiro (WARD, 1967). É inegável a preocupação crescente com o meio ambiente. Observa-se a retomada do crescimento da agricultura orgânica, que visa diminuir os efeitos adversos do uso de produtos químicos no ecossistema, por meio de métodos alternativos de controle de pragas e doenças, preservação das propriedades do solo, manejo de plantas daninhas, cobertura morta, adubação verde e rotação de cultura, entre outros (SOUZA *et al.*, 1995). O fato de ser o tomate uma hortaliça muito consumida “in natura”, principalmente em saladas, e a preocupação com a saúde dos consumidores devido à possibilidade de resíduos de defensivos, vem causando um aumento na procura pelo tomate orgânico, produzido sem agrotóxicos e geralmente certificado pelos órgãos como o Instituto Biodinâmico (IBD) (BRASIL, 1999; PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA, 2003).

Aumentar a produtividade, melhorar a qualidade dos frutos e racionalizar o emprego de agrotóxicos têm sido objeto da maioria das pesquisas científicas desenvolvidas com a cultura do tomate, especialmente o de mesa. Nagai (1989) considera como estratégia de longo prazo a necessidade de redirecionamento dos programas de melhoramento genético no sentido de resgatar a rusticidade e incorporar resistências a pragas e doenças perdidas ao longo do tempo. Silva (1994), por outro lado propõe a adoção de soluções mais imediatas, como é o caso de práticas culturais que permitam a melhoria das condições fitossanitárias e a obtenção de ganhos quantitativos e qualitativos na produção.

#### ***2.5.2.2 Importância econômica do tomateiro***

Dentre as olerícolas mais importantes em todo o mundo destaca-se o tomate. Todos os povos consomem tomate tanto “in natura” como industrializado. Ao natural é consumido em

saladas e, ainda, em molhos e temperos. Quando industrializado é empregado como matéria-prima para obtenção de extrato, purê, suco, *catchup* e fruto depelado. Hoje, o Brasil situa-se entre os maiores produtores mundiais, ao lado de Estados Unidos e Itália. A produção brasileira hoje é cerca de 3.347.650 toneladas com uma área cultivada de 56.986 hectares (AGRIANUAL, 2008). O estado de São Paulo contribui com cerca de 40% desta produção. A produção paulista abastece também os mercados do Rio de Janeiro, da região Norte e Nordeste do país.

O mercado brasileiro de tomate pode ser dividido em produto para indústria e para mesa. Dentre estes, o segmento tomate de mesa com média de produção em torno de 45 t.ha<sup>-1</sup>, área plantada de 58 mil hectares e produção anual de aproximadamente 3.445.000 toneladas (AGRIANUAL, 2003), possui alto interesse comercial. Neste segmento a chave do sucesso é a qualidade do fruto (tamanho, formato, cor, sabor) e a capacidade do tomaticultor colocar sua produção em momentos oportunos no mercado, visto que os preços são bastante influenciados pelo fator sazonalidade. Muitos países com outros sistemas de cultivo atingem produtividades superiores à brasileira (AGRIANUAL, 2003).

A obtenção de tomates diferenciados, em termos de tamanho, cor, vida de prateleira, formato, firmeza, textura, teor de matéria seca, propriedades organolépticas, como sabor e nutricionais são importantes objetivos perseguidos pelos tomaticultores (DORAIS *et al.*, 2001). No entanto, para que seja possível a obtenção destes quesitos de qualidade, se faz necessária à adoção por parte dos produtores, de técnicas de manejo da planta, mais adequadas.

O aumento na produtividade, com a melhoria ou a não alteração de sabor dos frutos de tomate, por meio da aplicação de tratamentos diferenciados nos campos de cultivo, pode representar aumento na lucratividade do produto (TANAKA; FUJITA, 1974). As estatísticas incluem o Brasil entre os dez maiores produtores de tomate do mundo. Em 2005, de acordo com dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO) (2006), foram plantados no país 58,4 mil hectares, para uma produção total de mais de 3,3 milhões de toneladas. Desse total dois milhões de toneladas, ou cerca de 62% da produção destinam-se para consumo “in natura”, sendo o restante utilizado para o processamento da polpa. Os principais estados brasileiros responsáveis por essa produção são Goiás, São Paulo e Minas Gerais. A produção em São Paulo tem característica semelhante a do mercado brasileiro como um todo, sendo a maior parte da produção (68%) destinada ao consumo “in natura”.

Não existem números oficiais sobre o volume da produção de tomates orgânicos no Brasil. Sabe-se, porém que o valor da demanda mundial por produtos orgânicos é da ordem de US\$ 30 bilhões ao ano. No Brasil, o mercado de orgânicos tem crescido 50% por ano, contra 15% no resto do mundo. Um levantamento do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) junto a empresas certificadoras, em fins de 2003, constatou que existiam no Brasil 31 mil produtores orgânicos, num total de 2,2 milhões de hectares orgânicos ou em conversão. Este número é sete vezes maior que o encontrado em levantamento idêntico realizado em fins de 2001. Ainda, conforme este levantamento, cerca de 70% da agricultura orgânica brasileira está ligada à agricultura familiar. Dados do Ministério da Agricultura revelam que 2% do mercado de hortifrutigranjeiros no Brasil é de produtos orgânicos. O Rio de Janeiro é um dos principais mercados do País para os produtos livres de agrotóxicos e outras substâncias químicas. Dos R\$ 300 milhões que o segmento movimenta no Brasil, R\$ 100 milhões concentram-se no estado do Rio de Janeiro (PANORAMA BRASIL /DCI - 24/02/03).

#### **2.5.2.3 Tomate tipo Cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill)**

Para efeito de identificação, o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) foi classificado em grupos, sendo atualmente considerados seis grupos: Santa Cruz, Industrial, Salada, Saladinha, Saladete e Cereja (ALVARENGA, 2000). Segundo Azevedo Filho & Melo (2001), o tomateiro do tipo cereja foi introduzido no Brasil por meio das fezes de pássaros migratórios e pelos imigrantes italianos que chegaram ao país no final do século XIX. As plantas são de crescimento indeterminado com número de frutos/penca variando de 15 a 50, de forma redonda ou comprida, pesando entre 10 e 30 gramas, de coloração vermelho-brilhante (DIEZ NICLOS, 1995; FILGUEIRA, 2000; POSTALI *et al.*, 2004). Este tipo de tomate tem mercado diferenciado e melhores preços e, ultimamente, tem sido usado para ornamentação de pratos e *couvert* (ALVARENGA, 2000). O tomateiro do grupo cereja, caracterizado pela produção de frutos pequenos, difere completamente dos objetivos da produção dos demais grupos onde se preconiza frutos graúdos como característica desejável (SILVA *et al.*, 1997).

Tomateiros silvestres do tipo cereja apresentam crescimento espontâneo em qualquer tipo de solo e condições climáticas e têm as sementes disseminadas via fezes de pássaros (AZEVEDO FILHO & MELO, 2001). Provavelmente, devido a esta espontaneidade e ao não uso de agrotóxicos, as plantas sofreram ao longo dos anos uma pressão de seleção natural para

rusticidade e tolerância às principais pragas e doenças. Tais características têm sido aproveitadas por produtores orgânicos no plantio comercial desta espécie (AZEVEDO FILHO & MELO, 2001). As plantas são vigorosas, de vegetação abundante, agressiva e apresentam frutos de coloração vermelha-intensa, com formas bem definidas e contrastantes, redondo ou comprido (POSTALI *et al.*, 2004).

As espécies silvestres contribuíram para o desenvolvimento de cultivares mais resistentes a pragas e a doenças. Da espécie andina, silvestre, - *Solanum Lycopersicon* var. *cerasiforme*, que produz frutos tipo “cereja”, originou-se a espécie cosmopolita – *S. Lycopersicon* Mill (FILGUEIRA, 2000). Desde a sua domesticação no México, até sua aceitação e cultivo na Europa e Estados Unidos em meados do século XIX, o tomateiro vem sofrendo seleções, com conseqüente melhoria na qualidade dos frutos. Após sua introdução no Brasil, supostamente pela imigração européia, iniciaram-se também as atividades de melhoramento.

O tomate do tipo cereja é considerado como uma hortaliça exótica, incorporada em cardápios de restaurantes por serem pequenos e delicados, trazendo novos sabores e enfeites aos pratos e aperitivos, com vantagem de ter tamanho reduzido evitando desperdício (MACHADO *et al.*, 2003).

#### **2.5.2.4 Tomate Santa Cruz Kada Gigante**

O tomateiro da variedade Santa Cruz é uma planta de hábito de crescimento indeterminado e a haste principal ultrapassa dois metros de altura em culturas tutoradas e podadas, conduzidas no campo. Não é um tomate indicado para cultivo em estufa, em razão da sua alta rusticidade e menor cotação comercial em relação ao do grupo salada ou caqui (FILGUEIRA, 2003).

A forma do tomate está relacionada ao grupo a que pertence a cultivar. As cultivares do grupo Santa Cruz são biloculares ou três lóculos, com frutos de formato oblongo, ovalado, arredondado, redondo-alongado e quadrado são identificadas pelo diâmetro longitudinal (BRASIL, 1995; MARTINS; CASTRO, 1997a,b; SILVA; GIORDANO, 2000; BRASIL, 2002; FILGUEIRA, 2003), pesam de 70 a 200 g (EMBRAPA, 1993; FILGUEIRA, 2003) com uma média de 130 a 140 g de peso (FONTES; SILVA, 2002) .

O cultivo das diferentes variedades está associado às diversas regiões produtoras do Brasil, sendo que o nome relaciona-se a região e/ou empresa criadora da cultivar. Por exemplo, a cultivar Santa Cruz é resultado do cruzamento natural entre as cultivares *Rei*

*Umberto e Chacareiro* (redondo Japonês), ocorrido em Suzano - São Paulo (SP), entre 1935 e 1940 por um tomaticultor. Em 1940, formou-se a organização da colônia nipônica de Santa Cruz no Rio de Janeiro, onde a nova cultivar passou a ser propagada em larga escala e a denominar-se de Santa Cruz (FILGUEIRA, 2003). Uma das razões da predominância da cultivar se deve à resistência dos frutos ao manuseio, embalagem (caixa tipo *k*), transporte (FILGUEIRA, 2003), menor tamanho dos frutos e cultura mais fácil em relação a outras variedades. Mais tarde, a partir de cruzamentos sucessivos, a variedade Santa Cruz acabou dando origem a diversos cultivares que receberam diferentes nomes conforme as regiões em que foram produzidas. No grupo Santa Cruz são encontradas, entre outras, as cultivares *Santa Clara* - a mais difundida no País (ARAGÃO *et al.*, 2002; FILGUEIRA, 2003), *Ângela hiper*, *Ângela super*, *Ângela gigante*, *Kada* e *Jumbo* (CAMARGO, 1992; AMARAL JÚNIOR *et al.*, 1997; MARTINS; CASTRO, 1997a,b; SEAGRI, 2002; FONTES; SILVA, 2002). Há uma década, os produtores passaram da utilização do grupo *Santa Cruz* cv. *Ângela*, para a cv. *Santa Clara* (ANDREUCETTI *et al.*, 2003a), criada em Campinas - SP, que domina o mercado (FILGUEIRA, 2003). Dentro da tendência de segmentação do mercado, os híbridos Santa Cruz, vêm mantendo espaço garantido, pois assim como o tipo italiano, são produtos versáteis em termos de uso culinário, prestando-se não apenas para o consumo em salada, mas também para molhos caseiros, além de ser uma matéria-prima de boa qualidade para a fabricação de tomate seco.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a diversidade de bactérias endofíticas do gênero *Methylobacterium* e a sua capacidade de promover a germinação de sementes e o crescimento vegetal do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill).

### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Os objetivos específicos deste projeto são:

- avaliar a diversidade de *Methylobacterium* spp. por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA.
- avaliar a capacidade de isolados de *Methylobacterium* em solubilizar fosfato e fixar nitrogênio;
- avaliar o efeito de *Methylobacterium* spp. sobre a germinação de sementes de Tomate Cereja Samambaia e Tomate Santa Cruz Kada Gigante (*L. esculentum* Mill);
- avaliar o efeito de *Methylobacterium* spp. sobre o crescimento de plântulas de Tomate Cereja Samambaia e Tomate Santa Cruz Kada Gigante (*L. esculentum* Mill);
- avaliar o crescimento inicial de mudas de tomateiro em condições de casa de vegetação bem como selecionar isolados de *Methylobacterium* como promotores de crescimento.

## 4 MÉTODO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA E DAS PLANTAS HOSPEDEIRAS

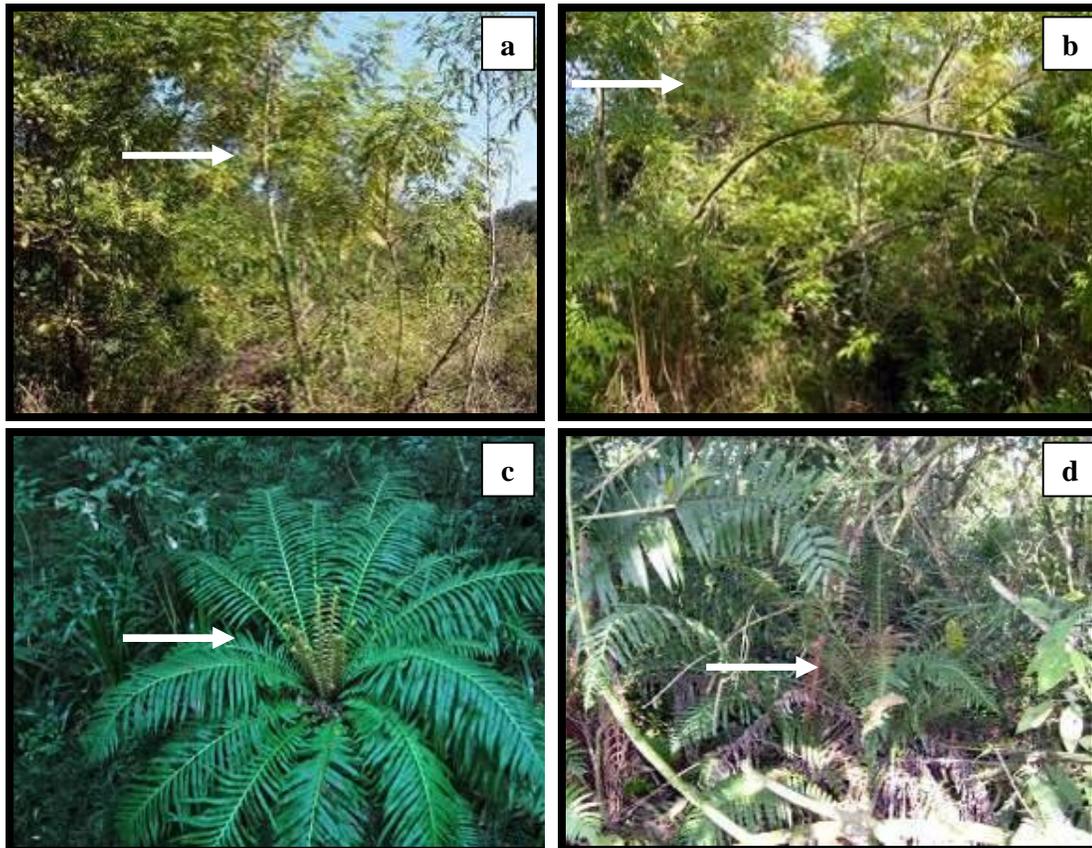
O local de onde *Methylobacterium* spp. foi isolada está situado no Parque Nagib Najjar (W46°13'3" S23°31'21"), na cidade de Mogi das Cruzes, SP ao sul da Serra do Itapety e às margens do Rio Tietê, próximo ao bairro Vila Industrial (Figura 1), com área de 484.408 m<sup>2</sup> e inserido nos limites urbanos a 1,8 Km do centro da cidade.



**Figura 1:** Parque Nagib Najjar destacado em laranja e com Serra do Itapety ao fundo (GOOGLE EARTH).

Dois exemplares vegetais foram coletados presentes em toda a área, *Tecoma stans* e *Blechnum brasiliense* (Figura 2). A primeira coleta foi realizada em abril de 2007 e a segunda em maio de 2008, em cada ponto da área foram coletadas três representantes de cada espécie. A coleta abrangeu uma boa parte do caule de plantas jovens e sadias. Os caules das plantas hospedeiras continham aproximadamente 1,5 cm de diâmetro. O material foi guardado em sacos plásticos devidamente identificados com o número da amostra e o ponto de onde foram

retirados, em seguida transportados para o Laboratório de Biologia Molecular e Ecologia Microbiana (NIB, Universidade de Mogi das Cruzes) e processadas em até 48 horas.



**Figura 2:** Pontos de coleta dos exemplares vegetais. Observar em **a** e **b** aspectos de uma planta *Tecoma stans* e em **c** e **d** aspectos de uma planta *Blechnum brasiliense* cultivadas no Parque Nagib Najjar na cidade de Mogi das Cruzes, SP.

## 4.2 ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS

### 4.2.1. Desinfecção superficial

Para isolamento da comunidade bacteriana endofítica, as amostras vegetais foram lavadas cuidadosamente em água corrente e desinfetadas superficialmente por meio do tratamento em álcool 70% (1min.), hipoclorito de sódio 2% (3 min.), álcool 70 % (30 seg.) e dois enxagues em água esterilizada.

#### 4.2.2. Isolamento

Após desinfecção superficial, 1,2 g de tecido vegetal do caule foi macerado em 3 mL de tampão PBS e agitado vigorosamente. Alíquotas apropriadas foram semeadas sobre meio TSA 5% suplementado com fungicida Benomyl ( $50 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), e incubadas a  $28^\circ\text{C}$  por 2 a 15 dias. Após crescimento bacteriano, as colônias foram contadas e a densidade bacteriana foi estimada em UFC.g tecido vegetal<sup>-1</sup>. Isolados representativos da diversidade bacteriana foram coletados de forma aleatória, identificados morfológicamente por meio da coloração, tamanho e taxa de crescimento e posteriormente armazenados em frascos contendo meio TSA 5%.

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DAS BACTÉRIAS

As bactérias foram crescidas em 5 mL de meio TSB 5% por 24 horas a 150 rpm, e 2 mL da cultura foram centrifugados e lavados em 500  $\mu\text{L}$  tampão TE (1M de Tris-HCl pH 8 e 10M de EDTA). Posteriormente, as células foram ressuspendidas em 500  $\mu\text{L}$  tampão TE, e adicionados 30  $\mu\text{L}$  de SDS 10% e pérolas de vidro (0,1mm, Sigma). As células foram rompidas por meio de agitação em homogeneizador de células (mini *bead beater*, Biospect) e em seguida, foi adicionado 1 volume de fenol, homogeneizado por inversão e centrifugado a 14000 X g por 5min. O sobrenadante foi coletado, acrescido um volume de clorofane (fenol 1:1 Clorofórmio) e centrifugado novamente a 14000 X g por 5min. O sobrenadante foi novamente coletado e adicionado um volume de clorofórmio e novamente centrifugado a 14000 X g por 5 min. Por fim, a fase aquosa foi coletada, adicionado 0,6 volumes de isopropanol e 20  $\mu\text{L}$  de cloreto de sódio 5 M, incubado a temperatura ambiente por 5min. A suspensão foi centrifugada a 14000 X g por 5 min, o sobrenadante foi descartado, e o DNA lavado com etanol 70% gelado e secado a  $37^\circ\text{C}$  por 40 minutos. A qualidade e quantidade do DNA foram avaliadas em gel de agarose (1%).

A técnica de PCR foi utilizada para amplificação do 16s do rDNA. Para realização da técnica foram utilizados os primers R1387 (5'-CGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG-3') e P027F (5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3'), os quais são específicos para o domínio Bactéria. A PCR foi realizada em um volume final de 50  $\mu\text{L}$  contendo tampão da enzima 1 X, 3,75 mM de  $\text{MgCl}_2$ , 0,2 mM de cada dNTPs, 0,2  $\mu\text{M}$  de cada primer, 0,1U/ $\mu\text{L}$  de Taq DNA Polimerase. A reação da amplificação foi realizada em termociclador, programado para realizar uma desnaturação inicial a  $94^\circ\text{C}$  por 4 minutos, 35 ciclos de desnaturação a  $94^\circ\text{C}$  por

30 segundos, anelamento a 62,5°C por 1 minuto e extensão de primers 72°C por 1 minuto, seguida de extensão final a 72°C por 10 minutos. Após a amplificação, 5µL da reação de PCR foram avaliados por eletroforese em gel de agarose (1%).

As amostras purificadas foram seqüenciadas no Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional (NIB/UMC) sob responsabilidade da Prof<sup>a</sup>. Dra. Regina L. C. B. de Oliveira. Para a identificação dos isolados bacterianos, as seqüências foram analisadas comparativamente via BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) contra a base de dados do GenBank, que utiliza o método heurístico para encontrar o melhor *score* de alinhamentos locais entre a seqüência submetida e o banco de dados. Dessa forma foram consideradas as seqüências que apresentarem os maiores valores de similaridade.

#### **4.4 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO**

Três placas com cada bactéria foram crescidas por 48 h a 28°C em meio de cultura solidificado com adição de fosfato inorgânico [Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>], de acordo com Verma; Ladha; Tripathi (2001) e Rodriguez; Fraga (1999). A formação de um halo transparente, em torno da colônia, indicou solubilização de fosfato pela bactéria (NAUTIYAL, 1999).

O experimento de solubilização de fosfato (diâmetro do halo em cm) foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com os isolados bacterianos e uma testemunha, com três repetições.

#### **4.5 FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO**

O teste de fixação de nitrogênio foi feito usando o meio NFb (DÖBEREINER *et al.*, 1995). As amostras foram inoculadas no meio de cultura e incubadas a 28°C por 10 dias. O resultado foi considerado positivo quando um halo claro na mediana do meio de cultura foi observado. Foram realizadas três repetições para cada isolado bacteriano.

#### **4.6 SELEÇÃO DAS BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS**

Cento e cinquenta e um isolados de bactérias endofíticas, foram isolados do caule das duas espécies de planta presentes na área amostrada *T. stans* e *B. brasiliense*. Para a

microbiolização de sementes de tomateiros Cereja Samambaia e Santa Cruz Kada Gigante, foi possível selecionar bactérias endofíticas pigmentadas (coloração rósea) do possível gênero *Methylobacterium*, sendo este, que as bactérias em associação endofítica a espécies vegetais tem interesse agrícola.

As colônias bacterianas crescidas a partir dos tecidos vegetais foram identificadas de acordo com características macroscópicas, tais como forma, borda, superfície, textura, consistência e a coloração representativa do gênero *Methylobacterium*.

Quarenta e sete isolados pigmentados (coloração rósea) do possível gênero *Methylobacterium* foram testados na primeira seleção massal em dois ensaios conduzidos em semeadura com papel filtro embebido com água destilada autoclavada e armazenadas em placa de Petri. Na segunda seleção massal, os 27 melhores isolados foram testados novamente em um único ensaio. Tanto na primeira, como na segunda seleção massal, as avaliações foram realizadas aos 3 e 6 dias após a inoculação da bactéria desafiante.

#### **4.7 INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS EM SEMENTES**

Foram utilizadas 27 bactérias endofíticas pigmentadas. Os isolados bacterianos foram estocados em meio “Trypcase Soy Broth Agar” (TSBA) 5% a 4°C. Para a produção de culturas novas, os isolados foram repicados em TSBA 5% durante experimentos.

Para avaliação dos efeitos de *Methylobacterium* spp. o ensaio foi conduzido com sementes de Tomate Cereja Samambaia e Tomate Santa Cruz Kada Gigante (*L. esculentum* Mill). Vinte e sete isolados bacterianos foram selecionados para serem inoculados nas sementes, para verificar o potencial de promoção de crescimento. Dos 27 isolados, 13 foram selecionados por apresentarem alguma interferência no processo de germinação e crescimento das sementes e plântulas de Tomate Cereja Samambaia e 14 foram selecionados por apresentarem alguma interferência no processo de germinação e crescimento das sementes e plântulas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante, sendo observado em alguns isolados a sua inoculação para ambos os tomateiros. Para os testes realizados no processo de promoção de crescimento com as sementes de Tomate, foi preparado um meio de cultura líquido Tryptona Broth Soy, MERCK (TSB), 100% onde as bactérias foram inoculadas e crescidas em Shaker a 28°C, 150 rpm por 72 horas. As sementes sem assepsia prévia foram embebidas em solução tampão PBS com diluição em série 10<sup>-1</sup> (4,5 mL de PBS para cada 0,5 mL de TSB 100% com bactérias crescidas) por 60

minutos. Em seguida as sementes foram colocadas para germinarem em papel filtro embebido com água destilada autoclavada e armazenadas em placa de Petri.

Os experimentos foram conduzidos em blocos inteiramente casualizados, com 27 tratamentos e 5 repetições. Cada repetição foi composta de 10 sementes. Após 3 dias de semeadura foi realizada a contagem do número de plântulas emergidas para calcular o índice de emergência de cada tratamento. Após 6 dias da semeadura, foi realizada outra observação para avaliar a influência das bactérias no desenvolvimento das plântulas. Os parâmetros avaliados foram: emergência, altura das plântulas e sistema radicular.

Num segundo experimento, realizou-se um teste semelhante ao anterior, com relação às condições de germinação das sementes, inoculação das bactérias e manutenção das plantas em casa de vegetação, para selecionar eventuais bactérias pigmentadas do possível gênero *Methylobacterium* como promotoras do crescimento de plantas de tomateiro. Utilizou-se sementes de duas variedades de Tomateiro plantadas e cultivadas em bandejas de produção de mudas (poliestireno expandido, com 128 células, na profundidade de 0,5 cm) em “Plantmax<sup>®</sup>” sistema empregado pelos produtores. “Plantmax<sup>®</sup>” segundo o fabricante constitui-se de mistura de matéria orgânica de origem vegetal e vermiculita expandida, húmus de minhoca (resíduo de esterco bovino, obtido por processo de digestão das minhocas), pó de coco, resíduo orgânico (derivado do mesocarpo fibroso do coco) e cascas de *Pinus*, mantido sem esterilização.

Cada parcela consistiu de duas sementes em células contíguas, separadas das outras por células vazias da bandeja, com três parcelas para cada tratamento e submetidas à irrigação manual com início logo após a semeadura, uma aplicação diária. Os tratamentos consistiram na inoculação de quatro isolados: A07, A13, A15 e C2 para Tomate Cereja Samambaia e quatro isolados: A74, A76, B61 e C2 para Tomate Santa Cruz Kada Gigante, foram selecionados por apresentarem alguma interferência no processo de germinação e crescimento das sementes no experimento conduzido inicialmente em papel filtro embebido com água destilada autoclavada e armazenadas em placa de Petri. A testemunha sem inoculação recebeu o mesmo volume de meio de cultura “Plantmax<sup>®</sup>”. A inoculação foi repetida duas vezes e o desbaste foi realizado aos vinte dias após a semeadura, deixando-se uma plântula por célula. No vigésimo primeiro dia depois, quando tinham cerca de 5 cm de altura, foram transferidas para copos plásticos com substrato “Plantmax<sup>®</sup>”, com cinco repetições por tratamento, depois avaliou-se emergência, altura das plântulas e sistema radicular.

Após 20 dias de semeadura foi realizada a contagem do número de plântulas emergidas para calcular o índice de emergência de cada tratamento. Após 30 dias da semeadura, foi realizada outra observação para avaliar a influência das bactérias no desenvolvimento das plântulas.

Colheram-se as plantas 30 dias após a inoculação, sendo determinada a altura total (parte aérea e raiz) das plantas, altura das raízes, contagem do número de folhas e sua massa de matéria fresca. Colheu-se primeiramente a parte aérea das plantas; para a colheita das raízes, um jato com grande volume de água foi aplicado sobre o substrato onde cresciam, de maneira a retirar o substrato e manter as raízes na forma mais preservada possível.

#### **4.8 CONFIRMAÇÃO DA COLONIZAÇÃO DE PLÂNTULAS POR *Methylobacterium* spp.**

Para a verificação da eficiência do processo de inoculação das bactérias endofíticas pigmentados em plântulas foram retiradas amostras de raízes cortadas em pequenos pedaços, cinco dos quais, foram distribuídos em placas de Petri com meio TSBA 5%. As placas foram incubadas por 72 horas a 28°C e avaliadas. As colônias bacterianas crescidas foram identificadas de acordo com características macroscópicas representativa do gênero *Methylobacterium*.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 RIQUEZA DE ESPÉCIES BACTERIANAS ASSOCIADA À *T. stans* e *B. brasiliense*

Foram analisados 151 isolados de bactérias endofíticas obtidas de *T. stans* e *B. brasiliense* por meio do sequenciamento do fragmento 968-1401 do 16S rDNA. Esta análise mostrou que esta comunidade bacteriana cultivável é composta de pelo menos 24 gêneros entre estes, foi observado que os gêneros *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Methylobacterium*, *Rhizobium* e *Stenotrophomonas* são os grupos dominantes nas comunidades avaliadas (Tabela 2).

Alguns gêneros, tais como *Hymenobacter*, *Lysobacter*, *Massilia*, *Pandoraea* e *Prochlorococcus* também foram observados, sendo este o primeiro relato destas bactérias em associação endofítica. Entretanto, a maior parte das espécies bacterianas observada pertence a gêneros comumente associados endofiticamente a espécies vegetais de interesse agrícola.

**Tabela 2:** Distribuição dos gêneros dos isolados de bactérias endofíticas de *Tecoma stans* e *Blechnum brasiliense*.

<b>Planta Hospedeira</b>	<b>Gênero</b>	<b>Identificação</b>
<i>Tecoma stans</i>	<i>Ancylobacter</i>	<i>Ancylobacter</i> sp.
<i>Tecoma stans</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Agrobacterium</i> sp.
<i>Blechnum brasiliense</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus anthracis</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Bacillus aquimaris</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Bacillus cereus</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Bacillus mojavensis</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Bacillus pumilus</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Bacillus</i> sp.
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Bacillus thuringiensis</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Bacillus vallismortis</i>
<i>Tecoma stans</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter</i> sp.
<i>Tecoma stans</i>	<i>Curtobacterium</i>	<i>Curtobacterium ammoniigenes</i>
<i>Tecoma stans</i>		<i>Curtobacterium citreum</i>
<i>Tecoma stans</i>		<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
<i>Tecoma stans</i>		<i>Curtobacterium</i> sp.
<i>Tecoma stans</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter</i> sp.
<i>Tecoma stans</i>	<i>Geodermatophilus</i>	<i>Geodermatophilus</i> sp.
<i>Tecoma stans</i>	<i>Hymenobacter</i>	<i>Hymenobacter xinjiangensis</i>
<i>B. brasiliense</i> <i>T.stans</i>	<i>Lysobacter</i>	<i>Lysobacter gummosus</i>

<b>Planta Hospedeira</b>	<b>Gênero</b>	<b>Identificação</b>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Lysobacter</i> sp.
<i>Blechnum brasiliense</i>	<i>Massilia</i>	<i>Massilia</i> sp.
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Methylobacterium</i>	<i>Methylobacterium aerolatum</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Methylobacterium aquaticum</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Methylobacterium fujisawaense</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Methylobacterium lusitanum</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Methylobacterium oryzae</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Methylobacterium radiotolerans</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Methylobacterium</i> sp.
<i>Blechnum brasiliense</i>	<i>Microbacterium</i>	<i>Microbacterium hydrocarbonoxyda</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Microbacterium paraoxydans</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Microbacterium</i> sp.
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Microbacterium testaceum</i>
<i>Blechnum brasiliense</i>	<i>Pandoraea</i>	<i>Pandoraea</i> sp.
<i>Blechnum brasiliense</i>		<i>Pandoraea sputorum</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Plantibacter</i>	<i>Plantibacter</i> sp.
<i>Blechnum brasiliense</i>	<i>Prochlorococcus</i>	<i>Prochlorococcus marinus</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas alcaliphila</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Pseudomonas argentinensis</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Pseudoxanthomonas</i>	<i>Pseudoxanthomonas mexicana</i>
<i>Tecoma stans</i>	<i>Rhizobium</i>	<i>Rhizobium larrymoorei</i>
<i>Tecoma stans</i>		<i>Rhizobium radiobacter</i>
<i>Tecoma stans</i>		<i>Rhizobium rhizogenes</i>
<i>Tecoma stans</i>		<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Tecoma stans</i>		<i>Rhizobium tropici</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Rhodococcus rhodnii</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Sphingomonas</i>	<i>Sphingomonas</i> sp.
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Stenotrophomonas koreensis</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Stenotrophomonas nitritireducens</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Stenotrophomonas</i> sp.
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Streptosporangium</i>	<i>Streptosporangium fragile</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Variovorax</i>	<i>Variovorax</i> sp.
<i>B. brasiliense T.stans</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Xanthomonas axonopodis</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Xanthomonas gardneri</i>
<i>B. brasiliense T.stans</i>		<i>Xanthomonas</i> sp.

## **5.2 DIVERSIDADE BACTERIANA ASSOCIADA AO GÊNERO *Methylobacterium*.**

Foi observado por meio do sequenciamento parcial do 16S rDNA que a comunidade bacteriana endofítica do gênero *Methylobacterium* é composta por bactérias de pelo menos 6

espécies, sendo elas: *Methylobacterium aerolatum*, *Methylobacterium aquaticum*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Methylobacterium lusitanum*, *Methylobacterium oryzae* e *Methylobacterium radiotolerans*

As análises moleculares foram submetidas ao programa BLASTn ("Basic Local Alignment Search Tool") para comparação com sequências homólogas depositadas no banco de dados público mundial GenBank (National Center for Biotechnology Information – NCBI) (Tabela 3).

**Tabela 3:** Resultados dos testes com isolados bacterianos endofíticos: identificação, planta hospedeira, efeito na promoção de crescimento, solubilização de fosfato, fixação de nitrogênio e resultado da análise no Gen Bank.

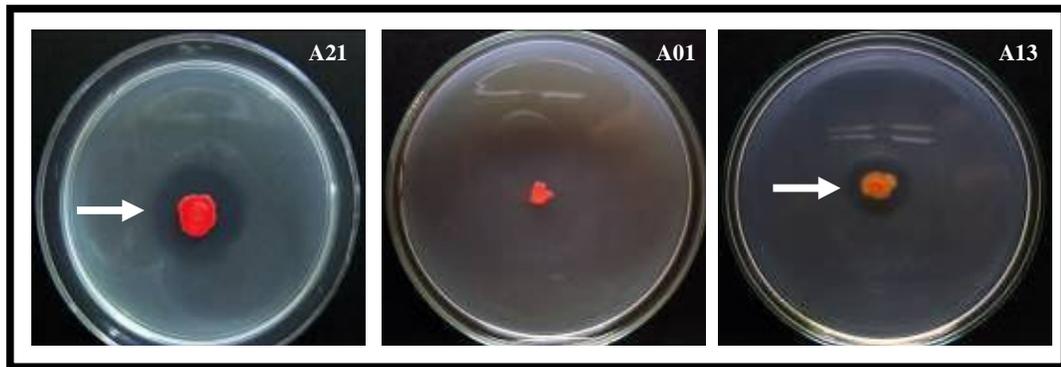
Isolado	Identificação	Planta Hospedeira	Germinação das Sementes	Solubilização P	Fixação N <sub>2</sub>
A01	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Tecoma stans</i>	C▲ S▼	-	-
A02	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Tecoma stans</i>	C▲ S▼	+	-
A07	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Tecoma stans</i>	*C▲ S▲	+	-
A09	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Tecoma stans</i>	C▲ S▼	+	-
A10	<i>Methylobacterium aerolatum</i>	<i>Tecoma stans</i>	C▲ S▼	-	+
A13	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Tecoma stans</i>	*C▲ S▲	+	+
A14A	<i>Rhizobium tropici</i>	<i>Tecoma stans</i>	C▼ S▲	+	-
A15	<i>Rhodococcus rhodnii</i>	<i>Tecoma stans</i>	*C▼ S▲	-	-
A16	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Tecoma stans</i>	C▲ S▲	-	+
A17	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Tecoma stans</i>	C▲ S▲	+	-
A20	<i>Rhodococcus</i> sp.	<i>Tecoma stans</i>	C▼ S▼	+	+
A21	<i>Methylobacterium fujisawaense</i>	<i>Tecoma stans</i>	C▲ S▲	+	+
A40	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Tecoma stans</i>	C► S▼	+	+
A50	<i>Hymenobacter xinjiangensis</i>	<i>Tecoma stans</i>	C▲ S▲	+	+
A55	<i>Methylobacterium aquaticum</i>	<i>Tecoma stans</i>	C▲ S▼	+	-
A58	<i>Prochlorococcus marinus</i>	<i>Blechnum brasiliense</i>	C► S▼	-	+
A59	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Blechnum brasiliense</i>	C▲ S▼	-	+
A74	<i>Prochlorococcus</i> sp.	<i>Blechnum brasiliense</i>	C▼ *S▼	+	-
A75	<i>Methylobacterium lusitanum</i>	<i>Blechnum brasiliense</i>	C▲ S▼	-	-
A76	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Blechnum brasiliense</i>	C▲ *S▲	+	-
B44	<i>Bacillus aquimaris</i>	<i>Blechnum brasiliense</i>	C▲ S▼	-	+
B61	<i>Methylobacterium</i> sp.	<i>Blechnum brasiliense</i>	C▲ *S▲	+	+
B62	<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Blechnum brasiliense</i>	C▲ S▲	+	+
B77	<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Blechnum brasiliense</i>	C► S▼	+	-
B81	<i>Methylobacterium oryzae</i>	<i>Blechnum brasiliense</i>	C▲ S▼	-	-
C2	<i>Methylobacterium radiotolerans</i>	<i>Blechnum brasiliense</i>	*C▲ *S▲	-	+
LGM86	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Blechnum brasiliense</i>	C▲ S▲	-	+

\* isolados bacterianos selecionados para o ensaio de promoção de crescimento de plantas de tomateiro em casa de vegetação \*C = Tomate Cereja Samambaia; \*S = Tomate Santa Cruz Kada Gigante; ▲ = aumento da taxa de germinação de sementes quando comparada grupo controle; ► = taxa de germinação sem alteração quando comparada ao grupo controle; ▼ = redução da taxa de germinação de sementes quando comparada ao grupo controle; + = Isolados solubilizadores de fosfato e fixadores de nitrogênio "in vitro"; - Isolados não solubilizadores de fosfato e não fixadores de nitrogênio "in vitro". As identificações foram obtidas pelo banco de dados genético *GenBank*.

### 5.3 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO

Apesar dos teores de fósforo (P) no solo serem relativamente elevados (400 a 1200 mg/Kg de solo), a concentração de P solúvel disponível para assimilação pelas raízes dos vegetais é muito baixa, normalmente 1 mg/Kg de solo ou menos (RAGHOTHAMA, 1999). Seu ciclo não possui intercâmbio com a atmosfera, sendo regido principalmente por microrganismos. As principais fontes de fosfato no solo são minerais primários, como as apatitas. Em segundo lugar vem a matéria orgânica presente no solo, que pode constituir 30 a 50 % do P do solo. Este P orgânico está principalmente na forma de fosfato-inositol (fitato), sintetizado por microrganismos e plantas. Mostrando assim a importância destes microrganismos na liberação de P para o crescimento vegetal. A co-inoculação de espécies solubilizadoras de P, fixadoras de nitrogênio e produtoras de auxinas pode favorecer o crescimento da planta hospedeira, tornando a nutrição vegetal mais equilibrada e reduzindo os custos de adubação. Entretanto, a aplicação no campo dos resultados obtidos no presente trabalho deverá ser o resultado de um amplo estudo dos efeitos destas bactérias sobre a planta hospedeira.

Os isolados bacterianos foram avaliados “in vitro” quanto à capacidade de solubilizar fosfato inorgânico (Figura 3). A presença de um halo em torno da colônia bacteriana indicou a capacidade da bactéria em solubilizar fosfato. Das 27 bactérias avaliadas, em 16 (59,2%) foi observada a presença do halo (Tabela 3), indicando que houve solubilização de fosfato orgânico. Os melhores índices de solubilização de fosfato foi observado para os isolados A07, A09, A20, A21, A50 e B62 com halo médio de 1,0 cm, e os menores índices foi observado nos isolados A02, A13, A14A, A17, A76 e B61 com halo médio de 0,5 cm. O fósforo desempenha na planta um papel estrutural e funcional, sendo imprescindível na transferência de energia, fundamental para o desenvolvimento da planta (GONÇALVES *et al.*, 2000). A solubilização de fosfato por bactérias é um mecanismo direto de promoção de crescimento de planta (RODRIGUEZ; FRAGA, 1999), sendo esta uma das medidas utilizadas para evitar a deficiência nutricional de fósforo em plantas. Diversos gêneros bacterianos têm sido descritos como solubilizadores de fosfato, entre eles *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* e *Erwinia* (RODRIGUEZ; FRAGA, 1999).



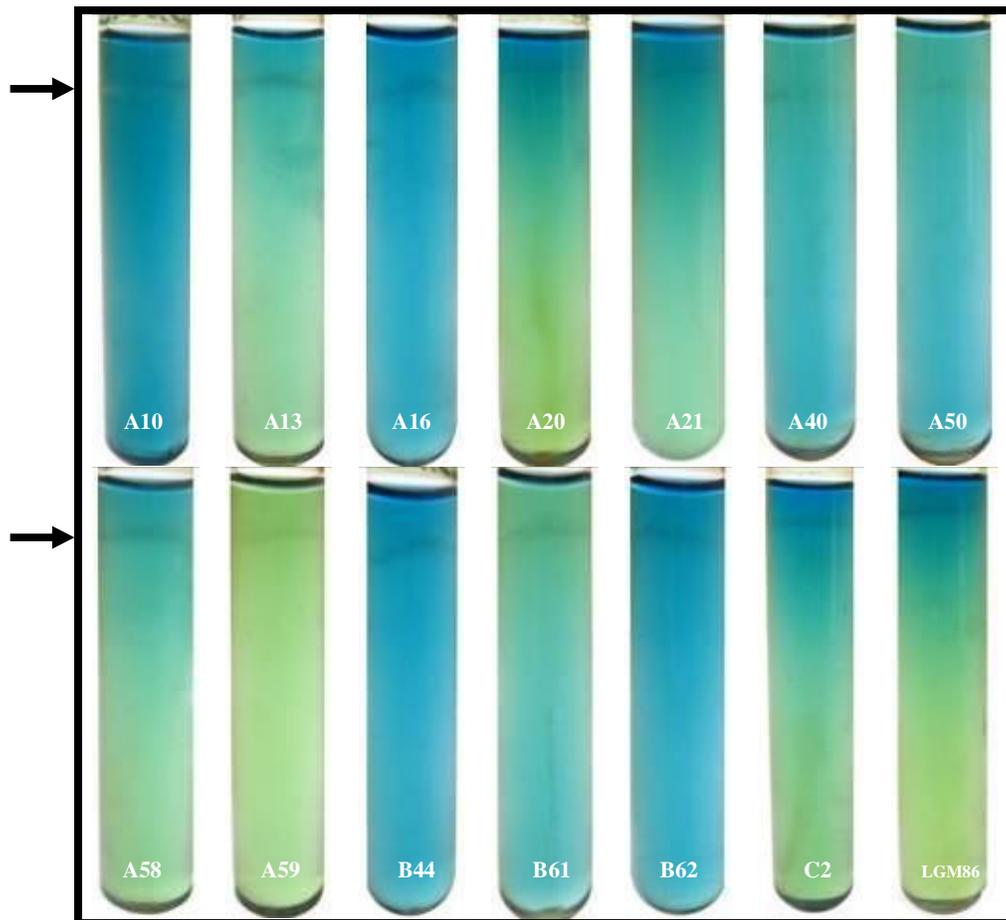
**Figura 3:** Solubilização de fosfato por bactérias endofíticas. Observar o isolado A01 não é capaz de solubilizar fosfato e o halo de solubilização (seta) para os isolados A21 e A13.

#### 5.4 FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS

O mecanismo de promoção de crescimento vegetal por bactérias endofíticas mais estudado é a fixação biológica de nitrogênio (FBN), e a transferência e/ou disponibilização deste nitrogênio assimilado para o metabolismo vegetal, sendo a associação de bactérias endofíticas com plantas leguminosas a mais estudada. Nestas associações, bactérias Gram-negativas dos gêneros *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* e *Mesorhizobium*, colonizam tecidos vegetais internos (raízes e por vezes o colmo) como simbioses, induzindo o desenvolvimento de estruturas de simbiose altamente especializadas denominadas de nódulos. Entretanto, outras bactérias como *Gluconoacetobacter diazotrophicus*, *Methylobacterium nodulans*, *Klebsiela oxytoca*, *Enterobacter* sp. e *Pantoea agglomerans* (ADACHI *et al.*, 2002; KUKLINSKY, 2004; SY *et al.*, 2001), apresentam a transferência de nitrogênio biologicamente fixado para plantas não leguminosas e estas depende de interações específicas entre os genótipos bacterianos e vegetal. Neste contexto, tem sido observada que a transferência de nitrogênio biologicamente fixado para plantas não leguminosas depende de interações específicas entre o genótipo bacteriano e o da planta hospedeira (JAMES, 2000).

A promoção de crescimento vegetal por microrganismos endofíticos ocorre tanto pela transferência de moléculas sintetizadas pela bactéria para a planta, como também pelo incremento na absorção ou aumento de disponibilidade de certos elementos nutricionais. Entretanto mais estudos devem ser realizados para avaliar o papel destas bactérias sobre o crescimento e estabelecimento de plantas destas variedades em condições de cultivo

comercial. No presente trabalho, os isolados endofíticos foram avaliados em meio de cultura NFb (DOBEREINER; BALDAM; BALDANI, 1995) (Figura 4), o qual é utilizado para seleção de bactérias fixadoras de N<sub>2</sub>. Foi observado que dos 27 isolados bacterianos avaliados, 14 (51,8%) foram capazes de fixar nitrogênio (Tabela 3), fato este caracterizado pela formação de disco de crescimento no meio livre de nitrogênio. Li *et al.* (2007) descrevem isolados bacterianos de nódulos de soja produtores de AIA, solubilizadores de fosfato e fixadores de nitrogênio, e ainda sugerem ter potencial para a promoção de crescimento de plantas. Teixeira *et al.* (2007) descrevem bactérias endofíticas de mandioca com capacidade de fixar nitrogênio.



**Figura 4:** Crescimento de bactérias endofíticas (seta) em meio de cultura livre de Nitrogênio.

Os diferentes isolados apresentaram características divergentes quanto à capacidade de solubilizar fosfato e fixar nitrogênio. Dos 27 isolados avaliados, 7 (25,9%) foram positivos para a fixação de nitrogênio e solubilização de fosfato. Entretanto, daqueles isolados que apresentaram melhor desempenho nos testes de germinação (Figuras 5 e 6) e crescimento de plântulas, somente os isolados A13, A21, A50, B61 e B62 positivo para as duas características (Fixação de N<sub>2</sub> e solubilização de fosfato) avaliadas. Estes isolados, somando o seu efeito sobre as duas variedades de tomateiro, também apresentaram bons resultados, sugerindo que apresentam potencial para a promoção de crescimento vegetal. Diversos trabalhos vêm descrevendo o uso de bactérias endofíticas solubilizadoras de fosfato e fixadoras de nitrogênio na promoção de crescimento de plantas.

O crescimento e a produção em resposta ao nitrogênio (N) têm sido muito pesquisados em muitas espécies vegetais cultivadas e algumas silvestres. No tomateiro, a elevação no nível de N fornecido às plantas aumenta o peso de matéria seca das raízes, do caule, das folhas e dos frutos, a altura da planta, o número de folhas, a área foliar, o florescimento, a frutificação e a produtividade. Sob condições de campo, a nutrição ótima dessa cultura pode ser alcançada quando a quantidade aplicada de fertilizantes nitrogenados é igual a alta demanda que ocorre durante o período de crescimento dos frutos (HUETT & DETTMANN, 1988, SINGH & SHARMA, 1999).

## **5.5 EFEITO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE TOMATEIRO**

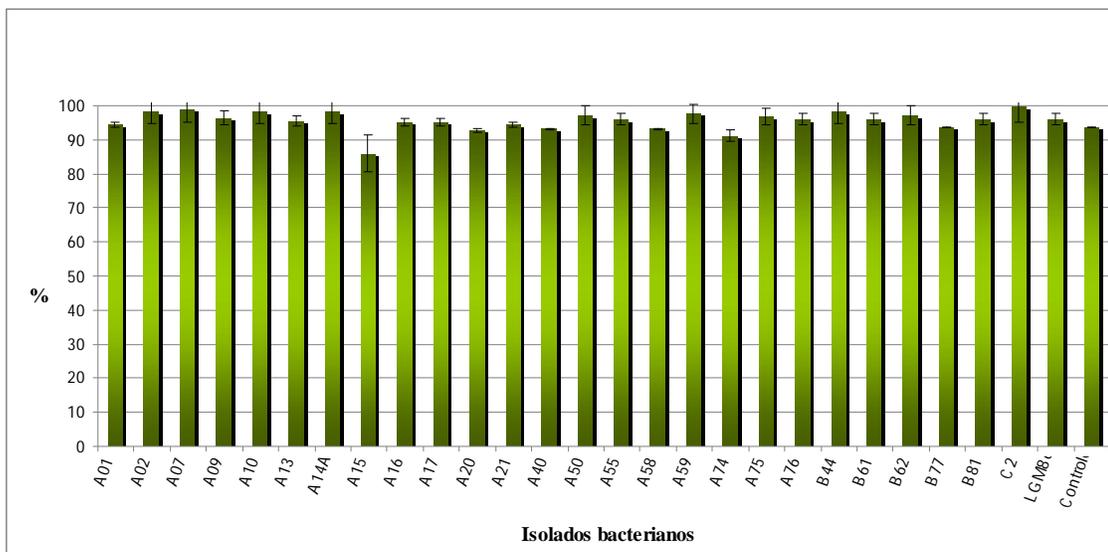
No experimento conduzido inicialmente com sementes tratadas com isolados pigmentados e mantidos em câmara úmida, foi observada grande variação nos resultados quanto a frequência de germinação das sementes das duas variedades de Tomate (Figuras 5 e 6), sendo observado em alguns casos efeitos deletérios (redução da germinação) e em outros casos um efeito benéfico (aumento da germinação) sobre as sementes avaliadas. A emergência das sementes avaliadas ocorreu em média no 3º dia após a semeadura.

Para o tomateiro Cereja Samambaia, foi observado que o isolado bacteriano A15 apresentou o pior desempenho, reduzindo de forma significativa a taxa de germinação, enquanto os isolados C2 e B44 apresentaram um aumento significativo na taxa de germinação (Figura 5). Com base nestes resultados, foram selecionadas 13 linhagens para os experimentos posteriores com Tomate Cereja Samambaia, sendo 7 isolados (A15, A16, A40, A58, A59,

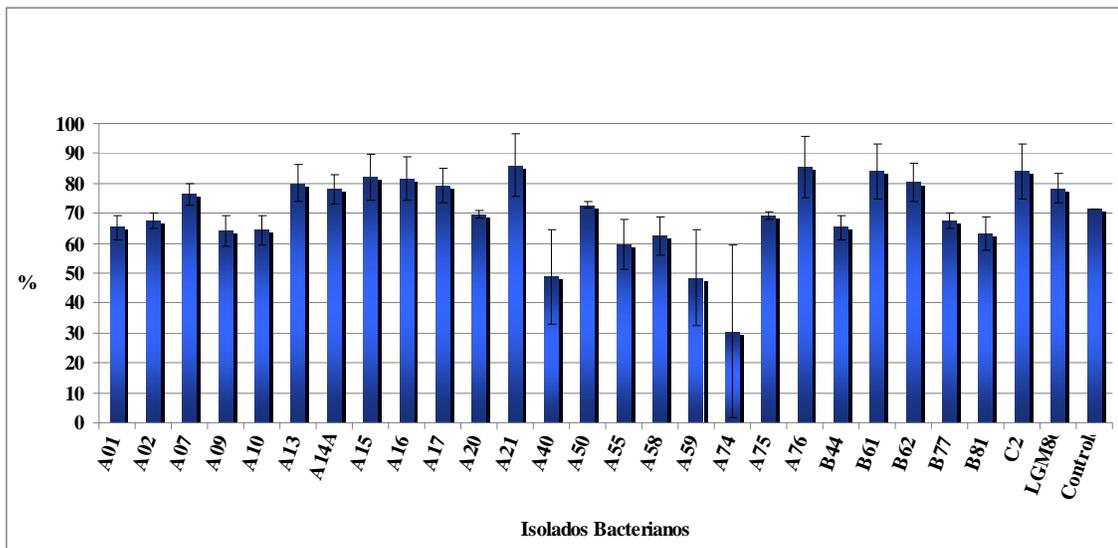
A74 e B77) que apresentaram efeito deletério ou neutro e 6 (A02, A09, A76, B44, C2 e LGM86) que apresentaram efeito benéfico sobre a germinação e crescimento das plântulas.

Para o tomateiro Santa Cruz Kada Gigante, foi observada uma maior variação nas taxas de germinação (Figura 6), mostrando que esta variedade responde de forma mais intensa à inoculação por bactérias. Entre estas bactérias, foi observado que o isolado A74 apresentou uma redução significativa na taxa de germinação, tendo em vista que apenas 30% das sementes germinaram após tratamento com esta bactéria. A partir destes resultados, 14 isolados (A07, A10, A13, A14A, A17, A21, A55, A59, A74, A76, B77, B81, C2 e LGM86) foram selecionados para estudos posteriores com esta variedade de tomateiro.

O efeito deletério ou benéfico de alguns isolados bacterianos sobre o desenvolvimento do tomateiro Cereja Samambaia (Figura 7) e Santa Cruz Kada Gigante e (Figura 8) foi observado por meio da frequência de germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas quando comparadas ao grupo controle. A existência de bactérias deletérias à planta, sem embora induzir sintomas de lesões em raízes e caules das duas variedades de tomateiro (Figuras 7b e 8b), sugere que embora estas bactérias não sejam patogênicas à planta hospedeira, poderiam em determinadas condições ambientais diminuir o vigor das plântulas tornando-as mais susceptíveis a patógenos, ou aumentar o tempo para a produção e transplante de mudas ao campo.



**Figura 5:** Porcentagem de germinação de sementes de Tomate Cereja Samambaia após inoculação com bactérias endofíticas.

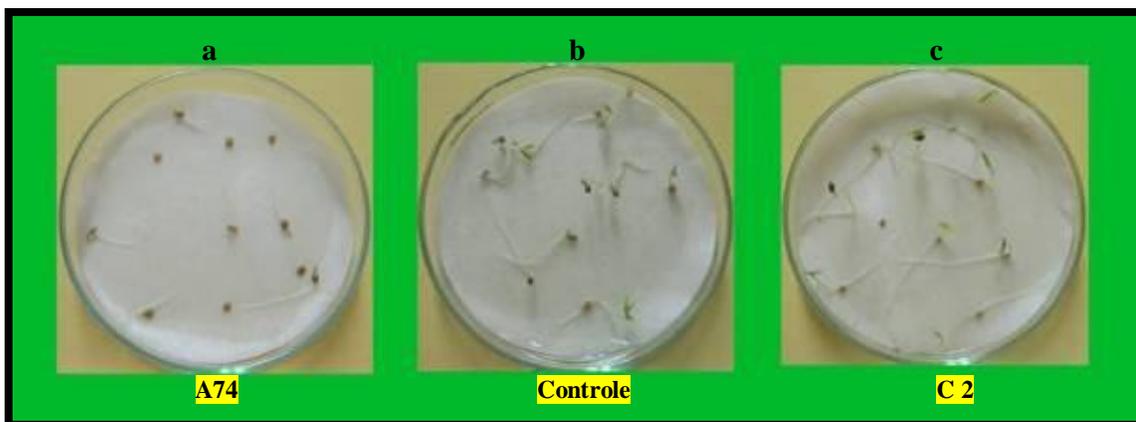
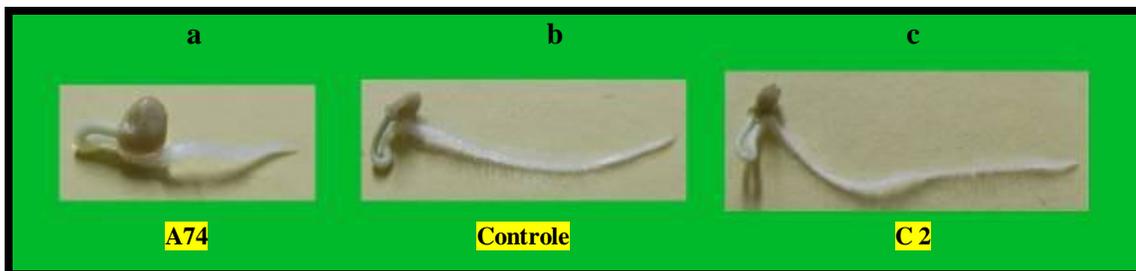


**Figura 6:** Porcentagem de germinação de sementes de Tomate Santa Cruz Kada Gigante após inoculação com bactérias endofíticas.

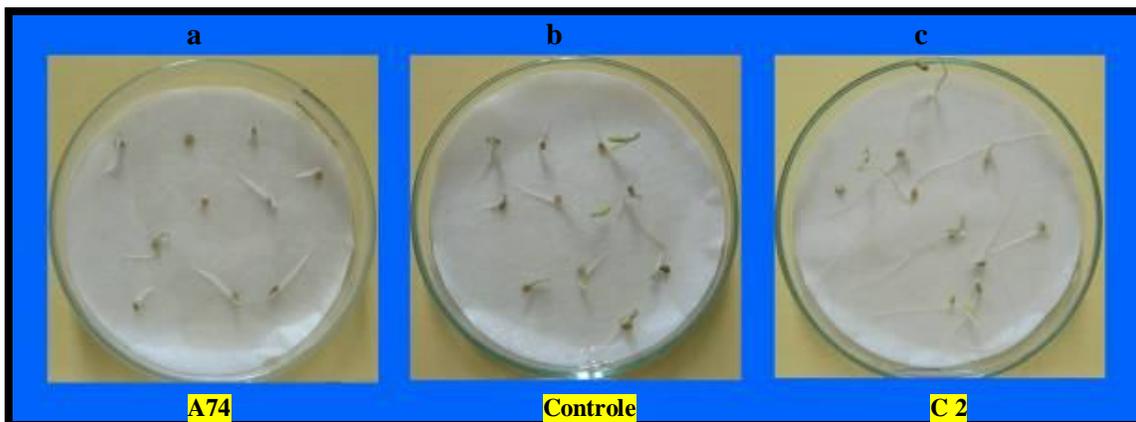
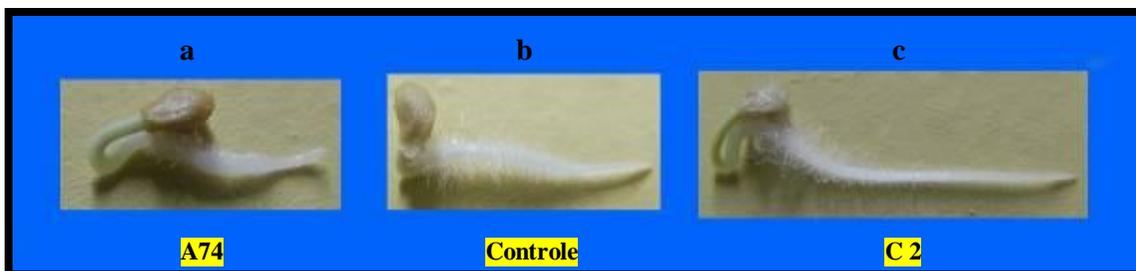
Também foi observado que alguns isolados apresentaram efeito benéfico sobre a planta (Figuras 7c e 8c) promovendo uma maior taxa de germinação, seguido por um aumento do vigor das plântulas. Esses resultados indicam uma melhor qualidade das mudas, o que poderá possibilitar uma redução do tempo das mesmas em viveiro e maior taxa de crescimento após o transplante.

Por meio do reisolamento em meio de cultura, foi observado que as bactérias inoculadas em sementes colonizaram as plântulas de tomateiro. Entretanto, esta associação avaliada “in vitro” demonstrou que dependendo da bactéria inoculada pode ocorrer um estímulo ou inibição da germinação e posterior crescimento vegetal.

O segundo experimento foi realizado visando avaliar as condições de germinação das sementes, o estabelecimento e crescimento inicial de mudas das duas variedades de tomateiro em casa de vegetação. As sementes inoculadas com isolados pigmentados foram plantadas e cultivadas em bandejas de produção de mudas em “Plantmax®”. Os tratamentos foram: A07, A13, A15 e C2 para Tomate Cereja Samambaia e dentre as bactérias houve diferença na taxa de germinação (Figura 9), no isolado C2 (88,5%) quando comparado ao grupo controle (80,2%) indicando que tenha produzido algum efeito benéfico ao tomateiro, favorecendo em determinadas condições ambientais até um aumento no vigor das plântulas, seguido por um maior crescimento radicular, alongamento do caule, crescimento das folhas e aumento na amostragem do peso fresco (Tabela 4 e Figuras 10, 11, 12 e 13). Esse favorecimento não foi observado nos tratamentos: A13 (71,8%) e A15 (62,5%) invertendo essa tendência, propiciando um menor número de emergência das sementes, crescimento



**Figura 7:** Plântulas de Tomate Cereja Samambaia. Observar em **a** plântulas provenientes de sementes sem inoculação bacteriana; em **b** plântulas com tratamento bacteriano que possuem efeito deletério no crescimento vegetativo e em **c** plântulas com tratamento bacteriano que possuem efeito benéfico no crescimento vegetativo.

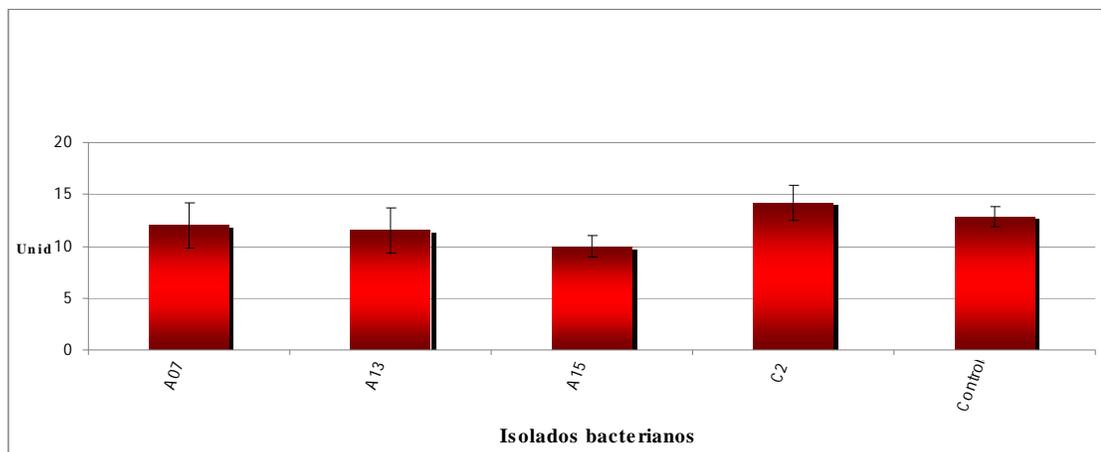


**Figura 8:** Plântulas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante. Observar em **a** plântulas provenientes de sementes sem inoculação bacteriana; em **b** plântulas com tratamento bacteriano que possuem efeito deletério no crescimento vegetativo e em **c** plântulas com tratamento bacteriano que possuem efeito benéfico no crescimento vegetativo.

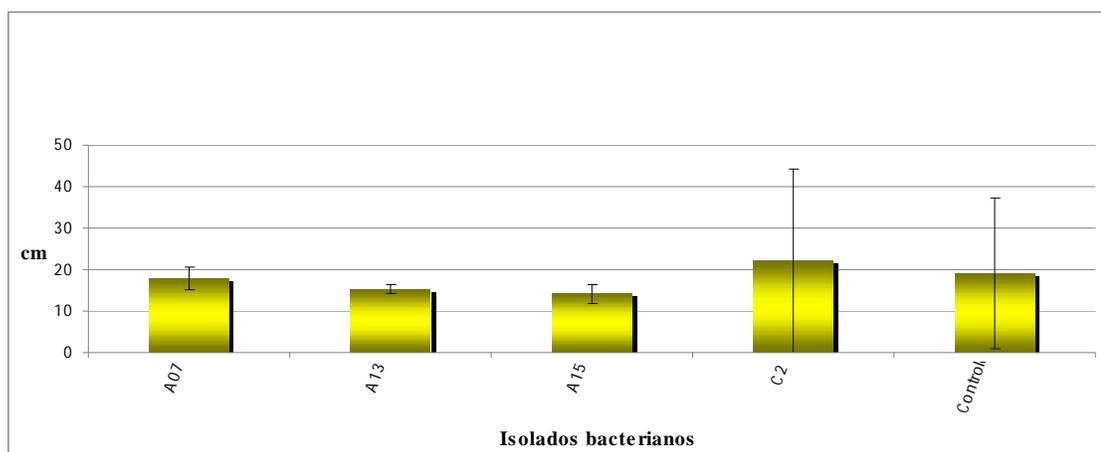
(altura), número de folhas, comprimento radicular e parte aérea quando comparadas ao grupo controle. O isolado A07 não apresentou características quanto à variação no comportamento para a promoção do crescimento ou características muito diversas ao isolado sem tratamento bacteriano (Figuras 14 e 15).

**Tabela 4:** Média da Taxa de Germinação, Altura Total (raiz e parte aérea), Altura da Raiz, Número de Folhas e Amostragem de Peso Fresco em Tomate Cereja Samambaia.

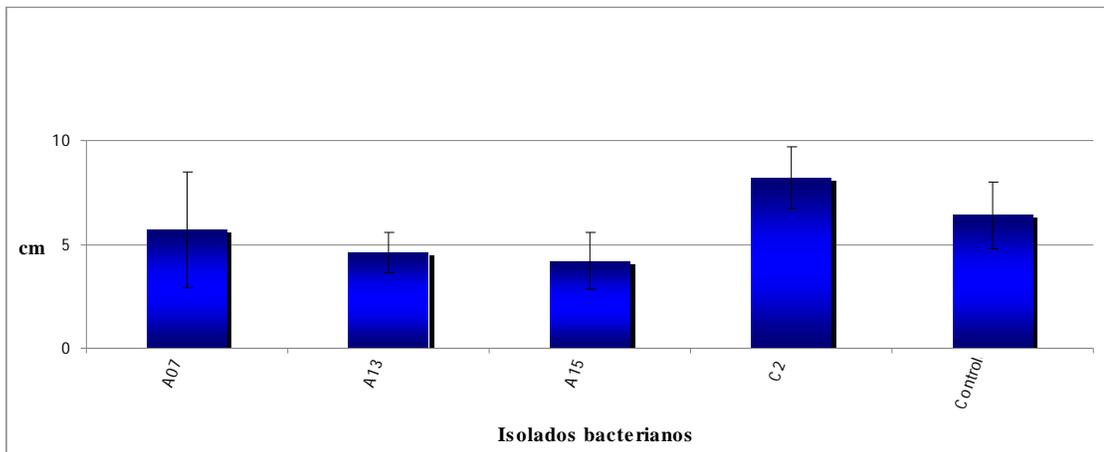
<b>Tomate Cereja Samambaia</b>					
Isolados	Média Germinação em unid.	Média Altura Total em cm	Média Altura da Raiz em cm	Média Número de Folhas em und.	Média Peso Fresco em gr.
Bactéria A07	12,5	17,9	5,7	12,8	14,4
Bactéria A13	11,5	15,3	4,6	10,6	10,4
Bactéria A15	10	14,1	4,2	8,8	11,1
Bactéria C2	14,16	22,1	8,2	15,8	16,8
Controle	12,83	19,1	6,4	14,4	12,4



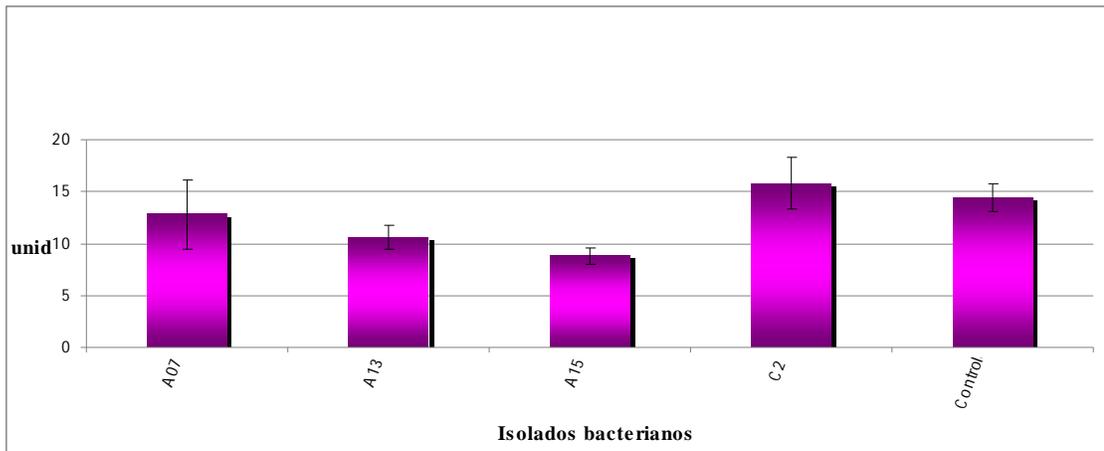
**Figura 9:** Média de germinação de sementes de Tomate Cereja Samambaia após inoculação com bactérias endofíticas com cultivo em casa de vegetação.



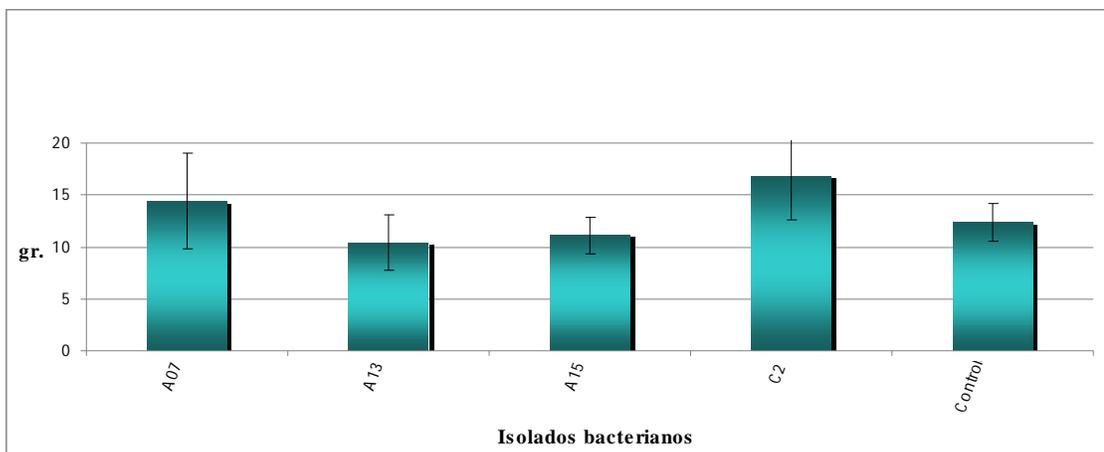
**Figura 10:** Média e Desvio Padrão da Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Cereja Samambaia.



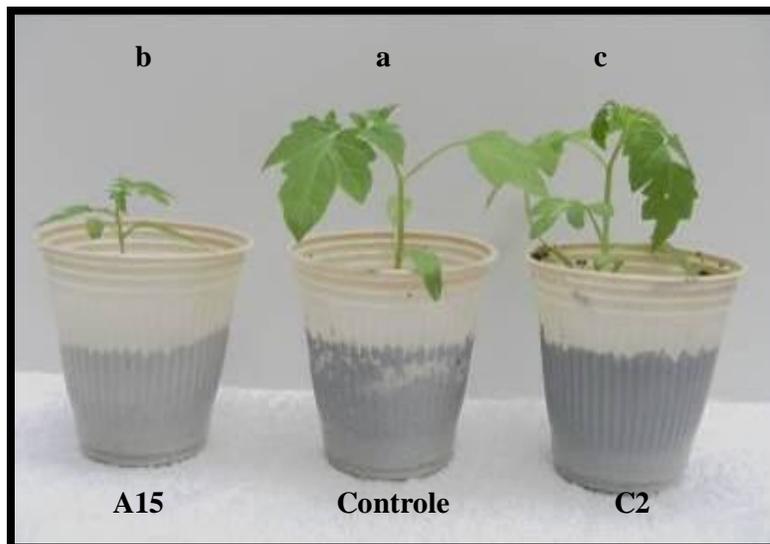
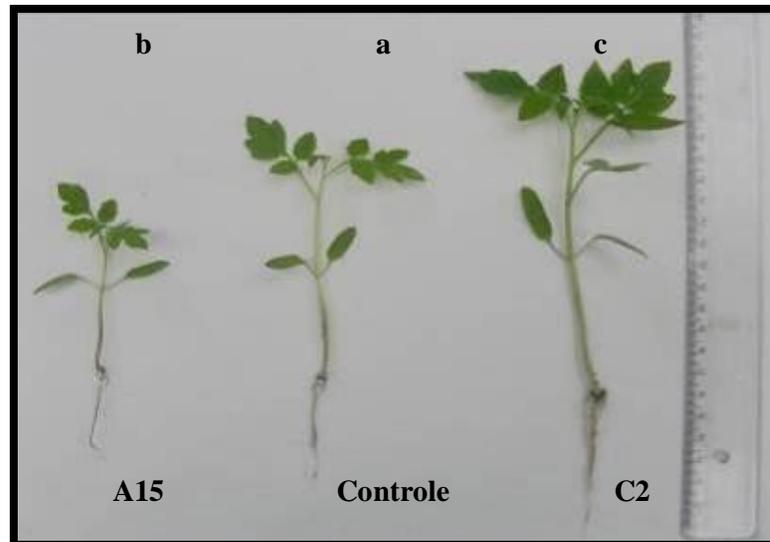
**Figura 11:** Média e Desvio Padrão da Altura da Raiz das Plantas de Tomate Cereja Samambaia.



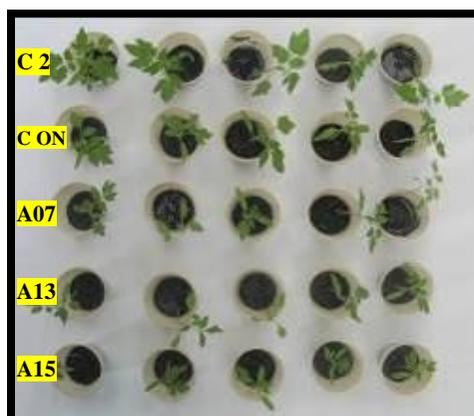
**Figura 12:** Média e Desvio Padrão da Contagem do Número de Folhas em Tomate Cereja Samambaia.



**Figura 13:** Média e Desvio Padrão da Amostragem do Peso Fresco em Tomate Cereja Samambaia.



**Figura 14:** Plântulas de Tomate Cereja Samambaia. Observar em **a** plântulas provenientes de sementes sem inoculação bacteriana; em **b** plântulas com tratamento bacteriano que possuem efeito deletério no crescimento vegetativo e em **c** plântulas com tratamento bacteriano que possuem efeito benéfico no crescimento vegetativo.

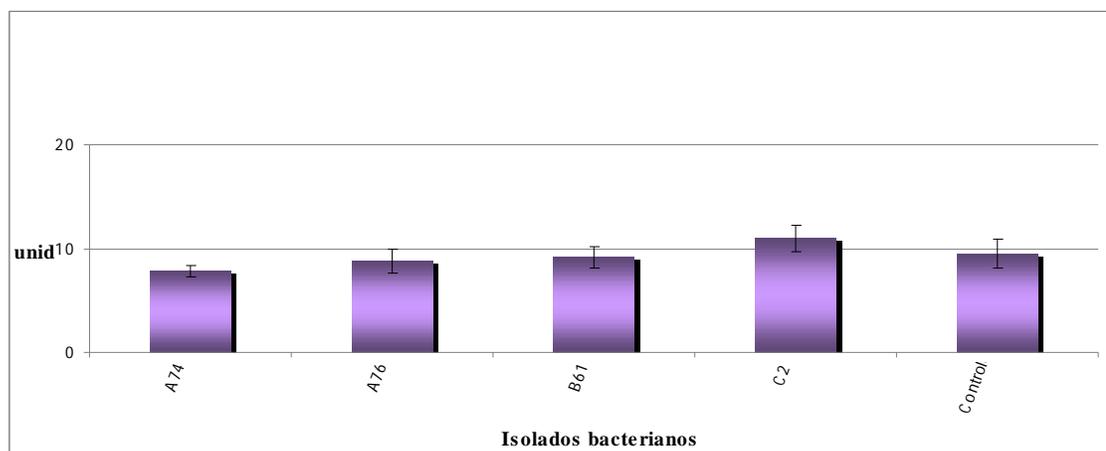


**Figura 15:** Aspectos de Plântulas de Tomate Cereja Samambaia.

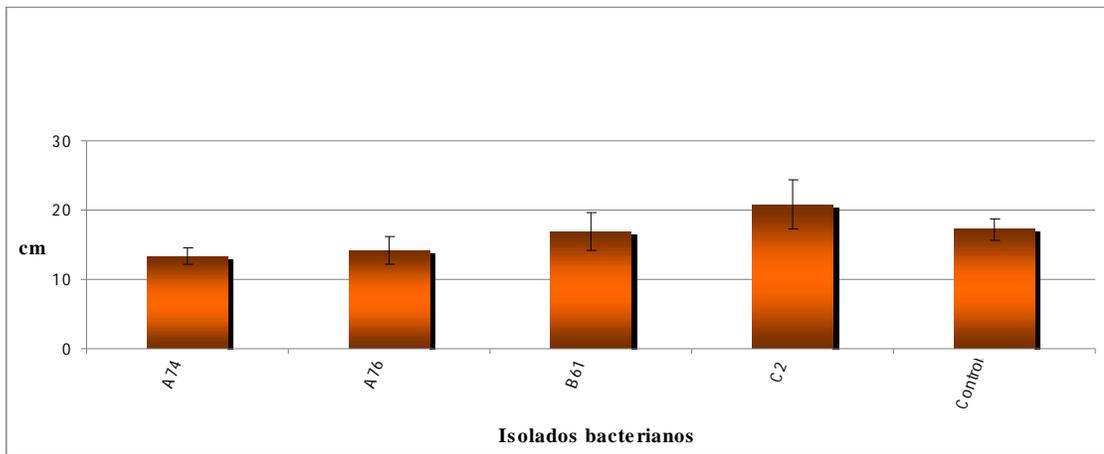
Foram avaliados quatro isolados: A74, A76, B61 e C2 para Tomate Santa Cruz Kada Gigante, e após a semeadura foi realizada a contagem do número de plântulas emergidas para calcular o índice de emergência de cada tratamento (Figura 16). O tratamento C2 (68,7%) influenciou no desenvolvimento das plântulas, sendo observado um aumento na altura total (parte aérea e raiz), altura das raízes, contagem do número de folhas e massa de matéria fresca quanto ao grupo controle com (59,5%). Ocorreram situações diversificadas (Tabela 5 e Figuras 17, 18, 19 e 20) com os tratamentos B61 (57,2%), A76 (55,2%) e A74 (48,9%) sendo o ultimo com possível efeito deletério sobre o desenvolvimento do tomateiro (Figuras 21 e 22) indicando uma redução na qualidade das mudas.

**Tabela 5:** Média da Taxa de Germinação, Altura Total (raiz e parte aérea), Altura da Raiz, Número de Folhas e Amostragem de Peso Fresco em Tomate Santa Cruz Kada Gigante.

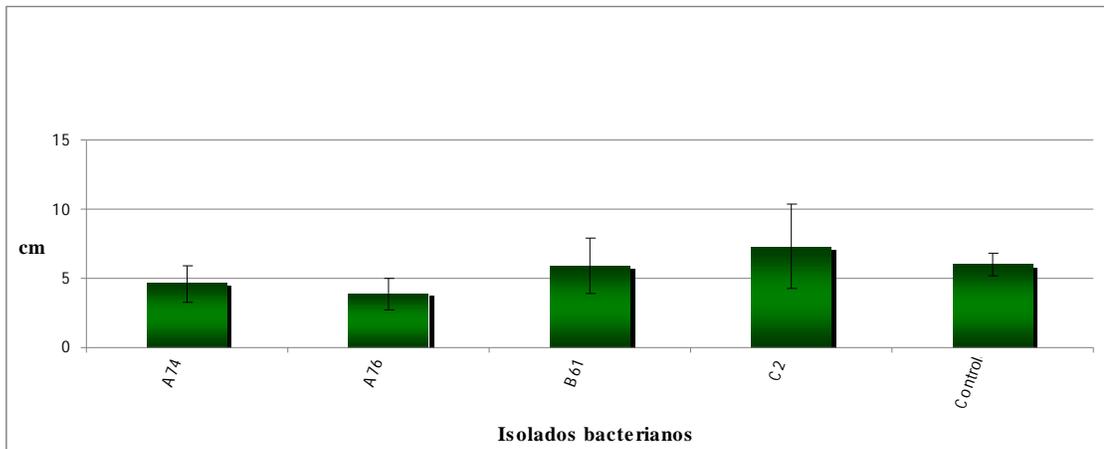
Tomate Santa Cruz Kada Gigante					
Isolados	Média Germinação em unid.	Média Altura Total em cm	Média Altura da Raiz em cm	Média Número de Folhas em und.	Média Peso Fresco em gr.
Bactéria A74	7,83	13,3	4,6	9,0	9,6
Bactéria A76	8,83	14,2	3,9	9,0	10,6
Bactéria B61	9,16	16,9	5,9	11,6	11,8
Bactéria C2	11,0	20,8	7,3	15,6	16,4
Controle	9,5	17,2	6,0	11,4	12,0



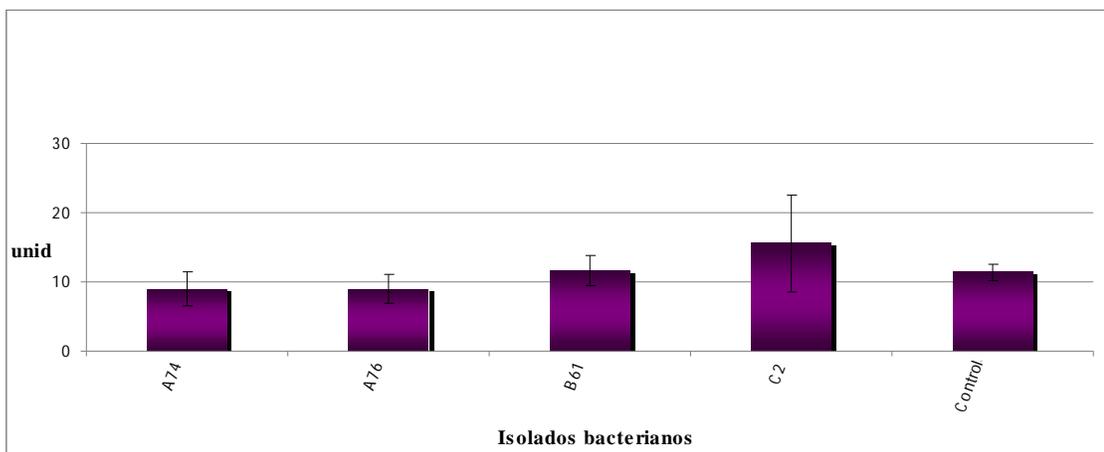
**Figura 16:** Porcentagem de germinação de sementes de Tomate Santa Cruz Kada Gigante após inoculação com bactérias endofíticas no cultivo em casa de vegetação.



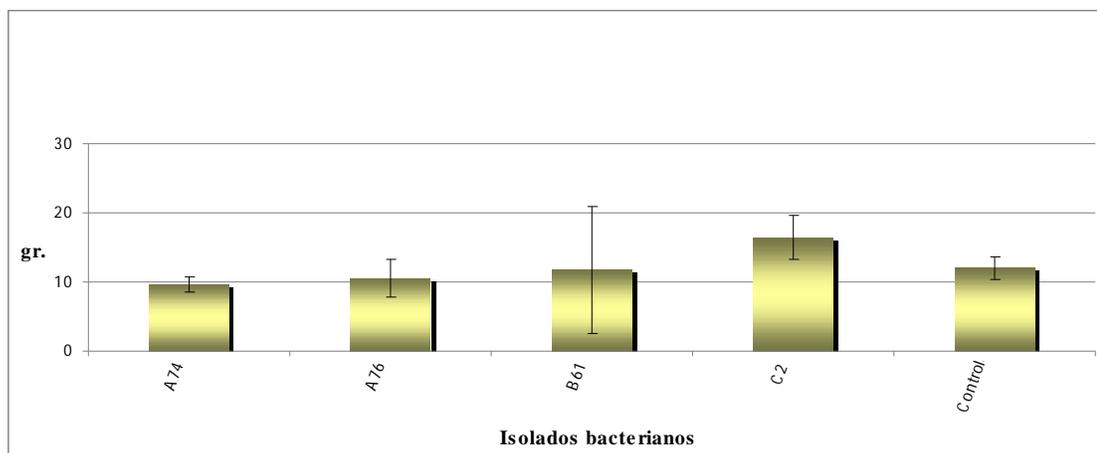
**Figura 17 :** Média e Desvio Padrão da Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante.



**Figura 18:** Média e Desvio Padrão da Altura da Raiz das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante.



**Figura 19:** Média e Desvio Padrão da Contagem do Número de Folhas em Tomate Santa Cruz Kada Gigante.

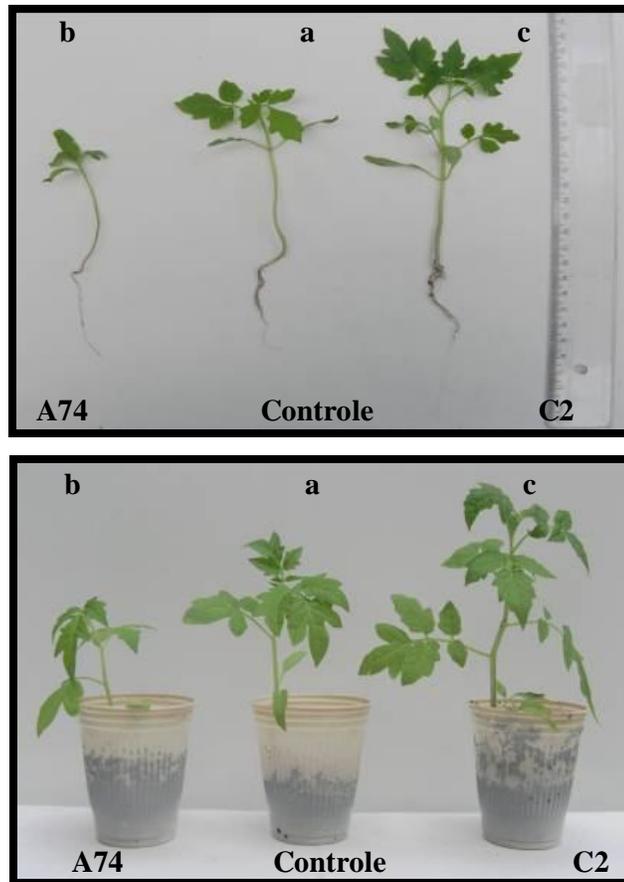


**Figura 20:** Média e Desvio Padrão da Amostragem do Peso Fresco em Tomate Santa Cruz Kada Gigante.

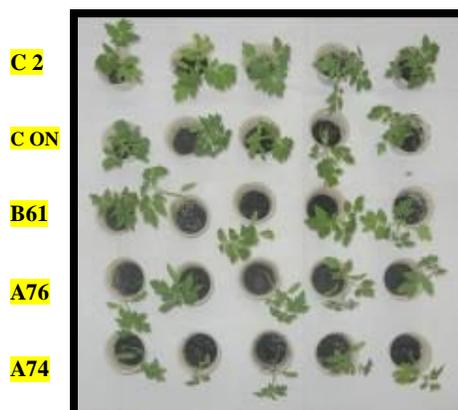
A promoção de crescimento vegetal por algumas bactérias pode ocorrer devido à habilidade de algumas em fixar nitrogênio, solubilizar e aumentar a absorção de fósforo, produzir sideróforos, os quais sequestram e disponibilizam íons férricos oxidando o enxofre. O crescimento vegetal ainda pode ter sido estimulado pela produção de compostos análogos a hormônios vegetais como ácido-indol-acético (AIA), giberelinas, citocininas e 1-aminoaclopropano-1-carboxilato (ACC) (CATTELAN, 1999). O fósforo é importante para a planta, pois é o principal componente de combinações vitais como lecitina e nucleotídeos estando relacionados aos fenômenos de armazenamento e transferências de energia na planta sob a forma de ATP. Entre os gêneros com essa capacidade estão *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* e *Erwinia* (RODRÍGUEZ & FRAGA, 1999). Portanto a capacidade das bactérias endofíticas em solubilizar fosfato inorgânico durante o processo de colonização da planta hospedeira tem sido alvo de grande interesse por parte de microbiologistas agrícolas, pois esta característica apresenta um grande potencial para a promoção de crescimento vegetal.

Em plantas, os hormônios vegetais (auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e ácido abscísico) são substâncias orgânicas que desempenham uma função na regulação do crescimento. No entanto alguns hormônios possuem efeito inibitório, sendo mais adequado considerá-los como reguladores químicos. Além disso, um mesmo hormônio pode produzir respostas diferentes em tecidos ou mesmo hormônio pode produzir respostas diferentes em tecidos ou em diferentes fases do desenvolvimento num mesmo tecido (RAVEN *et al.*, 2001).

Os resultados apresentados no trabalho mostram que alguns isolados podem estar associados às mudanças fisiológicas de plântulas de tomate, mas a estratégia utilizada por estas bactérias é ainda desconhecida, sendo necessário outros estudos sobre as características bacterianas importantes para a promoção de crescimento vegetal.



**Figura 21:** Plântulas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante. Observar em **a** plântulas provenientes de sementes sem inoculação bacteriana; em **b** plântulas com tratamento bacteriano que possuem efeito deletério no crescimento vegetativo e em **c** plântulas com tratamento bacteriano que possuem efeito benéfico no crescimento vegetativo.



**Figura 22:** Aspectos de Plântulas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante.

## 6 CONCLUSÕES

A comunidade bacteriana endofítica cultivável de *T. stans* e *B. brasiliense* compreende aos gêneros: *Ancylobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Geodermatophilus*, *Hymenobacter*, *Massilia*, *Methylobacterium*, *Microbacterium*, *Pandoraea*, *Plantibacter*, *Prochlorococcus*, *Pseudomonas*, *Pseudoxanthomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas*, *Streptosporangium*, *Variovorax* e *Xanthomonas*.

A comunidade bacteriana do gênero *Methylobacterium* cultivável de *T. stans* e *B. brasiliense* compreende as espécies: *Methylobacterium aerolatum*, *Methylobacterium aquaticum*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Methylobacterium lusitanum*, *Methylobacterium oryzae* e *Methylobacterium radiotolerans*.

Entre os isolados pigmentados (coloração rósea) selecionados para a microbiolização de sementes de tomateiros após análise por meio do sequenciamento parcial do 16S rDNA, mostrou que é composta por diferentes espécies sendo: *Bacillus thuringiensis*, *Hymenobacter xinjiangensis*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Methylobacterium* sp. e *Rhodococcus* sp. propiciaram a maior eficiência de solubilização de fosfato e fixação de nitrogênio.

Entre os isolados: *Bacillus thuringiensis*, *Hymenobacter xinjiangensis*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Methylobacterium* sp. e *Rhodococcus* sp. propiciaram a maior eficiência de solubilização de fosfato e fixação de nitrogênio.

Os isolados mais eficientes no potencial para aumento da taxa de germinação de sementes para as duas variedades do tomateiro em tratamento controlado em câmara úmida são: *Bacillus thuringiensis*, *Hymenobacter xinjiangensis*, *Methylobacterium fujisawaense* e *Methylobacterium* sp.

Os isolados menos eficientes em tratamento controlado em câmara úmida que reduziram a emergência das sementes e desenvolvimento de plântulas dos tomateiros são: *Methylobacterium* sp., *Rhodococcus* sp., *Prochlorococcus marinus* e *Prochlorococcus* sp.

No tratamento em casa de vegetação com sementes de Tomate Cereja Samambaia e Tomate Santa Cruz Kada Gigante o isolado *Methylobacterium radiotolerans* se revelou o mais promissor na capacidade de promoção do crescimento em função do bom desempenho após a semeadura e contagem do número de plântulas emergidas. Os isolados *Rhodococcus rhodnii* e *Prochlorococcus* sp. apresentaram-se inferiores as condições da testemunha, demonstraram redução nos critérios avaliados em cada tratamento.

Em geral o gênero *Methylobacterium* mostrou-se interferindo na emergência das sementes, no tamanho da planta hospedeira, contudo no desenvolvimento das plântulas das duas variedades de tomateiro, visto que uma mesma bactéria pode estimular a germinação em uma planta e inibir em outra.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, P.D.; KLOPPER, J.W. Seed-borne bacterial endophytes in different cotton cultivars. **Phytopathology**, v.86, p.S97, 1996.

AGRIANUAL 2003. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2003, 544p.

AGRIANUAL 2007. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2008, 520p.

AGRIANUAL 2008. FNP. Consultoria e comércio. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2007.

ALVARENGA, M. A. R. **Tomate**: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia. Lavras, UFLA, 400 p, 2004.

ALVES, S.B.; MOINO JR, A.; ALMEIDA, J.E.M. **Desenvolvimento, potencial de uso e comercialização de produtos microbianos**. In: ALVES, S.B. (Ed.) Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, cap. 40, p. 1143-1163, 1998.

AMARAL JÚNIOR, A. T.; CASALI, V. W. D.; CRUZ, C. D.; FINGER, F. L.; SCAPIM, C. A. Melhoramento do tomateiro: II. Procedimento de Gardner e Eberhart na análise heterótica de características morfológicas e da qualidade dos frutos. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n.1, p.33-47, 1997.

ANDREOTE, F.D.; GULLO, M.J.M.; LIMA, A.O.S.; MACCHERONI Jr, W.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. **Impact of genetically modified *Enterobacter cloacae* on indigenous endophytic community of *Citrus sinensis* seedlings**. *Journal of Microbiology*, Seoul, v. 42, p. 169-173, 2004.

ANDREOTE, F. D.; LACAVA, P. T.; GAI, C. S.; ARAÚJO, W. L.; MACCHERONI, W.; VAN OVERBEEK, L. S.; VAN ELSAS, J. D.; AZEVEDO, J. L. Model plants for studying the interaction between *Methylobacterium mesophilicum* and *Xylella fastidiosa*, **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 52, n. 5, p. 419-426, 2006.

ANDREUCCETTI, C.; FERREIRA, M. D.; GUTIERREZ, S. D.; TAVARES, M. Classificação e padronização de tomate cv. Carmen dentro da CEAGEST (SP). IN: 43

**CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA**, Recife. Anais do Congresso Brasileiro de Olericultura, Recife: CBO, 2003.

ARAGÃO, F. A. S.; RIBEIRO, C. S. C.; CASALI, V. W. D.; GIORDANO, L. B. Cultivo de embriões de tomate *in vitro* visando a introgressão de genes de *Lycopersicon peruvianum* em *L. esculentum*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20. n. 4. p. 605- 610, 2002.

ARAÚJO, J. M. D.; SILVA, A. C. D.; AZEVEDO, J. L. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of maize (*Zea Mays L.*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 43, p. 447-451, 2000.

ARAÚJO, W.L.; MACCHERONI JUNIOR, W.; AGUILARVILDOSO, C.I.; BARROSO, P.A.V.; SARIDAKIS, H.O.; AZEVEDO, J.L. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, v.47, p.229-236, 2001.

ARAÚJO, W.L.; MARCON, J.; MACCHERONI JUNIOR, W.; ELSAS, J.D. van; VUURDE, J.W.L. van; AZEVEDO, J.L. Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.4906-4914, 2002.

ARECHA VALETA, M.; BACON, C.W.; HOVELAND, C.S.; RADCLIFFE, D.E. Effect of the tall fescue endophyte on plant response to environmental stress. **Agronomy Journal**, v.81, p.83-90, 1989.

ARSHAD, M.; FRANKENBERGER, W.T. Microbiological production of plant hormones. In: KEISTER, D.L.; CREGAN, P.B. (Ed.). **The rhizosphere and plant growth**. Dordrecht: Kluwer, p.327-334, 1991.

ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Molecular Biology Reporter**, 9:208-218, 1991.

ASGHAR, H.N.; ZAHIR, Z.A.; KHALIQ, A. Relationship between *in vitro* production of auxins y rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea L.* **Biology and Fertility of Soils**, Berlin v. 35, p. 231-237, 2002.

ATIYEH, R.M., ARACON, N., EDWARDS, C.A., METZGER, J.D. Influence of earthworm-processed pig manure on the growth and yield of greenhouse tomatoes. **Bioresource Technology**, v.75, n.3, p.175-180, 2000.

AZEVEDO FILHO JA; MELO AMT. Avaliação de tomate silvestre do tipo cereja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 41 **resumos...** Brasília; ABH (CD-ROM), 2001.

AZEVEDO, J.L. Microrganismos endofíticos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Ed.) **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, p.117-137, 1999.

AZEVEDO, J.L.; MACCHERONI JUNIOR, W.; PEREIRA, J.O.; ARAÚJO, W.L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.3, 2000. Disponível em: <<http://ejbiotechnology.info/content/vol3/issue1/index.html>>. Acesso em: mar. 2008.

AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L.; MACCHERONI, J. Importância dos microrganismos endofíticos no controle de Insetos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L (Ed.) **Controle Biológico**, Jaguariúna: EMBRAPA \_ Meio Ambiente, cap.3, p.57, 2000.

AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: Ganguli, B.N.; Deshmukh, S.K. (Eds.) **Fungi: Multifaceted Microbes**, Anamaya Publishers, New Delhi, India, 189-207, 2007.

BACON, C.W.; WHITE JR., J.F. **Microbial endophytes**. New York: Marcel Dekker, 2000.

BAKKER, P.A.H.M.; LAMERS, J.G.; BAKKER, A.W.; MARUGG, J.D.; WEIBEEK, P.J.; SCHIPPERS, B. The role of siderophores in potato tuber yield increase by *Pseudomonas putida* in a short rotation of potato. **Journal of Plant Pathology**, v. 92, p. 249-256, 1986.

BALBACH, A. **As frutas na medicina natural**, (1). Itaquaquecetuba. Missionária, 1992, 308p.

BALDANI, J.L; OLIVEIRA, A.L.M.; GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, V.L.D.; REIS JR, F.B.; SILVA, L.G.; REIS V.M.; TEIXEIRA, K.R.S.; DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation (BNF) in non-leguminous plants: me role of endophytic diazotrophs. In: PEDROSA, F.O.; HUNGRIA, M.; YATES, M.G.; NEWTON, W.E. (Ed.) **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, v. 38, p. 397-400, 2000.

BARAC, T.; TAGHAVI, S.; BORREMANS, B.; PROVOOST, A.; OEYEN, L.; COLPAERT, J. V.; VANGRONVELD, J.; VAN DER LELIE, D. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. **Nature Biotechnology**, New York, v. 22, n. 5, p. 583-588, 2004.

BARRETTI, P.B.; ROMEIRO, R.S.; SILVA, H.S.A.; ANDRADE, C.G. Biocontrole experimental de enfermidades fúngicas e bacterianas do tomateiro pelo uso de bactérias endofíticas pré-selecionadas. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.275, 2001.

BARTEL, B. Auxin Biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Hamilton, v. 48, p. 51-66, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v.139, p.103-121, 1997.

BEATTIE, G.A.; LINDOW, S.E. The secret life of foliar bacterial pathogens on leaves. **Annual Review of Phytopathology**, v.33, p.145-172, 1995.

BELL, C.R.; DICKIE, G.A.; HARVEY, W.L.G.; CHAN, J. Endophytic bacteria in grapevine. **Canadian Journal of Microbiology**, v.41, n.1, p.46-53, 1995b.

BENHAMOU, N.; KLOPPER, J.W.; QUADT HALLMAN, A.; TUZUN, S. Induction of defense-related ultrastructural modifications in pea root tissues inoculated with endophytic bacteria. **Plant Physiology**, v.112, n.3, p.919-929, 1996.

BENT, E.; CHANWAY, C.P. The growth-promoting effects of a bacterial endophyte on lodgepole pine are partially inhibited by the presence of other rhizobacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v.44, p.980-988, 1998.

BERG, G.; EBERL, L; HARTMANN, A. The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. **Environmental Microbiology**, Washington, v. 7, p. 1673-1685, 2005.

BLOEMBERG, G. V.; LUGTENBERG, B. J. J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion in Plant Biology**, v.4, p.343-350, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº553 de 30 de agosto de 1995. Dispõe sobre a Norma de Identidade, Qualidade, Acondicionamento e Embalagem do Tomate *in natura*, para fins de comercialização e Revoga as especificações de Identidade, Qualidade, Acondicionamento e Embalagem do Tomate, estabelecidas pela Portaria nº. 76, de 25 de fevereiro de 1975. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria SARC n.º 085 de 06 de março de 2002. Propõe o Regulamento técnico de identidade e qualidade para classificação do tomate. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2002a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa conjunta SARC/ANVISA/INMETRO n.º09 de 12 de novembro de 2002. Dispõe sobre a regulamentação do acondicionamento, manuseio e comercialização dos produtos hortícolas *in natura*, em embalagens próprias para a comercialização, visando à proteção, conservação e integridade dos mesmos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2002b.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa no 007, de 17 de maio de 1999. In: SOUZA, J. L.; RESENDE, P. (Ed.). **Manual de Horticultura Orgânica**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003, p.496-512.

BUCHENAUER, H. Biological control of soil borne diseases by rhizobacteria. **Journal of Plant Diseases Protection**, Stuttgart, v. 105, p.329-348, 1998.

CAMARGO, L.S. **As hortaliças e seu cultivo**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, (Série Técnica número 6),1992, 253p.

CAMERON, H.R. Pseudomonas content of cherry trees. **Phytopathology**, v.60, p.1343-1346, 1970.

CATTELAN, A.J. Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal. Londrina: **EMBRAPACNPS**, 36 p, 1999.

CAVALCANTE, V. A.; DÖBEREINER, J. A new acid tolerant nito-gen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, v108, p. 23-31, 1998.

CHANWAY, C.P.; SHISHIDO, M.; NAIRN, J.; JUNGWIRTH, S.; MARKHAM, J.; XIAO, G.; HOLL, F.B. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. **Forest Ecology and Management**, v.133, p.81-88, 2000.

CHANWAY, C.P. Bacterial endophytes: ecological and praticai implications. Sydowia: **An International Journal of Micology**, Horn, v. 50, p. 149-170, 1998.

CHAVES, A; MELLO-FARIAS, P. Ethylene and fruit ripening: From illumination gas to the

control of gene expression, more than a century of discoveries. **Genetics and Molecular Biology**, 29,3: 508-515, 2006.

CHEN, C.; BAUSKE, E.M.; MUSSON, G.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; KLOEPPER, J.W. Biological control of Fusarium wilt on cotton by use of endophytic bacteria. **Biological Control**, v.5, n.1, p.83-91, 1995.

CHEN, Y.; MEI, R.; LIU, L.; KLOEPPER, J.W. The use of yield increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in Chinese agriculture. In: UTKHEDE, R.S. e GUPTA, V.K. (Ed.). **Management of soil born diseases**. Ludhiana: Kalyani Publishers, p.165-184, 1996.

CLAY, K. Fungal endophytes of grasses. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.21, p.275-295, 1990.

COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLEMENT, C.; BARKAI, E.A. Minireview: Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, p. 4951-4959, 2005.

COSTACURTA, A; VANDERLEYDEN, J. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. Critical. **Reviews in Microbiology**, v. 21, p. 1-18, 1995.

CORRÊA, J.C.; MAUAD, M.; ROSOLEM, C.A. Fósforo no solo e desenvolvimento de soja influenciados pela adubação fosfatada e cobertura vegetal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.12, p.1231-1237, 2004.

DARBYSHIRE, J.F.; GREAVES, M.P. The invasion of pea roots *Pisum sativum* L. by soil microorganisms, *Acanthamoeba palestinensis* Reich) and *Pseudomonas* sp. **Soil Biology and Biochemistry**, v.3, p.151-155, 1971.

DIEZ NICLOS J. Tipos varietales. In: NUEZ F. (Coord.) **El cultivo del tomate**. Madrid: Mundi Prensa. p.93-129, 1995.

DI FIORE, S.; DEL GALLO, M. Endophytic bacteria: their possible role in the host plants. In: FENDRIK, I.; DEL GALLO, M.; VANDERLEYDEN, J.; DE ZAMAROCZY, M. **Azospirillum VI and related microrganisms**. Berlin: Springer-Verlag, p.169-187, 1995.

DÕBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.L. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: Embrapa - SPI, v.1. 60p, 1995.

DOMINÍ, M.E., PINO, M. de los A., BERTOLÍ, M. Nuevas variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) para la época no óptima. **Cultivos Tropicales**, v.14, n.2-3, p.94-97, 1993.

DONG, Z.; CANNY, M.J.; McCULLY, M.E.; ROBOREDO, M.R.; CABADILLA, C.F.; ORTEGA, E.; RODÉS, R. A nitrogen-fixing endophyte of sugarcane stems. **Plant Physiology**, v.105, p.1139-1147, 1994.

DORAIS, M.; GOSSELIN, A.; PAPADOPOULOS, A. P. Greenhouse tomato fruit quality. **Horticultural Reviews**, v. 26, p. 239-306, 2001.

ELBELTAGY, A.; NISHIOKA, K.; SATO, T.; SUZUKI, H. YE, B.; HAMADA, T.; ISAWA, T.; MITSUI, H.; MINAMISAWA, K. Endophytic colonization and in plants nitrogen fixation by. A *Herbaspirillum* sp. Isolated from wild rice species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 5285-5293, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – **EMBRAPA** - CNPH. 2005. Disponível em: [http://www.cnph.embrapa.br/paginas/hortalicas\\_em\\_numeros/situacao%20das%20hortalicas%20no%20brasil%202005.pdf](http://www.cnph.embrapa.br/paginas/hortalicas_em_numeros/situacao%20das%20hortalicas%20no%20brasil%202005.pdf). Acesso em: 6 nov. 2007.

FAHEY, J. W. Endophytic Bacteria for the Delivery of Agrochemicals to Plants. *In*: Cutler, H. O. (Ed.) *Biologically Active Natural Products. Potential Use in Agriculture*. **American Chemical Society Symposium Ser**, Washington. p.120-128, 1988.

FETT, C. **Ciência da suplementação alimentar**. Rio de Janeiro. Sprint, 2000, p.54-57, 71-75.

FELIPPE, G.M. **Grãos e sementes** - a vida encapsulada. São Paulo. SENAC, 2007, 430p.

FERNANDES, A.R; CARVALHO J.G. de; MELO, P.C. Efeito do fósforo e do zinco sobre o crescimento de mudas do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum.) **Cerne**, v.9, n. 2, p. 221-230, 2003.

FERREIRA, S.M.R.; FREITAS, R.J.S.; LAZZARI, E.N. Padrão de identidade e qualidade do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) de mesa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.329-335, 2004.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV. 402p, 2000.

FILGUEIRA, J.A. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 412p, 2003.

FISHER, P.J. *et al.* The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays L.*) **New Phytol Oxford**, v. 122, p. 299-305, 1992.

FONTES, P. C. R. ; SILVA, D. J. H. **Produção de tomate de mesa**. Viçosa: Aprenda fácil, 2002, 197p.

FRANCIS, P.B., COOPER, P.E. Rate and timing of nitrogen fertilization on yield and gross revenue of fresh market tomatoes following a winter legume cover crop. **Journal of Vegetable Crop Production**, v.4, n.1, p. 55-65, 1998.

FREITAS, S.S. & PIZZINATTO, M.A. Interações de *Pseudomonas* sp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* na rizosfera de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathol.**, 17:105-112, 1991.

FREITAS, S.S.; DE MELO, A.M.T.; DONZELI, V.P. Promoção de crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 61-70, 2003.

FROMMEL, M.I.; NOWAK, J.; LAZAROVITS, G. Growth enhancement and developmental modifications of *in vitro* growth potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) as affected by nonfluorescent *Pseudomonas* sp. **Plant Physiology**, v.96, p.928-936, 1991.

FUENTES-RAMIREZ, L. E.; JIMENES SALGADO, T.; ABARCA-OCAMPO, I. R.; CABALLERO-MELLADO, J. *Acetobacter diazotrophicus* na indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of México. **Plant and Soil**, v.154, p.145-150, 1993.

GARRITY, G.M. & HOLT, J.G. **The road map to the Manual**. In: BOONE, D.R. & CATENHOLZ, R.W., eds. Bergey's manual of systematic bacteriology. New York, Springer-Verlag, v.1. p.119-166, 2001.

GASONI, L.; COZZI, J.; KOBAYASHI, K.; YOSSEN, V.; ZUMELZU, G.; BABBITT, S. & KAHN, N. Yield response of lettuce and potato to bacterial fungal inoculants under field conditions in Cordoba (Argentina). **Zeitschrift Fur Pflanzenkheiten Und Pflanzenschutz – J. Plant Diseases Protec.**, 108:530-535, 2001.

GERHARDSON, B. Biological substitutes for pesticides. **Trends in Biotechnology**, Cambridge, v. 20, p. 338-343, 2002.

GERMIDA, J.J.; FREITAS, J.R. Growth promotion of cabbage, lettuce and onion by fluorescent pseudomonads under growth chamber conditions. In: WORKSHOP ON PLANT GROWTH-PROMOTING RHIZOBACTERIA, 3.,1994, Adelaide. **Proceedings... Adelaide: OEDC-OEDC**, p. 37-39, 1994.

GIORDANO, L. B. & RIBEIRO, C. S. C. **Tomate para processamento industrial**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia / Embrapa Hortaliças, p.12- 13, 2000.

GIOVANNONI, J. J. Molecular Biology of Fruit Maturation and Ripening. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 52:725-749, 2001.

GLICK, B.R.; BASHAN, Y. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. **Biotechnology Advances**, v.15, n.2, p.353-378, 1997.

GLICK, B. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 41, p. 109-117, 1995.

GONÇALVES, J. L. M. et ai. Produção de mudas de espécies nativas: substrato, nutrição, sombreamento e fertilização. In: GONÇALVES, J.L.M; BENEDETTI, V. **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, p. 310-350, 2000.

GUALBERTO, R.; BRAZ, L.T.; BANZATTO, D.A. Produtividade, adaptabilidade e estabilidade fenotípica de cultivares de tomateiro sob diferentes condições de ambiente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.1, p.81-88, 2002.

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W.F.; KLOEPPER, J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p.895-914, 1997.

HARMAN, G.E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T- 22. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, p.377-393, 2000.  
HINTON, D.M.; BACON, C.E. *Enterobacter cloacae* is an endophytic symbiont of corn. **Mycopathologia**, v.129, p.117-125, 1995.

HOLLAND, M.A.; POLACCO, J.C. PPFMs and other covert contaminants: is there more to plant physiology than just plant? **Annual Review of Plant** . Physiology and Plant Molecular Biology, v.45, p. 197-209, 1994.

HOLLAND, M.A. Occam's razor applied to hormology. Are cytokinins produced by plants? **Plant Physiology**, V. 115, p. 865-868, 1997.

HUETT, D.O., DETTMANN, E.B. Effect of nitrogen on growth, fruit quality and nutrient uptake of tomatoes grown in sand culture. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.28, n.3, p.391-399, 1988.

HUNGRIA, M.; BODDEY, L.H.; SANTOS, M.A. & VARGAS, M.A.T. Nitrogen fixation capacity and nodule occupancy by **Bradyrhizobium japonicum** and **B. elkanii** strains. *Biol. Fertil. Soils*, 27:393-399, 1998.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 48 p, (Embrapa Soja. Circular Técnico 13), 2001.

HUNTER, D.J., TUIVAVALAGI, N.S. Effect of organic matter and frequent fertiliser applications on tomato production in a coralline soil. **Journal of South Pacific Agriculture**, v.5, n.2, p.63-65, 1998.

JACOBS, M.J.; BUGBEE, W.M.; GABRIELSON, D.A. Enumeration, location and characterization of endophytic bacteria within sugar beet roots. **Canadian Journal of Botany**, v.63, p.1262-1265, 1985.

JENSEN, E.S.; HAUGGAARD-NIELSEN, H. How can increased use of biological N<sub>2</sub> fixation in agriculture benefit the environment? **Plant and Soil**, v.252, p.177-186, 2003.

JAIN, D.K.; PATRIQUIN, D.G. Characterization of a substance produced by *Azospirillum* which causes branching of wheat root hairs. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 31, p. 206-210, 1985.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; WANI, P. A. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agricultura - a review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 27, n. 1, p. 29-43, 2007.

KIJIMA, T.; YONAI, S.; OOHASHI, K.; AMAGAI, M. **Process for biologically preenting dicotyledoneous plant diseases using symbiotical bacteria**. USA Patent No. 5.401.655 (28/03/1993), 12p, 1993.

KROPP, B.R.; LANGLOIS, C.G. Ectomycorrhizae in reforestation. **Canadian Journal of Microbiology**, v.20, n.4, p.438-451, 1990.

KLOEPPER, J. W.; SCHROTH, M. N. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. **Proceedings of the IVth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria**, Angers, v. 2, p. 879-882, 1978.

KLOEPPER, J.W. Current status and future trends in biocontrol research and development in the U.S. **Anais**, International Symposium on Clean Agriculture. Sapporo, Japan., pp.49-52, 1997.

KNUDSEN, G.E.; SPURR, H.W. Field persistence and efficacy of five bacterial preparations to control peanut leaf spot. **Plant Disease**, v.71, p.442-445, 1987.

KOENIG, R.L.; MORRIS, R.O.; POLACCO, J.C. tRNA is the source of low-level transzeatin production in *Methylobacterium* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v.184, p.1832-1842, 2002.

KOWALSKI, T.; SADLOWSKI, W. Endophytic fungi II. Their importance for plants and possibilities of use. **Sylwan**, v.137, n.10, p.9-15, 1993.

KUKLINSKY-SOBRAL, J.; ARAÚJO, W.L.; MENDES, R.; GERALDI, I.O.; PIZZIRANIKLEINER, A.A.; AZEVEDO, J.L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 6, p. 1244-1251, 2004.

LACAVA, P.T.; ARAÚJO, W.L.; MARCON, J.; MACCHERONI JUNIOR, W.; AZEVEDO, J.L. Interaction between endophytic bacteria from citrus plants and the phytopathogenic bacteria *Xylella fastidiosa*, causal agent of citrus-variegated chlorosis. **Letters in Applied Microbiology**, v.39, p.55-59, 2004.

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; BROEK, A. V.; VANDERLEYDEN, J. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, London, v. 8, p. 298-300, 2000.

LATA, H.; LI, X.C.; SILVA, B.; MORAES, R.M.; HALDA-ALIJA, L. Identification of IAA-producing endophytic bacteria from micropropagated Echinacea plants using 16S rRNA sequencing. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, New York, v. 85, p. 353-359, 2006.

LAZAROVITZ, G. & NOWAK, J. Rhizobacterium for improvement of plant growth and establishment. **Hortscience**, 32:188-192. 1997.

LEBEN, C. How plant pathogens survive. **Plant Disease**, v.65, n.8, p.633-637, 1981.

LEEMAN, S.; VAN PELT, J. A.; DEN OUDEN, F.M.; HEINSBROEK, M.; BAKKER, P.A.H.M.; SCHPPERS, B. Induction of systemic resistance against *Fusarium wilt* of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. **Phytopathology**, v. 85, p. 1021-1027, 1995.

LI, J. H.; WANG, E.T.; CHEN, W.F.; CHEN, W.X. Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, p. 238-246, 2008.

LUTZ, M.P.; WENGER, M.; MAURHOFER, M.; DFAGO, G; DUFFY, B. Signaling between bacterial and fungal biocontrol agents in a strain mixture. **FEMS Microbiology Ecology**, Umsterdam, v. 48, p. 447-455, 2004.

MACHADO, J.C. Tratamento de sementes no controle de doenças. In: **Bases biológicas do tratamento de sementes**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, cap. 2, p. 3-24, 2000.

MACHADO, J.O.; BRAZ, L.T. & GRILLI, G.V.G. Caracterização dos frutos de cultivares de tomateiro tipo cereja cultivados em diferentes espaçamentos. In: 43 Congresso Brasileiro de Olericultura, 2003, Recife (PE). **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.21, n.2, julho, Suplemento 2. CD – ROM, 2003.

MADHAIYAN, M.; KIM, B. Y.; POONGUZHALI, S.; KWON, S. W.; SONG, M. H.; RYU, J. H.; GO, S. J.; KOO, B. S.; SÁ, T. M. *Methylobacterium oryzae* sp nov., an aerobic, pink-pigmented, facultatively methylotrophic, 1-aminocyclopropane-L-carboxylate deaminase-producing bacterium isolated from rice. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Reading**, v. 57, p. 326-331, 2007.

MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; LEE, H. S.; HARI, K.; SUNDARAM, S. P.; SÁ, T. M. Pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria accelerate germination, growth and yield of sugarcane clone Co86032 (*Saccharum officinarum* L.). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 41, n. 5, p. 350-358, 2005.

MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; SENTHILKUMAR, M.; SESHADRI, S.;

CHUNG, H. Y.; YANG, J. C.; SUNDARAM, S.; SÁ T. M. Growth promotion and induction of systemic resistance in rice cultivar Co-47 (*Oryza sativa* L.) by *Methylobacterium* spp. **Botânica Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 45, n. 4, p. 315-324, 2004.

MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; SUNDARAM, S. P.; SÁ, T. A new insight into foliar applied methanol influencing phylloplane methylotrophic dynamics and growth promotion of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Environmental and Experimental Botany**, New York, v. 57, n. 1/2, p. 168-176, 2006.

MADHAIYAN, M.; REDDY, B. V. S.; ANANDHAM, R.; SENTHILKUMAR, M.; POONGUZHALI, S.; SUNDARAM, S. P.; SÁ, T. M. Plant growth-promoting *Methylobacterium* induces defense responses in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) compared with rot pathogens. **Current Microbiology**, New York, v. 53, n. 4, p. 270-276, 2006.

MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W.; VAN VUURDE, J. W. L.; VAN DER WOLF, J. M.; VAN DEN BRINK, M. Endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* by *Pseudomonas fluorescens* strain 89b-27 and *Enterobacter asburiae* strain JM22. In: RYDER, M.H.; STEPHENS, P.M.; BOWEN, G.D. **Improving plant productivity in rhizosphere bacteria**. Melbourne: CSIRO, Melbourne, 1997. p. 180.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997, 319 p.

MARIANO, R.L.R.; KLOEPPER, J.W. Método alternativo de biocontrole: resistência sistêmica induzida por rizobactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 8, p. 121-137, 2000.

MARCOS FILHO, J. Importância das sementes. In: **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, cap. 2, 2005, p. 27-40.

MARTINS, M. B. G. ; CASTRO, P. R. C. Aspectos morfoanatômicos de frutos de tomateiro cultivar *Ângela Gigante*, submetidos a tratamento com reguladores vegetais. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 2, p. 225-236, 1997a.

MARTINS, M. B. G. ; CASTRO, P. R. C. Biorreguladores na morfologia e na produtividade de frutos de tomateiro cultivar *Ângela Gigante*. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 2, p. 237-248, 1997b.

MARX, D.H.; CORDELL, C.E. The use of specific ectomycorrhizas to improve artificial forestation practices. In: WHIPPS, J.M.; LUMSDEN, R.D. (Ed.). **Biotechnology of fungi for improving plant growth**. Cambridge: Cambridge University Press, p.1-25, 1989.

McINROY, J.A.; KLOEPPER, J.W. Analysis of population densities and identification of endophytic bacteria of maize and cotton in the field. **Bulletin Srop**, v.14, p.328-331, 1991.  
McINROY, J.A.; KLOEPPER, J.W. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. **Plant and Soil**, v.173, n.2, p.337-342, 1995a.

McINROY, J.A.; KLOEPPER, J.W. Population dynamics of endophytic bacteria in field-grown sweet corn and cotton. **Canadian Journal of Microbiology**, v.41, p.895-901, 1995b.

MELO, P.C.T. **Melhoramento genético do tomateiro**. ASGROW, 55p, 1989.

MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo: Ciba Agro, cap.3, p.115-136, 1991.

MISAGHI, I.J.; DONNDELINGER, C.R. Endophytic bacteria in symptom-free cotton plants. **Phytopathology**, v.80, p.808-811, 1990.

M'PIGA, P.; BÉLANGER, R.R.; PAULITZ, T.C.; BENHAMOU, N. Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicislycopersici* in tomato plants treated with the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 63-28. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.50, p.301-320, 1997.

MUKHOPADHYAY, N.K.; GARRISON, N.K.; HINTON, D.M.; BACON, C.W.; KHUSH, G.S.; PECK, H.D.; DATTA, N. Identification and characterization of bacterial endophytes of rice. **Mycopathologia**, v.134, p.151-179, 1996.

MUNDT, J.O.; HINKLE, N.F. Bacteria within ovules and seeds. **Applied and Environmental Microbiology**, v.32, p.694-698, 1976.

MURRAY, F. R.; LATCH, G. C. M.; SCOTT, D. B. Surrogate transformation of perennial ryegrass, *Lolium perenne*, using genetically modified *Acremonium* endophyte. **Molecular General Genetics**, 233: 1-9, 1992.

MUSSON, G. **Ecology and effects of endophytic bacteria in plants**. Máster Dissertation, Auburn University, Auburn. 1994.

MUSSON, G.; Mc INROY, J.A.; KLOEPPER, J.W. Development of delivery systems for introducing endophytic bacteria into cotton. **Biocontrol Science and Technology**, v.5, n.4, p.407-416, 1995.

NAGAI, H. **Avanços obtidos com o melhoramento genético do tomate no Brasil**. In: Encontro nacional de produção e abastecimento de tomate, 1989, Viçosa, MG. Anais...Viçosa, p.88-101, 1989.

NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth médium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters, Amsterdam**, v. 170, p. 265-270, 1999.

NEWMAN, L.A.; REYNOLDS, C.M. Bacteria and phytoremediation: new uses for endophytic bacteria in plants. **Trends in Biotechnology**, v.23, p.6-8, 2005.

PANORAMABRASIL. Disponível em:  
[http://www.panoramabrasil.com.br/noticia\\_completa.asp?p=conteudo/txt/2005/02/23/21261672.htm](http://www.panoramabrasil.com.br/noticia_completa.asp?p=conteudo/txt/2005/02/23/21261672.htm). Acesso em: 15 dez de 2007.

PATTEN, C. L.; GLICK, B.R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p3795-3801, 2002.

PEIXOTO NETO, P.A. de S.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. de. Microrganismos endofíticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.29, p.62-77, 2002.

PERALTA, I.E.W.; SPOONER, D.M. **Classification of wild tomatoes**: a review. *Kurtziana*, v.28, p.45-54, 2000.

PERALTA, I.E.W.; SPOONER, D.M. Granule-bound starch synthetase (GBSSI) gene phylogeny of wild tomatoes (*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill) Wettst. Subsection *Lycopersicon*). **American Journal of Botany**, v.88, p.1888-1902. 2001.

PEREIRA, J. O. **Fungos endofíticos dos hospedeiros tropicais *Stylosanthes guianensis* e *Musa cavandish***. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo. Piracicaba, p.105, 1993.

PEREIRA, J. O.; VIEIRA, M. L. C.; AZEVEDO, J. L. Endophytic fungi from *Musa acuminata* and their reintroduction into axenic plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 43-46,1999.

PILLAY, V. K.; NOWAK, J. Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon*

*esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. **Canadian Journal Microbiology**, 43:354-361, 1997.

PIRTTILA, A. M.; LAUKKANEN, H.; POSPIECH, H.; MYLLYLA, R.; HOHTOLA, A. Detection of intracellular bacteria in the buds of Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) by in situ hybridization. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 7, p. 3073-3077, 2000.

PIRTTILA, A. M.; POSPIECH, H.; LAUKKANEN, H.; MYLLYLA, R.; HOHTOLA, A. Seasonal variations in location and population structure of endophytes in buds of Scots pine. **Tree Physiology**, Victoria, v. 25, n. 3, p. 289-297, 2005.

POSTALI LGB; SILVA EC; MACIEL GM. Produção de híbridos comerciais de tomateiro do grupo cereja cultivados no sistema hidropônico com diferentes números de hastes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 44. **Resumos...** Campo Grande: ABH (CD-ROM), 2004.

PRADHAN, N.; SUKLA, L. B. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v. 5, n. 10, p. 850-854, 2006.

PROCÓPIO, R.E.L. **Diversidade bacteriana endofítica de *Eucalyptus* spp. e avaliação do seu potencial biotecnológico.** 2004.101 p. Tese (Doutorado na área de Biotecnologia). Universidade de São Paulo/Instituto Butantan/ Instituto de Pesquisas Tecnológicas, São Paulo, 2004.

PRODUCTION COFFEE GREEN. **FAO Quarterly Bulletin of Statistics**, Roma, 3(4):17, 1990.

QUADTHALLMANN, A.; BENHAMOU, N.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in cotton: mechanisms of entering the plant. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n. 6, p. 577-582, 1997.

QUADTHALLMANN, A.; HALLMANN, J.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in cotton: location and interaction with other plant associated bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n.3, p. 254-259, 1997.

QUADT-HALLMANN, A.; KLOEPPER, J.W. Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM22 in different plant species. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 1144-1154, 1996.

QUADT-HALLMANN, A.; HALLMANN, J.; KLOEPPER, J.W. Bacterial endophytes in cotton: location and interaction with other plant-associated bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, n.3, p.254-259, 1997.

QUISPEL, A. A search for signals in endophytic microorganisms. In: VERMA, D.P.S. (Ed.). **Molecular signals in plant-microbe communications**. Boca Raton: CRC Press, p.471-490, 1992.

RAHMAN, M.A., SAHA, J.H.U.K., CHOWDHURY, A.R., CHOWDHURY, M.M.U. Growth and yield of tomato as influenced by fertilizers and manure. **Annals of Bangladesh Agriculture**, v.6, n.1, p.71-74, 1997.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. Regulando o crescimento e o desenvolvimento: os hormônios vegetais. In: Raven, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S. E. (ED.) **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RICK, C. M.; YODER, J. I. Classical and Molecular Genetics of Tomato: Highlights and Perspectives. **Annual Review of Genetics**, 22:281-300, 1988.

RODRÍGUEZ, H. & FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnol. Adv.**,17:319-339, 1999.

RUPPEL, S.; HECHT – BUCHHOLZ, C.; REMUS, R.; ORTMANN, U.; SCHMELZER, R. Settlement strain *Pantoea agglomerans* on and within winter wheat. An investigation using ELISA and transmission electron microscopy. **Plant and Soil**, v. 145, p261-273, 1992.

SALEK, R.C., ALMEIDA, D.L., OLIVEIRA, M.F., PENTEADO, A.F. Efeito do esterco de galinha e sua associação com fertilizantes sobre a produção do tomateiro no município de Teresópolis-RJ. Niterói: **PESAGRO-Rio**, 3p, 1981.

SAM, O.; IGLESIAS, L. Caracterización del proceso de floración-fructificación en variedades de tomate en dos épocas de siembra. **Cultivos Tropicales**, v.15, n.2, p.34-43, 1994.

SEAGRI - SECRETARIA DE AGRICULTURA, IRRIGAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA - Bahia. **Cultura-tomate**. Embrapa, Bahia. Disponível em:  
<<http://www.bahia.ba.gov.br/seagri/tomate.htm> > Acesso em: 8 mai. 2009.

SFREDO, J.G.; PALUDZYSZYN FILHO, S. GOMES, E.R. (1994) Resposta da soja a potássio e a fósforo em podzólico vermelho-amarelo em Balsas, MA. **Pesquisa**

**Agropecuária Brasileira**, v.29, n.9, p.1359-1364.

SILVA JÚNIOR, A.A.; VIZZOTO, V.J. Adubação do tomateiro e seu efeito residual. **Agropecuária Catarinense**, v.2, n.4, p.37-39, 1989.

SILVA, E.C. Efeito de doses de nitrogênio (nitrocálcio) e potássio (cloreto de potássio) na produção e em algumas características qualitativas dos frutos do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill), cultivar Santa Clara, podado e adensado. **Lavras**, 1994.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. Tomate para processamento industrial. Brasília: **Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia** - Embrapa Hortaliças, 168p, 2000.

SILVEIRA, E.B. Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontrole de doenças. In: R. Barros & S.J. Michereff. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife, Imprensa Universitária da UFRPE, p.71-100, 2001.

SINGH, A.K., SHARMA, J.P. Studies on the effect of variety and level of nitrogen on plant growth and development and yield of tomato hybrids (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Annals of Agricultural Research**, v.20, n.4, p.502-503, 1999.

SHIOMI, H.F. **Efeito de bactérias endofíticas do cafeeiro no controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix*)**. Dissertação de Mestrado, UNESP, Botucatu, SP. 65p, 2004.

SOUZA, A. P.; SAMPAIO, R. A.; COUTINHO, O. Produtividade da cenoura em Roraima submetida à diferentes fontes de adubos orgânicos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 279, 1995.

SOUZA, J. L. **Agricultura orgânica**. Vitória: EMCAPA, v. 1, p. 169, 1998.

STROBEL, G.A. Rainforest endophytes and bioactive products. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.22, n.4, p.315-333, 2002.

STURZ, A.V.; CHRISTIE, B.R.; MATHESON, B.G.; ARSENAULT, W.J.; BUCHANAN, N.A. Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens. **Plant Pathology**, v.48, p.360-369, 1999.

SY, A; GIRAND, E.; JOURAND, P., GARCIA, N.Y., WILLEMS, A., DE LAJUDIE, P, PRIN, Y., NEYRA, N., GILLIS, M., BOVINMASSON, C., DREYFUS, B. Methylothetic

Methylobacterium bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of Bacteriology**, v.183 p.214-220. 2001.

TANAKA, A.; FUJITA, K. Nutrio-physiological studies on the tomato plant. IV. Source-sink relationship and structure of the source-sink unit. **Soil Science Plant Nutritional**. Sapporo, v. 20, n. 2, p. 305-315, 1974.

TAYLOR, T.N.; TAYLOR, E.L. The rhynie chert ecosystem: a model for understanding fungal interactions. In: BACON, C.W.; WHITE, J.F. (Ed.). **Microbial endophytes**. New York: Marcel Decker, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto alegre: Artmed, 2004, 719p.

THRANE, C.; NIELSEN, T.H.; NIELSEN, M.N.; SORENSEN, J.; OLSSON, S. Viscosinamide-producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 33, p. 139-146, 2000.

TOLONEN, M. **Vitaminas y minerales en la salud y La nutrición**. Zaragoza. Acribia, p.133-140, 150-155, 1995.

TRENTINI, P. **Peliculização**: preservação da qualidade de sementes de soja e desempenho no estabelecimento da cultura em campo na região de Alto Garças, MT. 2004. 117 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

TURNER, J.T.; BACKMAN, P.A. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. **Plant Disease**, v. 75, n. 4, p. 347- 353, 1991.

VERMA, S.C.; LADHA, J.K.; TRIPATHI, A.K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. **Journal of Biotechnology**, v.91, p.127-141, 2001.

WARD, G.M. Growth and nutrient absorption in greenhouse tomato and cucumber. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v.90, p.335-341, 1967.

WENHUA, T. & HETONG, Y. Research and application of biocontrol of plant diseases and PGPR in China. **Anais**, 40 International Workshop On Plant Growth-Promoting rhizobacteria.. Sapporo, Japan, pp.2-9, 1997.

WHITESIDES, S.K.; SPOTTS, R.A. Frequency, distribution and characteristics of endophytic *Pseudomonas syringae* in pear trees. **Phytopathology**, v.81, p.453-457, 1991.

WHITE JR., J.F.; MARTIN, T.I.; CABRAL, D. Endophyte-host associations in grasses. XXII. Conidia formation by *Acremonium* endophytes on the phyllplanes of *Agrostis hiemalis* and *Poa rigidifolia*. **Mycologia**, v.88, n.2, p.174-178, 1996.

WILLITS, D.H., PEET, M.M. The effect of night temperature on greenhouse grown tomato yields in warm climates. **Agricultural and Forest Meteorology**, v.92, n.3, 91-202, 1998.

YANG, C.H.; CROWLEY, D.E. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, p.345-351, 2000.

YUEN, G.Y.; SCHROTH, M.N. Interactions of *Pseudomonas fluorescens* strain E6 with ornamental plants and its effect on the composition of root-colonizing microflora. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 76, p. 176-180, 1986.

ZAADY, E.; PEREVOLOTSKY, A.; OKON, Y. Promotion of plant growth by inoculum with aggregated and single cell suspensions of *Azospirillum brasilense* Cd. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 819-823, 1993.

ZHANG, S-A., XU, W-M., YAN, Z-N. & MEI, R-H. Research and commercialization of yield increasing bacteria (YIB) in China. In: TANG, W., COOK, R.J. & ROVIRA, A. (Eds) **Advances in biological control of plant diseases**. Beijing. China Agricultural University Press, pp. 47-53, 1996.

## **APENDICE A – Resultados observados**

**Tabela 6:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 26/11/2007 a 29/11/2007.

Tomate Cereja Samambaia 26/11/2007					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	90	100	100	80	80
Bactéria A14B	60	100	100	90	90
Bactéria A74	90	80	100	90	100
Bactéria B40	100	100	100	100	100
Bactéria B44	100	90	100	100	80
Bactéria B69	100	100	100	90	90
Bactéria B74	100	100	60	90	90
Bactéria B75	100	100	80	90	90
Bactéria B77	100	100	100	100	100
Bactéria LGM86	100	100	90	80	100
Controle	100	100	100	90	70

**Tabela7:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 29/11/2007 a 02/12/2007.

Tomate Cereja Samambaia 29/11/2007					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	90	100	100	90	90
Bactéria A14B	70	100	100	100	100
Bactéria A17	100	100	70	100	100
Bactéria A74	80	100	90	100	90
Bactéria B44	100	100	100	100	100
Bactéria B62	100	100	90	100	100
Bactéria B74	100	100	90	100	100
Bactéria C2	100	100	100	100	100
Bactéria LGM86	100	100	90	100	100
Controle	100	100	100	100	100

**Tabela 8:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 15/01/2008 a 18/01/2008.

Tomate Cereja Samambaia 15/01/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A10	100	90	100	90	100
Bactéria A14B	80	90	100	100	100
Bactéria A15	80	90	80	90	90
Bactéria A16	90	100	100	100	90
Bactéria A17	100	90	100	100	100
Bactéria A21	80	90	100	80	90
Bactéria A50	100	100	70	100	100
Bactéria A58	70	90	90	100	100
Bactéria A74	80	70	90	90	100
Bactéria B40	100	100	90	90	90
Bactéria B60	90	90	100	100	100
Bactéria B61	70	100	100	80	90
Bactéria B62	90	90	100	100	100
Bactéria B75	100	90	90	100	80
Bactéria B77	90	100	90	80	90
Controle	90	100	100	100	100

**Tabela 9:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 18/01/2008 a 21/01/2008.

Tomate Cereja Samambaia 18/01/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A10	100	90	100	100	100
Bactéria A14B	80	100	100	100	100
Bactéria A15	90	90	90	100	100
Bactéria A16	100	100	100	100	100
Bactéria A21	90	90	100	80	90
Bactéria A50	100	100	90	100	100
Bactéria A58	90	100	100	100	90
Bactéria A74	100	100	80	90	90
Bactéria B40	100	100	100	90	100
Bactéria B60	90	90	100	100	100
Bactéria B61	90	100	100	100	90
Bactéria B62	90	90	100	100	100
Bactéria B75	100	100	90	100	80
Bactéria B77	100	100	90	80	100
Controle	100	100	100	100	100

**Tabela 10:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 22/01/2008 a 25/01/2008.

Tomate Cereja Samambaia 22/01/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A07	100	90	100	100	100
Bactéria A09	90	100	90	80	90
Bactéria A59	90	100	90	100	100
Bactéria A74	90	90	100	90	100
Bactéria A75	100	100	100	90	100
Bactéria A76	90	90	100	100	100
Bactéria B69	100	100	100	90	90
Bactéria B74	90	100	100	100	90
Bactéria B76	90	100	90	100	90
Bactéria LGM86	90	60	100	100	100
Controle	100	100	90	90	80

**Tabela 11:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 25/01/2008 a 28/01/2008.

Tomate Cereja Samambaia 25/01/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A07	100	90	100	100	100
Bactéria A09	90	100	90	90	90
Bactéria A40	90	100	100	100	100
Bactéria A55	90	90	100	100	90
Bactéria A59	100	100	100	100	100
Bactéria A75	100	100	100	90	100
Bactéria A76	100	90	100	100	100
Bactéria B40	90	100	90	100	100
Bactéria B60	100	100	100	100	90
Bactéria B69	100	100	100	100	100
Bactéria B74	90	100	100	100	90
Bactéria B76	90	100	90	100	90
Bactéria LGM86	100	60	100	100	100
Controle	100	100	90	90	90

**Tabela 12:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 06/02/2008 a 09/02/2008.

Tomate Cereja Samambaia 06/02/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	100	80	100	90	100
Bactéria A02	90	100	100	90	100
Bactéria A13	90	100	90	90	90
Bactéria A14A	100	90	100	100	90
Bactéria A17	100	80	100	80	100
Bactéria A58	100	70	80	100	90
Bactéria B60	100	100	100	100	100
Bactéria B75	100	90	100	100	90
Bactéria C2	100	90	100	100	100
Controle	100	80	100	100	100

**Tabela 13:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 09/02/2008 a 12/02/2008.

Tomate Cereja Samambaia 09/02/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	100	90	100	90	100
Bactéria A02	90	100	100	90	100
Bactéria A14A	100	100	100	100	100
Bactéria A17	100	90	100	90	100
Bactéria C2	100	100	100	100	100
Controle	100	80	100	100	100

**Tabela 14:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 26/02/2008 a 29/02/2008.

Tomate Cereja Samambaia 26/02/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A55	100	100	100	100	70
Bactéria B40	100	90	100	100	90
Bactéria B60	90	100	100	100	90
Bactéria B69	100	100	100	90	100
Controle	100	90	100	100	90

**Tabela 15:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 27/02/2008 a 01/03/2008.

Tomate Cereja Samambaia 27/02/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A02	90	100	100	100	100
Bactéria A13	90	100	90	100	100
Bactéria A21	100	100	100	100	100
Bactéria A55	100	80	90	100	100
Bactéria A58	80	80	100	100	100
Bactéria A59	90	90	100	100	100
Bactéria B76	100	100	100	100	90
Bactéria B81	100	90	80	100	100
Bactéria C2	100	100	100	100	100
Bactéria LGM86	90	100	100	100	100
Controle	100	100	90	100	100

**Tabela 16:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 17/07/2008 a 20/07/2008.

Tomate Cereja Samambaia 17/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A02	100	100	100	100	100
Bactéria A10	100	100	100	100	100
Bactéria A14A	100	90	80	100	100
Bactéria A20	100	100	100	100	100
Bactéria A21	80	100	100	100	100
Bactéria A50	100	100	90	80	100
Bactéria A59	100	100	100	100	80
Bactéria A75	100	100	100	100	100
Bactéria B77	80	100	90	100	100
Bactéria B81	100	100	100	80	100
Bactéria C2	100	100	100	100	100
Controle	100	90	100	100	80

**Tabela 17:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 26/07/2008 a 29/07/2008.

Tomate Cereja Samambaia 26/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A02	100	100	100	100	100
Bactéria A09	100	100	100	100	100
Bactéria A13	100	100	100	100	100
Bactéria A14A	100	90	100	100	100
Bactéria A21	90	100	100	100	100
Bactéria A55	100	100	100	100	100
Bactéria A76	100	100	100	100	100
Controle	100	100	100	100	100

**Tabela 18:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 28/07/2008 a 31/07/2008.

Tomate Cereja Samambaia 28/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	100	100	100	90	100
Bactéria A09	100	100	100	90	100
Bactéria A15	80	10	90	100	100
Bactéria A17	100	90	90	100	100
Bactéria A20	90	40	100	80	100
Bactéria A40	70	100	80	100	100
Bactéria A76	100	80	90	100	100
Controle	100	80	70	100	100

**Tabela 19:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 29/07/2008 a 01/08/2008.

Tomate Cereja Samambaia 29/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A07	100	100	100	90	100
Bactéria A16	100	100	100	100	100
Bactéria A59	100	100	100	100	100
Controle	100	100	100	100	100

**Tabela 20:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 30/08/2008 a 02/09/2008.

Tomate Cereja Samambaia 30/08/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A09	100	100	100	100	100
Bactéria A10	100	100	90	100	100
Bactéria A13	100	90	100	100	100
Bactéria A15	90	80	100	90	100
Bactéria A20	100	100	100	100	100
Bactéria A40	100	100	90	100	100
Bactéria B44	100	100	100	100	100
Bactéria B62	90	100	100	100	100
Bactéria B76	100	100	100	100	100
Controle	100	100	100	40	100

**Tabela 21:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 31/08/2008 a 03/09/2008.

Tomate Cereja Samambaia 31/08/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A07	100	100	100	100	100
Bactéria A10	100	90	100	100	100
Bactéria A13	90	100	100	100	70
Bactéria A15	60	90	100	80	80
Bactéria A20	100	100	100	60	90
Bactéria A40	70	90	100	100	70
Bactéria B62	90	100	100	100	100
Bactéria B76	100	100	90	100	100
Bactéria B77	70	90	100	90	100
Controle	0	90	20	80	20

**Tabela 22:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 06/09/2008 a 09/09/2008.

Tomate Cereja Samambaia 06/09/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A07	100	100	100	100	100
Bactéria A58	100	100	100	100	100
Bactéria A76	100	100	100	100	60
Bactéria B44	100	100	100	90	100
Bactéria B61	100	100	100	100	100
Bactéria LGM86	100	100	100	100	100
Controle	100	100	90	100	100

**Tabela 23:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 20/09/2008 a 23/09/2008.

Tomate Cereja Samambaia 20/09/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A50	100	100	100	100	100
Bactéria A75	100	100	100	100	100
Bactéria B44	100	100	90	100	100
Controle	100	90	100	100	100

**Tabela 24:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 11/10/2008 a 14/10/2008.

Tomate Cereja Samambaia 11/10/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A14A	100	100	100	100	100
Bactéria B61 1º tratamento	100	100	100	100	90
Bactéria B61 2º tratamento	100	90	100	100	100
Controle	100	100	100	100	100

**Tabela 25:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 17/01/2009 a 20/01/2009.

Tomate Cereja Samambaia 17/01/2009					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A55	100	100	100	100	90
Bactéria B69	100	100	100	90	80
Bactéria B74	100	100	80	90	90
Bactéria B81	100	90	100	100	100
Controle	100	100	80	90	90

**Tabela 26:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 20/01/2009 a 23/01/2009.

Tomate Cereja Samambaia 20/01/2009					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A16	70	70	90	100	100
Bactéria A20	100	100	90	80	90
Bactéria B75	100	100	100	90	90
Bactéria B81	100	90	90	100	100
Controle	100	100	100	90	90

**Tabela 27:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no período de 17/02/2009 a 20/02/2009.

Tomate Cereja Samambaia 17/02/2009					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A14B	100	90	100	100	100
Bactéria A16	100	100	100	90	80
Bactéria A40	100	100	100	100	100
Bactéria A50	100	90	90	70	100
Bactéria B81	100	90	80	100	100
Controle	100	90	100	100	100

**Tabela 28:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 06/02/2008 a 11/02/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 06/02/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	100	90	80	90	80
Bactéria A02	70	90	100	90	80
Bactéria A13	100	70	100	70	80
Bactéria A14A	100	100	60	90	90
Bactéria A16	100	80	100	80	90
Bactéria A50	70	70	60	60	70
Bactéria A59	60	70	70	60	50
Bactéria B44	100	100	80	90	100
Bactéria B60	90	80	70	100	90
Bactéria B61	80	80	80	90	90
Bactéria B62	90	70	90	70	80
Bactéria C2	80	80	90	80	80
Controle	80	80	100	90	90

**Tabela 29:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 09/02/2008 a 14/02/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 09/02/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	100	100	100	90	90
Bactéria A02	90	100	100	90	80
Bactéria A13	100	100	100	80	80
Bactéria A14A	100	100	100	80	90
Bactéria A16	100	90	100	80	90
Bactéria A20	60	70	60	60	70
Bactéria A21	80	80	70	80	90
Bactéria A50	90	70	60	60	80
Bactéria A55	80	80	70	60	80
Bactéria A58	80	50	60	50	60
Bactéria A59	50	50	60	80	70
Bactéria B60	90	70	90	80	90
Bactéria B61	80	90	90	70	80
Bactéria B62	100	70	100	90	80
Bactéria C2	100	100	90	70	80
Controle	80	100	100	90	70

**Tabela 30:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 08/07/2008 a 13/07/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 08/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	80	40	10	90	60
Bactéria A02	20	50	60	50	60
Bactéria A07	50	10	20	30	40
Bactéria A09	70	50	30	30	80
Bactéria A10	0	30	0	20	70
Bactéria A14A	40	90	50	10	30
Bactéria A14B	50	80	50	60	30
Bactéria A15	70	50	50	20	70
Bactéria A16	80	80	60	60	80
Bactéria A17	70	0	60	30	60
Bactéria A20	40	20	20	10	80
Bactéria A58	20	70	60	80	40
Bactéria A59	100	20	20	10	40
Bactéria A74	50	50	10	10	80
Bactéria A75	80	30	20	50	50
Bactéria B44	50	70	50	20	60
Bactéria B62	40	90	50	80	50
Bactéria B76	50	0	30	20	30
Bactéria B81	70	30	30	10	80
Bactéria LGM86	80	40	60	50	70
Controle	80	40	10	20	60

**Tabela 31:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 10/07/2008 a 15/07/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 10/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	0	0	10	10	20
Bactéria A02	20	70	50	40	50
Bactéria A09	20	20	10	10	30
Bactéria A21	70	70	80	90	90
Bactéria A40	30	20	30	0	30
Bactéria A55	80	50	60	70	70
Bactéria A58	60	70	70	80	90
Bactéria A59	10	10	0	0	10
Bactéria A74	50	10	0	30	20
Bactéria A75	40	30	20	30	50
Bactéria B44	30	0	30	60	10
Bactéria B60	30	40	50	50	40
Bactéria B69	50	60	70	70	60
Bactéria B76	10	40	10	30	100
Bactéria B77	80	30	30	10	20
Controle	10	30	30	30	10

**Tabela 32:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 17/07/2008 a 22/07/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 17/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A10	90	100	100	90	70
Bactéria A14B	80	90	80	90	80
Bactéria A15	80	70	80	70	60
Bactéria A21	80	100	90	80	100
Bactéria A50	100	30	80	80	90
Bactéria A59	50	90	80	80	70
Bactéria A74	40	40	30	50	40
Bactéria A75	90	70	100	70	90
Bactéria B60	80	70	90	90	60
Bactéria B69	80	80	70	60	60
Bactéria B77	70	60	40	70	60
Bactéria B81	90	100	100	80	80
Bactéria C2	100	100	60	90	100
Controle	90	80	100	90	60

**Tabela 33:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 19/07/2008 a 24/07/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 19/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A01	70	90	80	90	60
Bactéria A14A	80	50	90	70	80
Bactéria A14B	60	80	60	50	70
Bactéria A15	60	70	60	60	50
Bactéria A17	80	80	90	80	60
Bactéria A20	70	50	50	80	90
Bactéria A21	60	80	90	90	90
Bactéria A40	60	50	40	80	80
Bactéria A58	40	70	60	60	60
Bactéria A74	30	30	20	20	40
Bactéria A75	90	70	100	90	90
Bactéria B44	70	90	70	40	60
Bactéria B60	80	70	90	70	80
Bactéria B69	90	70	80	80	50
Bactéria B74	40	50	30	40	40
Bactéria C2	80	90	90	70	50
Controle	90	70	100	70	70

**Tabela 34:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 26/07/2008 a 31/07/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 26/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A09	100	100	100	70	100
Bactéria A14B	100	90	100	100	90
Bactéria A15	100	100	80	90	100
Bactéria A17	100	100	90	90	100
Bactéria A20	100	90	100	100	100
Bactéria A21	100	90	100	100	100
Bactéria A40	60	50	40	80	80
Bactéria A74	20	10	30	30	20
Bactéria A76	100	100	90	100	90
Bactéria B40	70	80	100	90	100
Bactéria B69	50	50	80	80	70
Bactéria B74	30	30	50	40	50
Bactéria B77	70	80	70	90	80
Bactéria C2	90	70	100	100	60
Controle	90	70	90	100	100

**Tabela 35:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 28/07/2008 a 02/07/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 28/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A13	60	70	90	60	90
Bactéria A17	80	90	100	80	70
Bactéria A40	50	40	40	50	60
Bactéria A55	50	90	40	80	60
Bactéria A76	100	70	100	90	60
Bactéria B40	80	100	90	100	90
Bactéria B69	70	70	90	80	80
Bactéria B74	40	40	60	20	50
Bactéria B75	60	60	70	80	60
Bactéria B76	20	40	40	30	20
Bactéria B77	60	50	70	80	80
Bactéria B81	60	70	70	50	60
Bactéria LGM86	80	90	80	90	90
Controle	90	80	90	90	80

**Tabela 36:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 29/07/2008 a 03/08/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 29/07/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A07	60	60	90	60	100
Bactéria A10	80	70	60	70	40
Bactéria A15	50	80	80	70	90
Bactéria A16	60	70	60	80	60
Bactéria A55	70	90	70	50	0
Bactéria B40	80	70	80	90	80
Bactéria B75	50	60	60	70	80
Bactéria B76	40	50	40	30	40
Bactéria B81	50	50	60	60	50
Controle	80	40	80	50	90

**Tabela 37:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 30/08/2008 a 04/09/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 30/08/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A07	100	100	90	90	90
Bactéria A13	80	90	80	100	80
Bactéria A76	70	70	80	80	90
Bactéria B40	70	100	80	90	90
Bactéria B74	50	50	40	30	40
Bactéria B75	80	80	60	80	70
Bactéria B76	100	90	80	90	100
Bactéria B62	50	80	90	90	100
Bactéria B81	70	70	80	50	60
Bactéria LGM86	80	90	80	100	70
Controle	100	100	100	50	70

**Tabela 38:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 06/09/2008 a 11/09/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 06/09/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A07	90	80	100	100	90
Bactéria A58	70	40	90	70	60
Bactéria A76	80	100	80	90	80
Bactéria B40	90	70	80	90	100
Bactéria B61	80	90	90	70	90
Bactéria B74	60	60	50	40	40
Bactéria B75	70	80	90	60	60
Bactéria LGM86	100	90	70	100	100
Controle	60	80	100	90	70

**Tabela 39:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 20/09/2008 a 25/09/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 20/09/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A50	60	90	100	30	100
Bactéria A75	80	100	100	100	90
Bactéria B75	90	50	50	70	70
Controle	90	100	40	30	40

**Tabela 40:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 11/10/2008 a 16/10/2008.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 11/10/2008					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria B61 1° tratamento	70	80	100	60	90
Bactéria B61 2° tratamento	100	100	80	100	60
Controle	90	80	10	60	90

**Tabela 41:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 17/01/2009 a 22/01/2009.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 17/01/2009					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A02	60	80	60	60	70
Bactéria A13	50	50	70	70	80
Bactéria A15	60	50	30	60	90
Bactéria A40	60	50	40	40	70
Bactéria A55	50	30	30	50	60
Bactéria LGM86	60	80	70	60	80
Controle	40	40	10	50	40

**Tabela 42:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 20/01/2009 a 25/01/2009.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 20/01/2009					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A07	100	100	80	90	90
Bactéria A09	100	90	90	100	80
Bactéria A10	80	90	70	70	60
Bactéria A14A	90	90	100	80	90
Bactéria A16	90	90	90	90	80
Bactéria A17	100	100	90	90	90
Bactéria A20	90	80	60	100	90
Bactéria B44	100	100	80	90	100
Bactéria B62	70	100	100	90	90
Bactéria B76	100	80	80	80	80
Bactéria B77	100	100	100	90	100
Controle	100	90	100	80	90

**Tabela 43:** Análise do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no período de 17/02/2009 a 22/02/2009.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 17/02/2009					
	Repetição 1 (%)	Repetição 2 (%)	Repetição 3 (%)	Repetição 4 (%)	Repetição 5 (%)
Bactéria A09	60	70	70	50	60
Bactéria A10	20	80	80	70	70
Bactéria A14B	30	70	30	70	80
Bactéria A50	60	90	70	60	80
Controle	80	50	90	70	80

**Tabela 44:** Média e Desvio Padrão do Processo de Germinação em Tomate Cereja Samambaia, no testes realizados no período de 26/11/2007 a 17/02/2009.

Bactéria	Média	Desvio Padrão
Bactéria A01	94,4	0,64
Bactéria A02	98	3,18
Bactéria A07	98,8	3,75
Bactéria A09	96,4	2,05
Bactéria A10	98	3,18
Bactéria A13	95,6	1,48
Bactéria A14A	98	3,18
Bactéria A14B	94	0,35
Bactéria A15	86	5,30
Bactéria A16	95,2	1,20
Bactéria A17	95,2	1,20
Bactéria A20	92,8	0,49
Bactéria A21	94,4	0,64
Bactéria A40	93,2	0,21
Bactéria A50	97,2	2,62
Bactéria A55	96	1,77
Bactéria A58	93,2	0,21
Bactéria A59	97,6	2,90
Bactéria A74	91,2	1,63
Bactéria A75	96,8	2,33
Bactéria A76	96	1,77
Bactéria B40	96,8	2,33
Bactéria B44	98	3,18
Bactéria B60	97,2	2,62
Bactéria B61	96	1,77
Bactéria B62	97,2	2,62
Bactéria B69	96,8	2,33
Bactéria B74	94	0,35
Bactéria B75	94	0,35
Bactéria B76	96,8	2,33
Bactéria B77	93,6	0,07
Bactéria B81	96	1,77
Bactéria C2	99,6	4,31
Bactéria LGM86	96	1,77
Controle	93,5	0,00

**Tabela 45:** Média e Desvio Padrão do Processo de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante, no testes realizados no período de 06/02/2008 a 17/02/2009.

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A01	65,2	4,24
Bactéria A02	67,6	2,55
Bactéria A07	76,4	3,68
Bactéria A09	64	5,09
Bactéria A10	64,4	4,81
Bactéria A13	80	6,22
Bactéria A14A	78	4,81
Bactéria A14B	70,8	0,28
Bactéria A15	82	7,64
Bactéria A16	81,6	7,35
Bactéria A17	79,2	5,66
Bactéria A20	69,6	1,13
Bactéria A21	86	10,47
Bactéria A40	48,8	15,84
Bactéria A50	72,8	1,13
Bactéria A55	59,6	8,20
Bactéria A58	62,4	6,22
Bactéria A59	48,4	16,12
Bactéria A74	30,4	28,85
Bactéria A75	69,2	1,41
Bactéria A76	85,6	10,18
Bactéria B40	86,4	10,75
Bactéria B44	65,2	4,24
Bactéria B60	72,4	0,85
Bactéria B61	84	9,05
Bactéria B62	80,4	6,51
Bactéria B69	70	0,85
Bactéria B74	42,8	20,08
Bactéria B75	68,4	1,98
Bactéria B76	45,2	18,38
Bactéria B77	67,6	2,55
Bactéria B81	63,2	5,66
Bactéria C2	84	9,05
Bactéria LGM86	78,4	5,09
Controle	71,2	0,00

**Tabela 46:** Média e Desvio Padrão do Processo de Germinação que possuem efeito benéfico quando comparado ao grupo controle em Tomate Cereja Samambaia.

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Controle	93,5	0,00
Bactéria B77	93,6	0,07
Bactéria A14B	94	0,35
Bactéria B74	94	0,35
Bactéria B75	94	0,35
Bactéria A01	94,4	0,64
Bactéria A21	94,4	0,64
Bactéria A16	95,2	1,20
Bactéria A17	95,2	1,20
Bactéria A13	95,6	1,48
Bactéria A55	96	1,77
Bactéria A76	96	1,77
Bactéria B61	96	1,77
Bactéria B81	96	1,77
Bactéria LGM86	96	1,77
Bactéria A09	96,4	2,05
Bactéria A75	96,8	2,33
Bactéria B40	96,8	2,33
Bactéria B69	96,8	2,33
Bactéria B76	96,8	2,33
Bactéria A50	97,2	2,62
Bactéria B60	97,2	2,62
Bactéria B62	97,2	2,62
Bactéria A59	97,6	2,90
Bactéria A02	98	3,18
Bactéria A10	98	3,18
Bactéria A14A	98	3,18
Bactéria B44	98	3,18
Bactéria A07	98,8	3,75
Bactéria C2	99,6	4,31

**Tabela 47:** Média e Desvio Padrão do Processo de Germinação que possuem efeito inibitório quando comparado ao grupo controle em Tomate Cereja Samambaia.

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A15	86	5,30
Bactéria A74	91,2	1,63
Bactéria A20	92,8	0,49
Bactéria A40	93,2	0,21
Bactéria A58	93,2	0,21
Controle	93,5	0,00

**Tabela 48:** Média e Desvio Padrão do Processo de Germinação que possuem efeito benéfico quando comparado ao grupo controle em Tomate Santa Cruz Kada Gigante.

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Controle	71,2	0,00
Bactéria B60	72,4	0,85
Bactéria A50	72,8	1,13
Bactéria A07	76,4	3,68
Bactéria A14A	78	4,81
Bactéria LGM86	78,4	5,09
Bactéria A17	79,2	5,66
Bactéria A13	80	6,22
Bactéria B62	80,4	6,51
Bactéria A16	81,6	7,35
Bactéria A15	82	7,64
Bactéria B61	84	9,05
Bactéria C2	84	9,05
Bactéria A76	85,6	10,18
Bactéria A21	86	10,47
Bactéria B40	86,4	10,75

**Tabela 49:** Média e Desvio Padrão do Processo de Germinação que possuem efeito inibitório quando comparado ao grupo controle em Tomate Santa Cruz Kada Gigante.

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A74	30,4	28,85
Bactéria B74	42,8	20,08
Bactéria B76	45,2	18,38
Bactéria A59	48,4	16,12
Bactéria A40	48,8	15,84
Bactéria A55	59,6	8,20
Bactéria A58	62,4	6,22
Bactéria B81	63,2	5,66
Bactéria A09	64	5,09
Bactéria A10	64,4	4,81
Bactéria A01	65,2	4,24
Bactéria B44	65,2	4,24
Bactéria A02	67,6	2,55
Bactéria B77	67,6	2,55
Bactéria B75	68,4	1,98
Bactéria A75	69,2	1,41
Bactéria A20	69,6	1,13
Bactéria B69	70	0,85
Bactéria A14B	70,8	0,28
Controle	71,2	0,00

**Tabela 50:** Análise de Germinação em Tomate Cereja Samambaia (tratamento em casa de vegetação) no período de 10/10/2009 a 30/10/2009.

Tomate Cereja Samambaia 30/10/2009						
	Repetição 1 (unidades)	Repetição 2 (unidades)	Repetição 3 (unidades)	Repetição 1 (unidades)	Repetição 2 (unidades)	Repetição 3 (unidades)
Bactéria A07	13	12	16	10	12	12
Bactéria A13	12	13	14	10	12	08
Bactéria A15	11	08	10	10	11	10
Bactéria C2	13	16	13	16	15	12
Controle	13	14	12	14	12	12

**Tabela 51:** Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação)

Tomate Cereja Samambaia 05/11/2009					
	Repetição 1 (cm)	Repetição 2 (cm)	Repetição 3 (cm)	Repetição 4 (cm)	Repetição 5 (cm)
Bactéria A07	16,5	22,5	18	16,5	16,0
Bactéria A13	14,5	16,5	14,0	16,0	15,5
Bactéria A15	15,5	12,0	16,0	11,5	15,5
Bactéria C2	22,5	20,0	23,0	22,0	23,0
Controle	23,0	19,0	19,0	19,0	15,5

**Tabela 52:** Altura da Raiz das Plantas de Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação)

Tomate Cereja Samambaia 05/11/2009					
	Repetição 1 (cm)	Repetição 2 (cm)	Repetição 3 (cm)	Repetição 4 (cm)	Repetição 5 (cm)
Bactéria A07	3,5	10,5	5,5	4,5	4,5
Bactéria A13	4,5	5,0	3,0	5,0	5,5
Bactéria A15	4,0	4,5	5,5	2,0	5,0
Bactéria C2	6,5	7,5	10,5	8,0	8,5
Controle	7,5	6,0	8,5	5,5	4,5

**Tabela 53:** Contagem do Número de Folhas em Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação)

Tomate Cereja Samambaia 05/11/2009					
	Repetição 1 (unidades)	Repetição 2 (unidades)	Repetição 3 (unidades)	Repetição 4 (unidades)	Repetição 5 (unidades)
Bactéria A07	14	18	12	10	10
Bactéria A13	11	10	11	09	12
Bactéria A15	08	09	09	08	10
Bactéria C2	18	18	16	15	12
Controle	16	13	13	15	15

**Tabela 54:** Amostragem do Peso Fresco em Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação)

Tomate Cereja Samambaia 05/11/2009					
	Repetição 1 (gr)	Repetição 2 (gr)	Repetição 3 (gr)	Repetição 4 (gr)	Repetição 5 (gr)
Bactéria A07	12	20	08	17	15
Bactéria A13	08	10	10	15	09
Bactéria A15	10	11	14	9,5	11
Bactéria C2	22	13	18	19	12
Controle	10	14	13	14	11

**Tabela 55:** Taxa de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante (tratamento em casa de vegetação), no período de 16/10/2009 a 05/11/2009.

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 05/11/2009						
	Repetição 1 (unidades)	Repetição 2 (unidades)	Repetição 3 (unidades)	Repetição 1 (unidades)	Repetição 2 (unidades)	Repetição 3 (unidades)
Bactéria A74	08	07	08	07	07	10
Bactéria A76	08	10	10	07	09	09
Bactéria B61	09	09	09	09	11	08
Bactéria C2	09	11	12	12	10	12
Controle	10	08	08	11	11	09

**Tabela 56:** Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação)

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 11/11/2009					
	Repetição 1 (cm)	Repetição 2 (cm)	Repetição 3 (cm)	Repetição 4 (cm)	Repetição 5 (cm)
Bactéria A74	12,0	14,5	14,0	14,0	12,0
Bactéria A76	16,5	16,0	12,5	14,0	12,0
Bactéria B61	17,5	20,0	13,0	18,5	15,5
Bactéria C2	25,5	23,5	17,0	20,0	18,0
Controle	18,0	17,5	16,5	15,0	19,0

**Tabela 57:** Altura da Raiz das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação)

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 11/11/2009					
	Repetição 1 (cm)	Repetição 2 (cm)	Repetição 3 (cm)	Repetição 4 (cm)	Repetição 5 (cm)
Bactéria A74	3,0	5,0	5,5	6,0	3,5
Bactéria A76	4,0	5,0	2,5	5,0	3,0
Bactéria B61	6,0	8,0	3,0	7,5	5,0
Bactéria C2	11,5	9,5	4,5	6,0	5,0
Controle	6,0	6,5	5,5	5,0	7,0

**Tabela 58:** Contagem do Número de Folhas em Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação)

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 11/11/2009					
	Repetição 1 (unidades)	Repetição 2 (unidades)	Repetição 3 (unidades)	Repetição 4 (unidades)	Repetição 5 (unidades)
Bactéria A74	13	07	07	10	08
Bactéria A76	12	09	07	07	10
Bactéria B61	12	11	09	11	15
Bactéria C2	28	14	12	11	13
Controle	11	11	10	13	12

**Tabela 59:** Amostragem do Peso Fresco em Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação)

Tomate Santa Cruz Kada Gigante 11/11/2009					
	Repetição 1 (gr)	Repetição 2 (gr)	Repetição 3 (gr)	Repetição 4 (gr)	Repetição 5 (gr)
Bactéria A74	10	09	11	08	10
Bactéria A76	08	10	11	15	09
Bactéria B61	12	12	14	09	11
Bactéria C2	19	14	18	19	12
Controle	10	14	12	13	11

**Tabela 60:** Média e Desvio Padrão da Taxa de Germinação em Tomate Cereja Samambaia (cultivo com substrato em bandeja de sementeira) (tratamento em casa de vegetação)

Bactéria	Média (unid)	Desvio Padrão
Bactéria A07	12,5	2,19
Bactéria A13	11,5	2,16
Bactéria A15	10,0	1,09
Bactéria C2	14,16	1,72
Controle	12,83	0,98

**Tabela 61:** Média e Desvio Padrão da Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação)

Bactéria	Média	Desvio Padrão
Bactéria A07	17,9	2,68
Bactéria A13	15,3	1,04
Bactéria A15	14,1	2,16
Bactéria C2	22,1	22,02
Controle	19,1	18,32

**Tabela 62:** Média e Desvio Padrão da Altura da Raiz das Plantas de Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação)

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A07	5,7	2,77
Bactéria A13	4,6	0,96
Bactéria A15	4,2	1,35
Bactéria C2	8,2	1,48
Controle	6,4	1,59

**Tabela 63:** Média e Desvio Padrão da Contagem do Número de Folhas em Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação)

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A07	12,8	3,34
Bactéria A13	10,6	1,14
Bactéria A15	8,8	0,83
Bactéria C2	15,8	2,48
Controle	14,4	1,34

**Tabela 64:** Média e Desvio Padrão da Amostragem do Peso Fresco em Tomate Cereja Samambaia. (tratamento em casa de vegetação)

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A07	14,4	4,61
Bactéria A13	10,4	2,70
Bactéria A15	11,1	1,74
Bactéria C2	16,8	4,20
Controle	12,4	1,81

**Tabela 65:** Média e Desvio Padrão da Taxa de Germinação em Tomate Santa Cruz Kada Gigante (cultivo com substrato em bandeja de sementeira) (tratamento em casa de vegetação)

<b>Bactéria</b>	<b>Média (unid)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A74	7,83	0,54
Bactéria A76	8,83	1,16
Bactéria B61	9,16	0,98
Bactéria C2	11,0	1,26
Controle	9,5	1,37

**Tabela 66:** Média e Desvio Padrão da Altura Total (raiz e parte aérea) das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante (tratamento em casa de vegetação)

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A74	13,3	1,20
Bactéria A76	14,2	2,01
Bactéria B61	16,9	2,72
Bactéria C2	20,8	3,61
Controle	17,2	1,52

**Tabela 67:** Média e Desvio Padrão da Altura da Raiz das Plantas de Tomate Santa Cruz Kada Gigante (tratamento em casa de vegetação)

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A74	4,6	1,29
Bactéria A76	3,9	1,14
Bactéria B61	5,9	2,01
Bactéria C2	7,3	3,05
Controle	6,0	0,79

**Tabela 68:** Média e Desvio Padrão da Contagem do Número de Folhas em Tomate Santa Cruz Kada Gigante (tratamento em casa de vegetação).

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A74	9,0	2,54
Bactéria A76	9,0	2,21
Bactéria B61	11,6	2,19
Bactéria C2	15,6	7,02
Controle	11,4	1,14

**Tabela 69:** Média e Desvio Padrão da Amostragem do Peso Fresco em Tomate Santa Cruz Kada Gigante. (tratamento em casa de vegetação)

<b>Bactéria</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Bactéria A74	9,6	1,14
Bactéria A76	10,6	2,70
Bactéria B61	11,8	1,92
Bactéria C2	16,4	3,20
Controle	12,0	1,58

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)