

FERNANDO ANTONIO MORENO ROZO

**ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO E SELEÇÃO DE BACTÉRIAS
DIAZOTRÓFICAS EM TOMATEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

FLORESTAL
MINAS GERAIS-BRASIL
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca da Universidade Federal
de Viçosa - Câmpus Florestal

T

635.642
2017 Moreno Rozo, Fernando Antonio, 1979-
Isolamento, caracterização e seleção de bactérias
diazotróficas em tomateiro / Fernando Antonio Moreno Rozo. –
Florestal, MG, 2017.
xiii, 71f : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Lilian Estrela Borges Baldotto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Tomate: cultivo. 2. Bactérias diazotróficas. 3. Bactérias
solubilizadores de fosfato. I. Universidade Federal de Viçosa.
Instituto de Ciências Agrárias. Mestrado em Manejo e
Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários. II. Título.

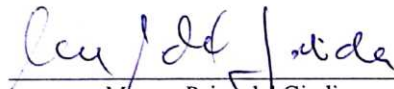
M635i

FERNANDO ANTONIO MORENO ROZO

**ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO E SELEÇÃO DE BACTÉRIAS
DIAZOTRÓFICAS EM TOMATEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 6 de novembro de 2017



Marcos Paiva de Giudice



Adilson de Castro Antônio
(Coorientador)



Marihus Altoé Baldotto
(Coorientador)



Lilian Estrela Borges Baldotto
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus meu sempre amigo, minha mãe Gloria Rozo, suas palavras de fortaleza sempre alimentam meu coração, minhas irmãs Sandra e Briyith conselhos e palavras de sabedoria, meus filhos e sobrinho, alimento de minha esperança, a minha companheira de vida Erika confiança e acolho. Ao senhor, você que olha para mim desde o céu.

A minha orientadora a professora Lílian Estrela Borges Baldotto pela orientação durante o tempo e processo deste trabalho, muito obrigado.

Aos professores Adilson de Castro Antônio e Marihus Altoé Baldotto, pela orientação e recurso dispostos nos setores da olericultura e laboratório de solos da UFV *Campus* Florestal.

À professora Herminia Emilia Prieto Martinez pelo apoio e recursos do laboratório de análises de tecido vegetal UFV, *campus* Viçosa.

À professora Elisângela Aparecida de Oliveira pela orientação na área de estatística do trabalho.

Ao pessoal do laboratório de solos e setor da floricultura, Débora e Tonho pela ajuda sempre pronta.

Aos colegas do mestrado e laboratório Mairla, Klever, Bruno, obrigado pela ajuda física e sempre torcer pela gente.

A meus amigos William Granados e Jorge Rodriguez que fizeram possível parte deste sonho.

À Universidade Federal de Viçosa *Campus* Florestal, ao corpo docente pelo conhecimento e acolhimento dentro de suas aulas.

À Federacion Nacional de Cacaoteros (Colômbia) pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	v
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ABREVIACÕES	viii
RESUMO	x
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. HIPÓTESES.....	3
3. OBJETIVOS	4
3.1. Objetivo geral.....	4
3.2. Objetivos específicos.....	4
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
4.1. A Cultura do Tomateiro.....	5
4.2. Inoculantes.....	8
4.3. Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP).....	9
4.3.1. Bactérias promotoras de crescimento de plantas no tomateiro	11
4.4. Fixação biológica de nitrogênio (FBN).....	12
4.5. Bactérias solubilizadoras de fosfato.....	14
4.6. Potencial de síntese de compostos indólicos por parte das BPCP.....	15
4.7. Bactérias solubilizadoras de óxido de zinco	17
5. MATERIAL E MÉTODOS	18
5.1. Isolamento e quantificação de bactérias diazotróficas.....	18
5.2. Caracterização morfológicas das bactérias isoladas	19
5.3. Identificação de bactérias solubilizadoras de fosfato de cálcio	19
5.4. Identificação do potencial de sínteses de compostos indólicos	20
5.5. Identificação de bactérias solubilizadoras de óxido de zinco	20
5.6. Avaliação da promoção do crescimento de mudas de tomateiro	21
5.7. Avaliação estatística	23
6. RESULTADOS.....	24
6.1. Quantificação e isolamento de bactérias diazotróficas de tomateiro	24
6.2. Caracterização morfológica dos isolados.....	27
6.3. Avaliação da solubilização de fosfato de cálcio	29

6.4.	Avaliação da solubilização de óxido de zinco.....	30
6.5.	Identificação do potencial de sínteses de compostos indólicos	30
6.6.	Avaliação da promoção do crescimento de mudas de tomateiro	31
6.7.	Identificação da ocorrência de bactérias diazotróficas nas mudas de tomateiro do cultivar San Marzano inoculadas	36
7.	DISCUSSÃO.....	38
8.	CONCLUSÕES.....	48
9.	BIBLIOGRAFIA.....	49
10.	ANEXOS.....	61
10.1.	Análises de variância	61
10.2.	Condução do experimento na casa de vegetação e coleta de dados.	62
10.3.	Teste de solubilização de fósforo dos isolados.	64
10.4.	Teste de solubilização de óxido de zinco.	65
10.5.	Teste do potencial de sínteses de compostos indólicos dos isolados.	66
10.6.	Composição dos meios de cultura	68
10.6.1.	Meio DYGS.....	68
10.6.2.	Meio JMV	68
10.6.3.	Meio NFb	68
10.6.4.	Meio LGI.....	69
10.6.5.	Meio JNFb.....	69
10.6.6.	Meio LGI-P	70
10.6.7.	Meio JMVL.....	70
10.6.8.	Meio JMVM.....	70
10.6.9.	Meio NFbM.....	71
10.6.10.	Meio LGIM	71

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Condução do experimento em casa de vegetação, mudas aos zeros, 15 e 30 dias depois de sementeiras..... 62
- Figura 2.** Processo de medição e registro das variáveis mensuradas em mudas de tomateiro do cultivar San Marzano inoculadas com bactérias diazotróficas..... 62
- Figura 3.** Mudas de tomateiro do cultivar San Marzano aos 35 dias depois de sementeiras..... 63
- Figura 4.** Teste de solubilização de fosfato de cálcio dos isolados bacterianos UFV82131 (1), UFV82132 (2), UFV81133 (3), UFV81164 (4), UFV81165 (5), UFV82126 (6), UFV82431 (7), UFV81452 (8), UFV82433 (9), UFV81221 (10), UFV82222 (11), UFV82234 (12), UFV82234 (13), UFV81741 (14), UFV82722 (15), UFV82723 (16), UFV82724 (17), UFV81725 (18), UFV81736 (19), UFV81737 (20), UFV81361 (21), UFV82322 (22), UFV82323 (23), UFV82334 (24), UFV82335 (25), UFV81921 (26), UFV82521 (27), UFV81631 (28), UFV81651 (29). O halo transparente indica o potencial de solubilização dos isolados..... 64
- Figura 5.** Teste de solubilização de óxido de zinco dos isolados bacterianos, UFV82131 (1), UFV82132 (2), UFV81133 (3), UFV81164 (4), UFV81165 (5), UFV82126 (6), UFV82431 (7), UFV81452 (8), UFV82433 (9), UFV81221 (10), UFV82222 (11), UFV82234 (12), UFV82234 (13), UFV81741 (14), UFV82722 (15), UFV82723 (16), UFV82724 (17), UFV81725 (18), UFV81736 (19), UFV81737 (20), UFV81361 (21), UFV82322 (22), UFV82323 (23), UFV82334 (24), UFV82335 (25), UFV81921 (26), UFV82521 (27), UFV81631 (28), UFV81651 (29). O halo transparente indica o potencial de solubilização dos isolados..... 65
- Figura 6.** Teste de potencial de síntese de compostos indólicos dos isolados bacterianos UFV82131 (1), UFV82132 (2), UFV81133 (3), UFV81164 (4), UFV81165 (5), UFV82126 (6), UFV82431 (7), UFV81452 (8), UFV82433 (9), UFV81221 (10), UFV82222 (11), UFV82234 (12), UFV82234 (13), UFV81741 (14), UFV82722 (15), UFV82723 (16). A cor rosa indica o potencial de síntese de compostos indólicos dos isolados..... 66
- Figura 7.** Teste de potencial de síntese de compostos indólicos dos isolados bacterianos UFV82724 (17), UFV81725 (18), UFV81736 (19), UFV81737 (20), UFV81361 (21), UFV82322 (22), UFV82323 (23), UFV82334 (24), UFV82335 (25), UFV81921 (26), UFV82521 (27), UFV81631 (28, apresenta), UFV81651 (29, apresenta). A cor rosa indica o potencial de síntese de compostos indólicos dos isolados..... 67

Gráfico 1. Número mais provável (NMP) de bactérias nos tecidos de parte aérea (folhas, caule) e raiz de plantas coletadas de tomateiro do cultivar Grazianni, no Setor de Olericultura da UFV Campus Florestal. Dados transformados com Log do NMP encontrado para cada meio. Fonte: dados experimento.....	24
Gráfico 2. Log do número mais provável de ocorrência de bactérias diazotróficas em mudas de tomateiro cultivar San Marzano inoculadas com os isolados e controle para cada um dos meios de culturas usados.	37
Quadro 1. Análise de variância das variáveis de crescimento de mudas de tomate inoculadas com bactérias diazotróficas.	61
Quadro 2. Análise de variância das variáveis matéria fresca e seca das mudas de tomate inoculadas com bactérias diazotróficas.	61
Quadro 3. Análise de variância dos teores e conteúdos de nutrientes em mudas de tomate inoculadas com bactérias diazotróficas.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional do tomate por 100 gramas de tomate fresco.....	6
Tabela 2. Descrição da codificação dos isolados bacterianos diazotróficos obtidos de <i>Solanum lycopersicum</i> L. cultivar Grazianni.	26
Tabela 3. Caracterização celular e das colônias dos isolados bacterianos de <i>Solanum lycopersicum</i> L.. cultivar Grazianni.	28
Tabela 4. Isolados bacterianos de tomateiro que apresentaram halo de solubilização de fosfato de cálcio.....	29
Tabela 5. Valor do halo dos isolados que solubilizaram óxido de zinco.....	30
Tabela 6. Identificação do potencial dos isolados bacterianos de tomateiro em sintetizar compostos indólicos.	31
Tabela 7. Crescimento das mudas de tomateiro cultivar San Marzano em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas.	33
Tabela 8. Matéria fresca e seca das mudas de tomateiro do cultivar San Marzano em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas.	34
Tabela 9. Teores e conteúdos dos nutrientes de mudas de tomateiro do cultivar San Marzano em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas.	35

LISTA DE ABREVIACÕES

DNA	-	Ácido Desoxirribonucleico
AIA	-	Ácido Indol Acético
AIP	-	Ácido Indol-3-Pirúvico
HPO ₄	-	Ácido Ortofosfórico
HClO ₄	-	Ácido Perclórico
ATP	-	Adenosina Trifosfato
H ₂ O	-	Água
AM	-	Altura da Muda
AC	-	Altura de Inserção dos Cotilédones
Al	-	Alumínio
ANOVA	-	Análise de Variância
BPCP	-	Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas
Cd	-	Cádmio
CV	-	Coefficiente de Variação
ACC	-	1-Aminociclopropano-1-Carboxilato
DIC	-	Delineamento Inteiramente Casualizado
DC	-	Diâmetro do Caule
FBN	-	Fixação Biológica de Nitrogênio
FAO	-	Food American Organization -Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
Pi	-	Fósforo Inorgânico
nif	-	Gene de Fixação de Nitrogênio
g	-	Gramas
°C	-	Graus Celsius
Ha	-	Hectare
IAOx	-	Idol-3-Acetaldoxima
IQD	-	Índice de Qualidade de Dickson
IAM	-	Indol-3 Acetamida
Kcal	-	Kilo Calorias
µL	-	Microlitro
L	-	Litro
Log	-	Logaritmo
MDA	-	Malonaldeído
MFPA	-	Matéria Fresca da Parte Aérea
MFR	-	Matéria Fresca da Raiz
MFT	-	Matéria Fresca Total
MSPA	-	Matéria Seca da Parte Aérea
MSR	-	Matéria Seca da Raiz
MST	-	Matéria Seca Total
mg	-	Miligramas
mm	-	Milímetros
MAPA	-	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
nM	-	Nano Molar
nm	-	Nanômetros

Nod	-	Gene de nodulação
NF	-	Número de Folhas
NMP	-	Número Mais Provável
QMR	-	Quadrado Médio do Resíduo
TAM	-	Triptamina
TSA	-	Ágar Triptona de Soja
UFC	-	Unidades Formadoras de Colônias
UFV	-	Universidade Federal de Viçosa
VR	-	Volume da Raiz

RESUMO

ROZO, Fernando Antonio Moreno, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2017. **Isolamento, caracterização e seleção de bactérias diazotróficas em tomateiro.** Orientadora: Lílian Estrela Borges Baldotto. Coorientadores: Adilson de Castro Antônio e Marihus Altoé Baldotto.

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e dentro deste grupo as diazotróficas, têm sido testadas para diversas culturas, tendo diferentes resultados frente à sua influência no crescimento e desenvolvimento das plantas, os resultados podem ser positivos, negativos ou não ter resposta com significância estatística. Dentro dos efeitos mais procurados estão a influência destas no fornecimento de nutrientes. O tomateiro é uma cultura amplamente plantada no Brasil e no mundo, seu consumo faz parte da dieta diária da maioria da população e para sua produção é necessário elevado aporte de fertilizantes. A produção de mudas é uma etapa importante do cultivo de tomate e hipotetiza-se que as BPCP possam auxiliar no crescimento e nutrição dos tomateiros. Este trabalho objetivou isolar, caracterizar e selecionar bactérias promotoras de crescimento de plantas que tenham sinergia como a cultura do tomateiro. Os trabalhos foram conduzidos na Universidade Federal de Viçosa, *Campus Florestal*. Para o isolamento das bactérias amostras de 10g de cada órgão da planta (raiz, caule, folha) foram coletadas de tomateiro, trituradas em 90 mL de solução salina e realizado diluição seriada de 10^{-2} a 10^{-6} . De cada uma das diluições, alíquotas de 100 μ L foram colocadas em triplicata em frascos de penicilina de vidro contendo os meios semissólidos isentos de nitrogênio: NFb, JNFb, JMV, JVMM, JMVl, LGI e LGIP, NFbM e LGIM. A quantificação das bactérias presentes nos meios de cultivo foi realizada pela técnica do número mais provável (NMP). As colônias resultantes foram caracterizadas de acordo com a morfologia das células (forma e coloração de Gram) e as características das colônias (forma, cor, tamanho, elevação, bordo, superfície, mucosidade). Para identificação do caráter solubilizador de fosfato, os isolados cresceram em meio de cultura sólido contendo fosfato de cálcio. A avaliação da solubilização de fosfato foi feita por meio do valor do halo translúcido que se forma em torno das colônias bacterianas solubilizadoras. Para identificação do potencial de síntese de compostos indólicos as bactérias foram crescidas em placas de Petri contendo meio sólido de triptona de soja suplementado com triptofano, e cobertas por membrana de nitrocelulose. A membrana foi coletada, e posteriormente adicionado reagente Salkowski e incubadas no escuro. A formação do halo rosa no local onde havia colônia foi o

indicador da síntese de indol. A avaliação das bactérias com potencial de solubilização de óxido de zinco foi realizada por meio do crescimento bacteriano em placas de Petri com meio de cultura sólido contendo óxido de zinco e posterior avaliação do halo de solubilização. A promoção do crescimento de plantas pelos isolados foi avaliada por meio da inoculação em mudas de tomateiro do cultivar San Marzano, semeadas em bandejas de plástico de 128 células com substrato fibra de coco. A inoculação das mudas foi feita 17 dias após semeadura, cada planta recebeu 1 mL de meio DYGS contendo as bactérias selecionadas e o controle recebeu apenas o mesmo meio autoclavado. A adubação das mudas foi feita com solução de Hoaglan à 75%. As mudas foram colhidas aos 35 dias após semeadura e feita a medição das variáveis: volume da raiz, diâmetro do caule, altura de inserção dos cotilédones, altura da muda, relação altura da muda e diâmetro do caule, número de folhas, matéria fresca e seca da raiz, da parte aérea e total. Foi calculado o índice de qualidade de Dickson. Os teores e conteúdos de N, P e K das mudas de tomateiro foram determinados. No total, foram obtidos 29 isolados de bactérias diazotróficas dos tecidos de plantas de tomate do cultivar Grazianni com o uso de diferentes meios de cultivo isentos de nitrogênio. A distribuição de bactérias diazotróficas mostrou-se equitativa no corpo da planta sendo 45% isolado na parte aérea e 55% na raiz. Dos 29 isolados, 12 solubilizaram fosfato de cálcio, 23 solubilizaram óxido de zinco e dois sintetizaram indol, molécula precursora das auxinas. Nas mudas de tomateiro, 12 isolados incrementaram o teor de P e 6 aumentaram o conteúdo de K. Comparadas as médias das variáveis número de folhas, volume da raiz, matéria fresca da raiz, matéria seca da raiz, matéria fresca total e altura da muda, não apresentaram diferenças estatísticas para o teste de Scott Knott à 5% de probabilidade. Para as variáveis matéria fresca da parte aérea, matéria seca da parte aérea e matéria seca total as análises estatísticas mostraram diferenças significativas entre as médias, entretanto o controle estava contido dentro do grupo com melhor desempenho, indicando que as bactérias não tiveram efeito no acréscimo destas variáveis nas condições do ensaio. Conclui-se que diferentes estirpes de bactérias diazotróficas habitam naturalmente plantas de tomate, são capazes de solubilizar fosfato de cálcio, óxido de zinco, sintetizar indol, e promover incrementos nos teores de P e K em mudas de tomateiro.

ABSTRACT

ROZO, Fernando Antonio Moreno, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2017. **Isolation, characterization and selection of diazotrophic bacteria in tomato plants.** Advisor: Lílian Estrela Borges Baldotto. Co-advisers: Adilson de Castro Antônio and Maribus Altoé Baldotto.

Plant growth promoting bacteria (BPCP) and within this group the diazotrophic, having different results in view of their influence on plant growth and development, the results may be positive, negative or have no response with statistical significance. Among the most sought after effects are their influence on nutrient supply. The tomato is a widely cultivated crop in Brazil and in the world, its consumption is part of the daily diet of the majority of the population and for its production it is necessary a high supply of fertilizers. The production of seedlings is an important step in the cultivation of tomatoes and it is hypothesized that BPCP can assist in the growth and nutrition of tomato plants. This work aimed to isolate, characterize and select plant growth promoting bacteria that have synergy as the tomato crop. The works were conducted at the Federal University of Viçosa, Campus Florestal. For the isolation of the bacteria samples of 10g of each organ of the plant (root, stem, leaf) were collected from tomato, ground in 90 mL of saline solution and serial dilutions of 10^{-2} to 10^{-6} . From each of the dilutions, 100 μ L aliquots were placed in triplicate in glass penicillin flasks containing the nitrogen-free semi-solid media: NFb, JNFb, JMV, JVMM, JMVl, LGI, LGIP, NFbM and LGIM. Quantification of the bacteria present in the culture media was performed by the most probable number technique (MPN). The resulting colonies were characterized according to the cell morphology (shape and color of Gram) and the characteristics of the colonies (shape, color, size, elevation, border, surface, mucus). To identify the phosphate solubilizing character, the isolates were grown in solid culture medium containing calcium phosphate. The evaluation of the phosphate solubilization was done through the diameter of the translucent halo that forms around the bacterial solubilizing colonies. To identify the potential for synthesis of indole compounds, the bacteria were grown in Petri dishes containing tryptican-supplemented soybean tripticasein solid and covered with nitrocellulose membrane. The membrane was collected, and subsequently added Salkowski reagent and incubated in the dark. The formation of the pink halo at the colony site was the indicator of indole synthesis. The evaluation of bacteria with zinc oxide solubilization potential was carried out by means of bacterial growth in Petri dishes with zinc oxide-containing solid culture medium and subsequent evaluation of the solubilization halo. The promotion of plant growth by the isolates was evaluated by inoculation in tomato seedlings of the cultivar San

Marzano, seeded in plastic trays of 128 cells with substrate coconut fiber. The inoculation of the seedlings was done 17 days after sowing, each plant received 1 mL of DYGS medium containing the selected bacteria and the control received only the same autoclaved medium. The fertilization of the seedlings was done with Hoaglan solution at 75%. The seedlings were harvested at 35 days after sowing and the variables were measured: root volume, stem diameter, height of cotyledon insertion, height of seedling, height of seedlings and stem diameter, number of leaves, fresh matter and dry root, shoot and total dry matter. The Dickson quality score was calculated. The contents and contents of N, P and K of the tomato seedlings were determined. In total, 29 isolates of diazotrophic bacteria from the tissues of tomato plants of the Grazianni cultivar were obtained with the use of different nitrogen - free culture media. The distribution of diazotrophic bacteria was shown to be equal in the body of the plant being 45% isolated in the aerial part and 55% in the root. Of the 29 isolates, 12 solubilized calcium phosphate, 23 solubilized zinc oxide and two synthesized indole, the auxin precursor molecule. In the tomato seedlings, 12 isolates increased the P content and 6 increased the K content. Compared to the mean number of leaves, root volume, root fresh matter, root dry matter, total fresh matter and seedling height, did not present statistical differences for the Scott Knott test at 5% probability. For the variables fresh matter of aerial part, shoot dry matter and total dry matter the statistical analyzes showed significant differences between the means, however the control was contained within the group with better performance, indicating that the bacteria had no effect in the addition of these variables under test conditions. It is concluded that different strains of diazotrophic bacteria naturally inhabit tomato plants, are able to solubilize calcium phosphate, zinc oxide, synthesize indole, and promote increases in the levels of P and K in tomato seedlings.

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que a demanda por alimentos terá um incremento de 50% em 2050 (FAO, 2009), sendo necessária a inclusão de novas tecnologias na produção de alimentos que possam permitir a produção sustentável frente a demanda crescente (BUAINAIN et al., 2016).

A produtividade das culturas tem aumentado devido as melhorias no âmbito genético, seja com a tolerância à pragas e doenças ou com o incremento da capacidade produtiva. Com o aumento da produtividade acontece na mesma direção o incremento do uso de fertilizantes, especialmente os nitrogenados, cujo acréscimo é estimado em $\sim 10^{11}$ kg por ano (SCHMER, 2014). No entanto, cerca do 60% do fertilizante nitrogenado sintetizado não é absorvido pelas plantas, a maior parte disso lixivia-se para as águas subterrâneas (TKACZ & POOLE, 2015).

A interação entre plantas e microrganismos tem sido estudada para diferentes mecanismos de ação. Os microrganismos podem disponibilizar nutrientes (nitrogênio, fósforo, potássio, zinco entre outros) e substâncias promotoras de crescimento como fitohormônios ou desfavorecer o crescimento de patógenos, assim como permitir o correto desempenho das culturas em ambientes desfavoráveis como baixas temperaturas, altos conteúdos de sais entre outros (ANTOUN, 2012; KUMAR; MANIGUNDAN; AMARESAN, 2017).

Estes tipos de interações permitem melhor desempenho dos agroecossistemas, conseguindo produzir alimentos com menor demanda de fertilizantes e outros agroquímicos (BASHAN, 2014; CHEN et al., 2014). Além disso, diminui a demanda energética para a produção de alimentos e assim, aumenta a sustentabilidade no aproveitamento dos recursos naturais (GYANESHWAR, 2002).

O efeito das bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) tem sido testado para diferentes culturas de interesse agrícola. Diferentes autores relatam o efeito das BPCP na cultura de tomateiro, tendo resultado positivo no desenvolvimento desta (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2015; ABDALLAH et al., 2016; SANCHEZ, 2012; BARRETTI et al., 2008).

A cultura de tomate é amplamente difundida no mundo e plantada em pelo menos 20 países. A produção mundial foi registrada pela FAO entre os anos de 2013 e 2014 perto de 110 milhões de toneladas. No Brasil, estima-se que 57 mil hectares sejam plantados com esta cultura. Segundo SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E

ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS (2016) a produção superou 4 milhões de toneladas em 2014, sendo os estados de São Paulo e Goiás os principais produtores.

Segundo Deleo, De Souza e Paranhos (2016) o custo de produção de um hectare de tomateiro para consumo em mesa, pode chegar aos 100 mil reais no Brasil, e o custo dos fertilizantes pode chegar a 14% do total do investimento. Sendo o nitrogênio, potássio e fósforo os nutrientes de maior demanda por parte da cultura e constituem 84% do teor total dos elementos na planta necessários para o correto crescimento e obtenção de alta produtividade (MACHADO, 2014).

O nitrogênio é um nutriente essencial para o desenvolvimento das plantas, faz parte da estrutura das proteínas e da estrutura de muitos metabolitos primários e secundários. É o nutriente de maior demanda dentro da planta e sua deficiência ocasiona perdas na produtividade das culturas (DE ARAÚJO & DE CARVALHO, 2009). No tomateiro inadequado suprimento deste nutriente ocasiona diminuição no crescimento, susceptibilidade à doenças e quedas no processo fotossintético (ABBAMONDI et al., 2016).

O fósforo é um dos nutrientes limitantes na produção de culturas em solos tropicais, devido sua alta taxa de fixação no sistema solo (PASTOR et al., 2014). A produção de fertilizantes fosfatados tem como fonte principal o processamento industrial das rochas, cujo processo possui restrições ambientais devido ao uso de diferentes produtos químicos residuais, assim como a sustentabilidade para seu abastecimento (GRUEN et al., 2014).

São múltiplos os trabalhos desenvolvidos com sucesso entorno do descobrimento de novos microrganismos que formam sinergias positivas com as plantas de interesse agrônômico no fornecimento de fósforo e nitrogênio. Porém, poucas são as espécies de microrganismos que solubilizam formas complexas de fosfatos (BASHAN et al., 2013), incrementado o interesse por trabalhos que possam aportar conhecimento nestes aspectos.

Em diferentes trabalhos autores relatam a identificação de bactérias que auxiliam o incremento da produtividade no tomateiro, detectando melhoria no incremento do número de frutos, na área foliar, na matéria seca e número de folhas, assim evidenciando a capacidade de consórcio do tomateiro com as BPCP (CERQUEIRA et al., 2015; CHEN et al., 2014; DAMASCENO, 2011; ENYA et al., 2007).

O presente trabalho pretende contribuir com informações sobre novos isolados de bactérias promotoras de crescimento de plantas do tomateiro, identificando sinergias entre o tomateiro e estirpes de bactérias que melhoram o crescimento da planta e o acúmulo de nutrientes.

2. HIPÓTESES

Bactérias diazotróficas habitam eventualmente a parte aérea e raízes de tomateiro e possuem habilidade de solubilizar fosfato, solubilizar óxido de zinco e sintetizar indol. Quando essas bactérias são isoladas e inoculadas em mudas de tomate podem promover o crescimento, assim como acréscimos nos teores e conteúdos de nitrogênio, fósforo e potássio.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

- Isolar, caracterizar e selecionar bactérias promotoras de crescimento de plantas de tomate.

3.2. Objetivos específicos

- Isolar bactérias fixadoras de nitrogênio de plantas de tomate.
- Avaliar a solubilização de fosfato, óxido de zinco e síntese de indol pelos isolados bacterianos.
- Caracterizar a morfologia celular e das colônias dos isolados bacterianos.
- Avaliar o crescimento e nutrição das mudas de tomateiro em resposta à inoculação dos isolados bacterianos.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. A Cultura do Tomateiro

O tomate (*Solanum lycopersicum* L) é uma planta perene originária do continente americano. O tomate pertence à família Solanaceae, desta família fazem parte outras culturas de interesse para humanidade como as batatas (*Solanum tuberosum*), pimentão (*Capsicum annuum*), entre outras (SELEGUINI; SENO; JÚNIOR, 2007; CERQUEIRA et al., 2015). Segue abaixo a classificação botânica do tomateiro (SANCHEZ, 2012):

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Tubiflorae

Família: Solanaceae

Gênero: Solanum

Espécie: *Solanum lycopersicum* L. (Sinónimos: *Lycopersicon esculentum*)

Nome comum: tomate, tomateiro

O tomateiro é amplamente cultivado no mundo, sendo a China o principal produtor, com uma produção de 160 milhões de toneladas em 2012 (FAO, 2015). O Brasil, no mesmo ano produziu 3,9 milhões de toneladas do tomate (IBGE, 2016). O estado de São Paulo contribuiu com 20,1 % da produção total de tomate, seguido pelo estado de Minas Gerais com 17,7 % e a região Centro Oeste com 16,1 % do total da produção para o ano 2015 (IBGE, 2016).

O tomate faz parte da dieta alimentar diária da maioria da população brasileira sendo uma das hortaliças mais industrializadas, usado na produção de molhos, Ketchup e extratos, além de empregar grandes contingentes de mão de obra (DAMACENO, 2011). A composição nutricional do tomate pode ser observada na tabela 1 (SANCHEZ, 2012).

Tabela 1. Composição da matéria fresca do tomate por 100 gramas de tomate fresco.

Elementos	Quantidade
Água	93 g
Proteína	0,9 g
Gordura	0,1 g
Calorias	23 Kcal
Carboidratos	3,3 g
Fibras	0,8 g
Fósforo	19 mg
Cálcio	7 mg
Ferro	0,7 mg
Vitaminas A	1,100 UI
Vitaminas B1	0,05 mg
Vitaminas B2	0,02 mg
Vitaminas C	20 mg
Niacina	0,6 mg

Fonte: Sánchez (2012)

Segundo Sanchez (2012) a planta apresenta dois tipos de crescimento: determinado e indeterminado. No tipo indeterminado, o caule das plantas atinge mais de 2,5 m de altura, acontece na maioria das cultivares apropriadas para a produção de frutos para mesa, necessitando de tutoramento e poda. Neste tipo de planta, a dominância da gema apical ocorre sobre as gemas laterais que tem menor desenvolvimento. Já o crescimento no tipo de hábito determinado, as hastes atingem no máximo 1 metro de altura, o desenvolvimento é menos vigoroso que o tipo indeterminado. Os cultivares de hábito determinado geralmente são destinados a produção de matéria prima para a agroindústria (SELEGUINI; SENO; JÚNIOR, 2007).

Para o correto desenvolvimento da cultura do tomateiro e para assegurar a completa maturação dos frutos, necessita-se de temperaturas diurnas entre 20 a 25 °C e no período noturno entre 11 a 18 °C. Temperaturas acima de 35 °C e temperaturas muito baixas acarretam problemas na frutificação, como diminuição da fecundação e queda acentuada de flores e frutos (MEDEIROS et al., 2013).

A produção de mudas é uma das principais etapas da cultura de tomate, pois o desempenho final das plantas no campo depende do uso de propágulos de qualidade, uma vez que esse fator influencia positivamente a precocidade, produção total e tamanho dos frutos (OVIEDO, 2007; MEDEIROS et al., 2013). O sistema de produção de mudas pode reduzir o tempo para

a formação das mesmas e proporcionar maior controle sobre alguns aspectos como fertilização, controle de doenças e pragas (OVIEDO, 2007).

Dentre os fatores que afetam diretamente a qualidade das mudas estão o tipo de recipiente (SILVEIRA et al., 2002), substrato (COSTA et al., 2015) e qualidade da água de irrigação (MEDEIROS et al., 2013).

Alguns dos principais critérios usados para a escolha de bandejas multicelulares na produção de mudas de tomate são o volume do recipiente, tipo e qualidade do substrato, idade de transplante e controle ambiental, estes critérios têm influência direta no desenvolvimento da muda (MEDEIROS et al., 2013).

Na primeira etapa da produção de mudas tem a semeadura que consiste no processo de colocar as sementes dentro das células das bandejas de produção que já contém o substrato. Para esta parte é importante ter em conta os processos fisiológicos relacionados com o vigor e germinação da semente (SILVEIRA et al., 2002).

A qualidade da água está relacionada com os conteúdos de sais, microrganismos e sólidos solúveis. Os diferentes conteúdos descritos devem ser analisados na etapa inicial da produção já que a água é o insumo mais usados durante a produção de mudas (GUSMÃO et al., 2006).

Outro fator importante durante a produção de mudas de tomate é o substrato, responsável pelo sustento da raiz e fornecimento de nutrientes para o correto desenvolvimento da planta. Os aspectos físicos do substrato como a capacidade de retenção de água e a permeabilidade, em conjunto com os aspectos químicos e biológicos são avaliados para proporcionar adequado crescimento das mudas (SAMPAIO et al., 2008).

Com os altos custos das sementes de tomate, os agricultores esperam que cada semente se converta em uma muda, para que isto seja possível o produtor deve adotar diferentes ações como, por exemplo, verificar a qualidade das sementes da água, a qualidade do substrato e manter a temperatura dentro dos parâmetros ótimos para a cultura (OVIEDO, 2007).

Os nutrientes minerais podem influenciar os níveis de alguns compostos orgânicos nas plantas devido a influência que exercem sobre os processos bioquímicos ou fisiológicos, tais como atividade fotossintética e taxa de translocação de fotoassimilados (FERREIRA, 2006). Desta forma uma inadequada adubação ocasiona queda na capacidade produtiva da planta, assim como baixa capacidade de resposta dos mecanismos de defesa e seu relacionamento com microrganismos benéficos (BAIS et al., 2006).

O nitrogênio é o elemento de maior demanda metabólica na planta, no processo de adubação deve se levar em conta as formas moleculares que são disponibilizadas para a cultura para evitar perdas (ZUBA, 2011). Segundo Ferreira (2013), a qualidade dos frutos do tomateiro e a maior eficiência fotossintética é influenciada pela disponibilidade de nitrogênio durante o desenvolvimento da cultura.

Leite et al. (2003), em um ensaio com diferentes doses de nitrogênio e potássio encontrou que as aplicações destes elementos em doses superiores a 200 mg do elemento por quilograma de solo, tem um efeito positivo sobre a área foliar, número de cachos e número de flores. Assim, o nitrogênio tem relação estreita com o desenvolvimento da altura da planta, área foliar e maior produção de frutos.

O tomateiro pode ser atacado por diversos tipos de fungos, bactérias e nematóides que restringem sua produção. As principais pragas e doenças do tomate são: Nematóides *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*. Fungos: *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Septoria lycopersici*, *Stephylium solani*, *Leveillula taurica* anamorfo *Oidiopsis haplophilli*, *O. sicula*– anamorfo *Oidium lycopersiciou*, *O. neolycopersici*, *Botrytis cinérea*, *Fusarium osisporum f.sp Lycopersici*, *Verticillum albo-atrum*, *Verticillium dahliae*, *Sclerotium rolfsii*. Bactérias: *Ralstonia solanacearum*, *Pectobacterium spp*, *Dickeya spp.*, *Clavibacter michiganensis subps. Michiganensis*, *Xanthomonas spp.*, *Pseudomonas syringae pv. tomato* e *Pseudomonas corrugata* (FIORINI et al., 2010; LOOS et al., 2004; VIDA et al., 2004; SILVA et al., 2007).

4.2. Inoculantes

A definição de inoculante para o Brasil foi feita pela lei 6.894 de dezembro de 1980: produto que contém microrganismos com atuação favorável ao crescimento de plantas. As características desejáveis do inoculante são: abranger o crescimento do microrganismo, abranger o número de células microbianas necessárias em condições fisiológicas ótimas durante o tempo a ser armazenado, não ser tóxico para a planta e não ser tóxico para o meio ambiente (BASHAN et al., 2014).

No mercado são encontrados inoculantes do tipo sólido, líquido ou oleoso, sendo a turfa o veículo de inoculação sólido mais usado pelas características que esta oferece, como

capacidade de retenção de umidade, atoxidade, fácil manipulação, tamponamento do pH e baixo custo (BASHAN et al., 2014; SILVA, 2000).

No Brasil, os métodos para avaliar a qualidade dos inoculantes consideram os critérios estabelecidos nas instruções normativas número 30 de 12 de novembro de 2010 e número 13 de 24 de março de 2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA. Os principais critérios estabelecidos dentro da normativa estão: que os produtos contenham organismos fixadores de nitrogênio para simbiose com leguminosas sejam quantificados pela técnica de contagem em placa por espalhamento em meio de cultura 79 e presente na concentração mínima de $1,0 \times 10^9$ Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Para os demais inoculantes formulados com microrganismos promotores de crescimento e bactérias associativas, a concentração deverá ser informada durante o processo de registro.

No caso da avaliação de produtos que contenham número elevado de contaminantes, a contagem de UFC pode ser feita em meio 79 acrescidos com antimicrobianos (actidione/cilcohexamida), que permitem o crescimento de rizóbios e inibem o crescimento de contaminantes (BARBOSA, 2014).

A sobrevivência das bactérias no inoculante pode ser afetado por fatores como a umidade, pH, e temperatura, os quais são ou estão ligados com as características químicas e físicas do veículo de inoculação. Além disso, a sobrevivência das bactérias pode ser afetada pela presença de metais como molibdênio que entrando em contato com o inoculante pode incrementar a viabilidade o número de células das BPCP no inoculante, assim como a nodulação e a fixação biológica de nitrogênio (GUIMARÃES; BALDANI; JACOB-NETO, 2014).

4.3. Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP)

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) estão presentes no solo e nas plantas, podem ser do tipo endofíticas ou epífitas, tem a condição de não patogênicas e atuam com diferentes mecanismos que ajudam a promover o crescimento das plantas de forma direta ou indireta (ADESEMOYE; OBINI; UGOJI, 2008; AHEMAD & KIBRET, 2014; ANTOUN, 2012; BASHAN et al., 2014; BASHAN et al., 2013; BEHERA et al., 2014).

A condição de bactéria endofítica ou epifítica está relacionada com a presença do organismo dentro ou não, dos tecidos da planta sem ocasionar dano visível, de tal maneira que para organismos endofíticos possam ser isolados dos tecidos vegetais, com desinfecção previa superficial (HALLMANN et al., 1997).

As BPCP possuem dois tipos de mecanismos de ação quanto à promoção do desenvolvimento nas plantas: direto e indireto. Segundo Barretti (2008) o estímulo do crescimento das plantas é direto quando o microrganismo produz fitohormônios ou substâncias análogas destes reguladores de crescimento capazes de estimular o ganho de massa na planta.

Para Dos Santos et al., (2017) o efeito direto está relacionado com a melhoria na absorção e assimilação dos nutrientes, devido a produção de substâncias como sideróforos que podem incrementar o fósforo disponível na região radicular, assim como outros nutrientes.

Quando o efeito é indireto, o crescimento é promovido pela redução na população de microrganismos patogênicos, ou seja, pelo controle biológico destes inimigos naturais das plantas, por meio da produção de antibióticos, bem como de outros mecanismos de competição (DAMASCENO, 2011; ENYA et al., 2007).

Os efeitos positivos no crescimento das plantas têm sido estudados, e alguns de eles são: aumento da área foliar, altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas e matéria seca da parte aérea e das raízes, redução do tempo de aclimatização e maior sobrevivência das mudas, controle de doenças, aumento de produtividade, aumento no teor de nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio (SOUZA; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2015).

As principais BPCP são encontradas nos gêneros *Acinetobacter*, *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Azomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Ochrobactrum*, *Paenibacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Ralstonia*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Variovorax*, *Xanthomonas*, entre outros (SOUZA; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2015; AHMAD & KIBRET, 2014).

No conceito de eficiência na utilização de nutrientes, Barretti (2008) identifica como o processo ou processos nos quais as plantas absorvem, translocam, acumulam e utilizam melhor um nutriente para seu desenvolvimento. As BPCP tem sido testadas procurando incrementar a assimilação de nutrientes em quanto estas se consorciavam com diferentes culturas (WARWATE et al., 2017; BEHERA et al., 2014).

4.3.1. Bactérias promotoras de crescimento de plantas no tomateiro

As BPCP promovem a maior concentração de elementos nutricionais nas plantas de tomateiro, Barretti (2008) verificou que BPCP incrementaram as concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre e zinco na parte aérea de plantas de tomate.

A utilização de bactérias promotoras de crescimento tem sido testado no incremento de teores de clorofila *a* e *b* obtendo bons resultados em mudas de tomateiro e uma relação direta entre a concentração (UFC por mL) e o incremento das clorofilas (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2014).

Abdallah et al., (2016) isolaram 7 cepas de bactérias endofíticas de *Nicotiana glauca*, as quais foram testadas para o controle da doença ocasionada por Fusarium (*Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*) e promoção do crescimento em mudas de tomate. Dois isolados tiveram resposta estatística significativa no incremento da matéria fresca da raiz e da parte aérea, comprimento da planta e controle da severidade da doença quando comparados com o controle.

Sanchez (2012) observou aumento no número de folhas e de frutos, além da concentração de fósforo com uso de BPCP isoladas de *Solanum tuberosum* e *Nicotiana glauca*. As BPCP foram testadas previamente no meio seletivo com fosfato tricálcio como única fonte de fósforo.

Bactérias endofíticas foram testadas por Barretti et al., (2008), para a inibição *in vitro* de *Ralstonia solanacearum* na cultura de tomate, os autores verificaram que dois isolados promoveram o crescimento das plantas de tomate, além da inibição do patógeno.

Adesemoye; Obini; Ugoji, (2008), avaliando cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis* na promoção do crescimento de tomateiro observaram redução do número de dias para a obtenção do primeiro fruto, bem como nas variáveis matéria fresca e comprimento da raiz em comparação ao controle. Os autores não encontraram diferença estatística nessas variáveis entre os gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, concluindo que para as condições experimentais esses gêneros promovem o crescimento do tomateiro de maneira indiferenciada.

Enya et al., (2007) ao isolar bactérias das folhas de tomateiro em dois ambientes de produção estufa e campo - encontraram diferenças estatísticas no tamanho das populações de bactérias em relação com a idade das folhas, assim como, diferença do tamanho das populações de bactérias entre as plantas de tomate plantadas em estufa e em campo. Os tamanhos das populações de bactérias foram maiores nas plantas semeadas em campo quando comparadas com as plantadas em estufa agrícola. Os gêneros de bactérias mais encontrados nas folhas de tomate tanto na estufa como no campo foram *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Curtobacterium* e *Sphingomonas*.

Avaliação de *Bacillus subtilis* na promoção do crescimento de tomateiro foi realizada por De Araújo & Carvalho (2009), encontrando que *B. subtilis* conseguiu incrementar a biomassa da parte aérea, massa total de frutos e número de frutos maduros, quando comparado com a testemunha.

A diminuição nos impactos do estresse por baixas temperaturas (6 e 9 graus Celsius -°C) e salinidade em tomateiro, como efeito da redução na acumulação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malonaldeído (MDA) moléculas relacionadas com a atividade oxidativa dos tecidos em condições de estresse, foram relacionados com ação de BPCP e com a capacidade destas na produção de ACC (1-aminociclopropano-1-carboxilato) deaminase (CHEN et al., 2014; MAYAK et al., 2004).

4.4. Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

O nitrogênio compõe 78% da atmosfera, o qual pode ser fixado e disponibilizado para as plantas usando os mecanismos do processo biológico conhecido como Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN) (DIVITO & SADRAS, 2014).

A FBN é um evento natural que se caracteriza pela transformação do nitrogênio atmosférico que está na forma de N₂ em NH₃, este processo permite passar de uma forma não assimilável para as plantas a uma forma de nitrogênio assimilável. Essa transformação é possível pelo fato que alguns microrganismos do solo -entre eles as bactérias- possuem mecanismos que permitem o rompimento da tripla ligação do nitrogênio atmosférico por meio da ação da enzima nitrogenase, produzindo amônia (NH₃) (HOFFMAN et al., 2013).

A nitrogenase é uma enzima presente nos microrganismos diazotróficos, principalmente associada a redução de nitrogênio atmosférico a amônia, além disso, a nitrogenase pode reduzir outras moléculas como acetileno (HOFFMAN et al., 2013).

A nitrogenase é composta por duas subunidades de proteínas, chamadas metal-proteínas (moliproteína, vanadioproteína e ferropoteína) pelas características químicas e suas dependências com os metais molibdênio, vanádio e ferro, respectivamente (EADY, 2003).

A presença dos tipos de nitrogenase e sua atuação depende da ausência dos metais. Em ausência de ferro, as proteínas dependentes de molibdênio e vanádio estarão presentes e o processo se repete para os diferentes cenários. A atividade da nitrogenase pode ser inibida pela concentração de oxigênio, presença de nitrogênio na forma de amônia, a disponibilidade de energia na célula e idade fisiológica da célula (REBELEIN et al., 2014).

Os genes envolvidos na fixação do nitrogênio são conhecidos como genes *nif* (nitrogen fixing) responsáveis pela transcrição do complexo da enzima nitrogenase. Os mais conhecidos são *nifD*, *nifK*, *nifH* (SANTI; BOGUSZ; FRANCHE, 2013). No caso das bactérias nodulíferas os genes codificam para o complexo do nodo, e são conhecidos como genes *nod*, e dependendo do gênero da bactéria os genes poderão ser genéricos ou específicos para o reconhecimento hospedeiro-bactéria (DIXON & KAHN, 2004).

A fixação biológica do nitrogênio pode ser efetuada pelas bactérias de vida livre ou consorciadas chamadas também endofíticas, estes tipos de bactérias podem se associar com plantas mono e dicotiledôneas e promover o crescimento destas (SANTI; BOGUSZ; FRANCHE, 2013). A FBN pode ser realizada por diferentes espécies de bactérias de forma específica para algumas plantas ou de forma livre sem ter uma relação estreita entre um tipo de bactéria e uma planta, ou seja, estabelecendo diferentes graus de especificidade (IKEDA et al., 2013).

A FBN precisa de energia inicial na forma de ATP (adenosina trifosfato) para que os microrganismos possam desenvolver o processo em sistemas não simbióticos, ou as bactérias podem colonizar tecidos das plantas como ocorre no caso dos organismos endofíticos. Este processo de colonização ocorre pela condução das bactérias ao rizoplasma, atraídas pelos exsudados da região da rizosfera das plantas hospedeiras (DIXON & KAHN, 2004).

4.5. Bactérias solubilizadoras de fosfato

O fósforo é um elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, sua disponibilidade nos solos geralmente é baixa devido aos diferentes processos de imobilização que ocorrem neste. Para suprir as necessidades das plantas é necessário colocar grandes quantidades de fósforo no solo (SILVA & VIDOR, 2000). Depois do nitrogênio, o fósforo é o segundo elemento mais requerido pelas plantas para seu crescimento e produção. O fósforo faz parte das moléculas essenciais para a vida das plantas e animais como adenosina trifosfato (ATP), ácido desoxirribonucleico (DNA) e fosfolipídeos (ANTOUN, 2012).

O fósforo (P) tem um ciclo complexo no ambiente terrestre, composto por alta diversidade de formas. O ciclo é compreendido pelas adições e perdas; as adições podem ocorrer de diferentes formas: 1) pela via do P que está presente nas plantas e animais liberado na matéria orgânica, 2) pela liberação das rochas ao solo e 3) pelas adições feitas com adubações (GONZÁLEZ et al., 2014).

O fósforo no solo se encontra de diversas formas, as formas orgânicas dependem do teor de matéria orgânica e a maior parte das formas inorgânicas encontra-se como ácido ortofosfórico (H_3PO_4) (KHAN et al., 2014). A presença de uma espécie de fosfato no solo depende de muitos fatores, como o pH, por exemplo: o ácido indissociado só predomina em meios com pH baixo, menor que 2,14 e o anión trivalente HPO_4 tem maior presença em valores de pH superiores a 12,3. Por outro lado, as espécies mono e bivalentes são as que predominam nos ambientes mas naturais, com valores de pH intermediários (POSSO & DE PRAGER, 2017).

Dentro das diversas sinergias que acontecem no solo, alguns microrganismos dispõem as formas inorgânicas (Ca-P, Al-P e Fe-P) de fósforo que podem ser aproveitadas pelas plantas no desenvolvimento do ciclo da vida, essas sinergias proporcionam melhores condições para o incremento da produtividade (SILVA & VIDOR, 2000). A ação de solubilizar tem sido associada principalmente a modificação do pH, que pode ser pela produção de ácidos orgânicos ou incremento de prótons no meio (GYANESHWAR et al., 2002).

Além do anterior, o mecanismo de solubilização de fósforo pode ser agrupado em: a) utilização de ácidos orgânicos como glucônico, isovalérico, oxálico, tartárico, succínico, cítrico, fumárico e butírico, diminuindo o pH do meio ou processos de quelação; b) mecanismo de extrusão de prótons H^+ , resultantes da assimilação de NH_4^+ pelo mecanismo de

translocação do H^+ pela enzima H^+ ATPase no processo de produção de energia pela hidrólise do ATP; c) produção de exopolissacarídeos por microrganismos do solo e d) produção de sideróforos por microrganismos com alta afinidade por ferro (POSSO & DE PRAGER, 2017; BASHAN et al., 2013; SANCHEZ, 2012).

Muitas pesquisas são desenvolvidas procurando encontrar novas espécies de bactérias que possam solubilizar formas complexas de fósforo (KHAN; ZAIDI; AHMAD, 2014). Sharon et al., (2016) encontraram no processo de isolamento de bactérias de raízes de tomateiro, efeito positivo na solubilização de fósforo. Destas bactérias, duas conseguiram solubilizar fósforo *in vitro*, mas não tiveram resposta estatística significativa no incremento da matéria seca das plantas de tomate aos 56 dias depois de semeadas.

As estirpes de bactérias *Pantoea agglomerans* e *Burkholderia anthina* foram testadas no incremento na absorção de fósforo por parte do tomateiro em estufa agrícola, obtendo resposta estatística significativa no incremento da matéria seca e nos conteúdos de fósforo, quando comparadas com plantas semeadas em solo (testemunha) com adubação de fosfato tri cálcico sem nenhum tipo de bactéria. Além disso, foram avaliados a produção de AIA (ácido indolacético), produção de sideróforos e atividade de ACC deaminase (WALPOLA & YOON, 2013).

Pseudomonas putida uma estirpe isolada de raízes de tomateiro mostrou efeito positivo na solubilização de $Ca_3(PO_4)_2$ em cultura *in vitro*, além disso, também incrementou o comprimento das raízes do tomateiro e a matéria seca da parte aérea quando comparado com o controle (PASTOR et al., 2014). Por outro lado, a adição de L-triptofano (0,25nM-0,75nM) junto com a inoculação de *P. putida* demonstrou efeito negativo na matéria seca e comprimento da parte aérea das mudas tratadas (PASTOR et al., 2014).

4.6. Potencial de síntese de compostos indólicos por parte das BPCP

A produção de fitohormônios é uma das características identificadas como responsável pela promoção do crescimento em plantas por parte das BPCP (DUCA et al., 2014; SCAGLIOLA, et al., 2016). Cinco classes de fitohormônios são descritos como os principais dentro das ações das BPCP em sua relação com as plantas: auxinas, giberelinas, citocininas e o etileno. (CASSÁN; VANDERLEYDEN & SPAEPEN, 2014). Dentro das diversas funções que

desempenham os fitohormônios nas plantas, estão: desenvolvimento das raízes e da parte aérea, amadurecimento de frutos, tolerância estresses abiótico e biótico, dentre outros (SMÉKALOVÁ et al., 2014; SCHALLER; BISHOPP; KIEBER, 2015).

Dentro dos hormônios identificados como produzidos pelas BPCP está o ácido indol acético (AIA), como um dos mais estudados dentro da promoção da relação entre as bactérias diazotróficas e as plantas hospedeiras (MOHITE, 2013). O AIA é um tipo de hormônio do grupo das auxinas, produzido no meristema apical e transportado pelas células do parênquima até as raízes (ADAMOWSKI & FRIML, 2015). O AIA está relacionado com os processos de alongamento, divisão e diferenciação das células no meristema.

A produção de AIA por parte das BPCP tem sido relatada por muitos estudos (MOHITE, 2013; ABBAMONDI et al., 2016; LATIF et al., 2016) a procura das bactérias que possam produzir estes hormônios, se consorciando com culturas alvo. A produção de AIA tem sido relatada para duas vias: dependente e não dependente de triptofano (ADAMOWSKI & FRIML, 2015).

Para as rotas dependentes de triptofano foram propostos diferentes caminhos: via do indol-3 acetamida (IAM), via do ácido indol-3-pirúvico (AIP), via triptamina (TAM), e a via indol-3-acetaldoxima (IAOx), as mais relatadas são as vias IAM e AIP (DUCA et al., 2014).

A via indol-3-acetamida (IAM) ocorre em duas etapas, na primeira parte o triptofano é convertido no início a IAM pela enzima triptofano monooxigenase, na segunda parte o IAM é convertido para AIA pela ação da enzima indol-3-acetamida hidrolase (KHAN et al., 2014).

A via do ácido indol-3-pirúvico (AIP) o triptofano no início é desaminado a AIP pela enzima aminotransferase, posteriormente uma enzima descarboxilase converte em AIP a indol-3-acetaldeído, o qual é oxidado a IAA pela enzima aldeído desidrogenase (TIAN et al., 2017).

Latif et al., (2016), encontraram que as BPCP *Sphingomonas sp.* *Methylobacterium radiotolerans*, *Bacillus subtilis*, tinham a capacidade de produzir AIA, além de promover o crescimento em mudas de tomateiro, encontrado resposta no incremento do comprimento e da matéria seca da raiz e do caule.

As BPCP *Rhizobium sp.* e *Rhodococcus sp.* isoladas de raízes de tomateiro, exibiram produção de AIA e mudas de tomateiro inoculadas mostraram maiores valores no comprimento de raízes laterais (ABBAMONDI et al., 2016).

4.7. Bactérias solubilizadoras de óxido de zinco

O zinco (Zn) é um nutriente essencial para o desenvolvimento das culturas, é considerado um micronutriente e tem relação direta com o desenvolvimento e função dos reguladores de crescimento de plantas que influenciam o alongamento dos internós, assim como o desenvolvimento do cloroplasto (XU et al., 2013).

O Zn é necessário para a sínteses de proteínas e enzimas na planta, faz parte do processo de síntese do triptofano, precursor do ácido índole acético (AIA), por isso sua presença na planta é relacionada com esse hormônio (WENG et al., 2015). Plantas de tomate podem ter comprometido seu desenvolvimento e produtividade, assim como os conteúdos de auxinas, em condição de deficiência de Zn (TSUI, 1948; WENG et al., 2015).

Os processos de resposta de plantas de tomateiro frente à condições de estresse causado por excesso de sais, foi relacionado com as proteínas estruturais chamadas *Zinc Finger* (ZIF) (DAVLETOVA et al., 2005). No caso do tomate os SIZF2 foram relacionados com a resposta da planta a condições não favoráveis de salinidade, nesta condição, ausência ou deficiência de Zn pode estar relacionada com a capacidade da planta frente a uma melhor resposta às condições de estrese salino (HICHRI et al., 2014).

As BPCP dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* ao serem avaliadas na capacidade de solubilizar zinco, produziram halos de solubilização de 2,80 e 3,30 cm, respectivamente, em placas de Petri contendo óxido de zinco, essa habilidade foi atribuída à produção de ácidos orgânicos (SARAVANAN; SUBRAMONIAM; RAJ, 2004).

5. MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos nos Setores de Floricultura e Olericultura do *Campus Florestal*, da Universidade Federal de Viçosa, situados no município de Florestal, estado de Minas Gerais, Brasil, com posição geográfica determinada pelas coordenadas Latitude: 19° 53' 22" S Longitude: 44° 25' 57" W. Os ensaios dos experimentos foram conduzidos durante o período compreendido entre Junho do 2016 a Junho do 2017. O experimento em estufa foi desenvolvido durante o período compreendido entre os meses de abril e maio de 2017. Durante este período foi registrada a temperatura dentro da estufa, com leitura máxima média durante o dia de $44\pm 3^{\circ}\text{C}$ e durante a noite de $15\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa máxima média durante o dia de $80\pm 1\%$ e durante a noite de $16\pm 2\%$.

5.1. Isolamento e quantificação de bactérias diazotróficas

O isolamento e quantificação das bactérias diazotróficas foram realizados segundo Döbereiner et al., (1995). As amostras foram coletadas de tomateiro cultivar Grazianni no Setor de Olericultura do *Campus Florestal* da Universidade Federal de Viçosa. Amostras de 10g de cada órgão da planta (raiz, caule, folha) foram trituradas com 90 mL de solução salina ($8,5\text{ gL}^{-1}$ de NaCl), e realizado diluições seriada de 10^{-2} a 10^{-6} . De cada uma das diluições, alíquotas de 100 μL foram colocadas em triplicata em frascos de penicilina de vidro contendo os meios semissólidos isentos de nitrogênio: NFb, JNFb, JMV, JMVl, LGI e LGIP. Também foram usados os mesmos meios com modificação do pH: JMV modificado (JMVM) com pH 6,5, NFb modificado (NFbM) com pH 4,5 e LGI modificado (LGIM) com pH 4,6. A formação de uma película aerotóxica típica na superfície do meio depois de 7 dias à 30°C , foi considerado como resultado positivo.

A quantificação das bactérias presentes nos meios de cultivo foi realizada pela técnica do número mais provável (NMP) descrito por Döbereiner et al., (1995), usando a tabela de McCrady para três réplicas para cada diluição. Os resultados foram transformados para o logaritmo e depois foram calculados a média e o desvio padrão da média para cada tratamento.

5.2. Caracterização morfológicas das bactérias isoladas

Após crescimento das bactérias nos diferentes meios de cultivo, essas foram tiradas dos frascos de penicilina com o auxílio de alça bacteriológica e colocadas em tubos de ensaio com 5 mL de meio líquido DYGS durante 24 horas com temperatura igual a 30 °C e com agitação permanente a 120 rpm. Em seguida, foram transferidas para placas de vidro tipo Petri com o mesmo meio de cultura suplementado com ágar (15 gL⁻¹). As placas foram mantidas em estufa bacteriológica a 30 °C durante 7 dias e as colônias resultantes caracterizadas de acordo com a morfologia das células (forma e coloração de Gram) e as características das colônias (forma, cor, tamanho, a elevação, bordo, superfície, mucosidade).

Cada isolado bacteriano recebeu um código de acordo com a sequência: UFV, seguido de números que informam o nome da planta hospedeira, o órgão da planta de onde foi isolada a bactéria, o meio de cultura usado no isolamento e a diluição.

5.3. Identificação de bactérias solubilizadoras de fosfato de cálcio

A avaliação das bactérias com potencial de solubilização de fosfatos foi realizada como descrito por Baldotto (2010), para isto as bactérias foram crescidas em meio líquido DYGS por 24 horas, a 30 °C e 120 rpm. Alíquotas de 10 µL das soluções bacterianas foram colocadas em placas de Petri com meio de cultura sólido contendo 10 gL⁻¹ de glicose, 5 gL⁻¹ de cloreto de amônio (NH₄Cl), 1 gL⁻¹ de cloreto de sódio (NaCl), 1 gL⁻¹ de sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO₄.7H₂O), 1 gL⁻¹ de fosfato de cálcio (Ca₅(PO₄)₃OH), 15 gL⁻¹ de ágar em 1L de água destilada, o pH foi ajustado para 7,0 e as placas incubadas a 28 °C por 7 dias. Foram colocados 6 isolados por placa e três repetições para cada um. A avaliação da solubilização de fosfato foi feita por meio da obtenção da média das três repetições e o desvio padrão do valor do halo translúcido que se forma em torno das colônias bacterianas solubilizadoras. O valor do halo foi medido com auxílio de um paquímetro digital e calculado por meio da fórmula: diâmetro do halo (mm) = diâmetro total- diâmetro da colônia. O potencial solubilizador dos isolados foi calculado por meio do Índice de Solubilização, com a fórmula: diâmetro do halo / diâmetro da colônia (MASSENSINI et al., 2016).

5.4. Identificação do potencial de sínteses de compostos indólicos

A identificação do potencial de sínteses de compostos indólicos foi feito segundo metodologia proposta por Baldotto et al., (2010). As bactérias foram crescidas em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio DYGS por 24 horas, a 30°C e 120 rpm. Alíquotas de 10µL foram transferidas para placas de Petri contendo meio sólido de ágar triptona de soja (TSA) à 10%, e adicionado 15gL⁻¹ de ágar suplementado com 10,021 gL⁻¹ de triptofano, em seguida as placas foram cobertas por membrana de nitrocelulose. As placas foram colocadas em estufa bacteriológica por 24h, a 30°C. A membrana foi coletada, e posteriormente se adicionado 10 mL do reagente Salkowski (1 mL de tricloreto de ferro hexa-hidratado (FeCl₃.6H₂O) - 0,5 mol L⁻¹, em 50 mL de ácido perclórico (HClO₄) - 35 % em água) e incubada no escuro por 10 min. A formação do halo rosa no local onde havia colônia, foi o indicador da síntese de indol. Foram feitas três repetições para cada estirpe de bactéria e foram colocados 16 isolados por placa.

5.5. Identificação de bactérias solubilizadoras de óxido de zinco

A avaliação das bactérias com potencial de solubilização de óxido de zinco foi realizada como descrito por Baldotto (2010), para isto as bactérias foram crescidas em meio líquido DYGS por 24 horas, a 30 °C e 120 rpm. Alíquotas de 10 µL das soluções bacterianas foram colocadas em placas de Petri com meio de cultura sólido contendo 10 gL⁻¹ de glicose, 1 gL⁻¹ de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄), 0,2 gL⁻¹ de cloreto de potássio (KCl), 0,1 gL⁻¹ de fosfato de potássio dibásico, 0,2 gL⁻¹ de sulfato de magnésio hepta-hidratado (MgSO₄.7H₂O), 1 gL⁻¹ de óxido de zinco (ZnO), 15 gL⁻¹ de ágar, em 1 L de H₂O destilada, ajustando o pH para 7 e as placas foram incubadas a 28 °C por 7 dias. Foram colocados 6 isolados por placa e três repetições por cada um. A avaliação da solubilização de zinco foi feita por meio da obtenção da média das três repetições e o desvio padrão do diâmetro do halo translúcido que se forma em torno das colônias bacterianas solubilizadoras. O diâmetro do halo foi medido com auxílio de um paquímetro digital e para calcular o valor foi usada a fórmula: diâmetro do halo (mm) = diâmetro total- diâmetro da colônia.

5.6. Avaliação da promoção do crescimento de mudas de tomateiro

O semeio de sementes de tomate cultivar San Marzano, foi feita em bandejas plásticas com células com as dimensões: externa de 545mm x 280 mm, boca de 23 mm, profundidade de 40 mm e volume de 34,6 cm³, colocando duas sementes em cada célula. Como substrato foi usado fibra de coco ®AMAFIBRA, previamente lavada e deixada imersa em água durante 6 horas, em seguida foi retirada a água e a fibra colocada nas bandejas. Aos 15 dias após o plantio, foi feito desbaste, com o objetivo de deixar uma muda por célula.

A inoculação das mudas com os isolados foi feita 17 dias após semeadura. Para obtenção do inóculo, as bactérias foram crescidas em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio DYGS líquido por 24 horas a 30 °C e 120 rpm. Depois, foram transferidas para frascos de Erlenmeyer contendo 100 mL de meio DYGS líquido, crescidas durante 24 horas, 30 °C e 120 rpm. Cada planta recebeu 1 mL de inóculo contendo as bactérias selecionadas por meio de uma pipeta automática (aproximadamente 5×10^6 UFC).

A adubação das mudas foi feita com solução de Hoagland (HARMANPREET et al., 2016; LUNA et al., 2012), depositando 120 mL de solução à 75% por repetição a cada 48 horas e de forma manual. As mudas foram colhidas aos 35 dias após semeadura e feitas as medições das variáveis de crescimento e nutricionais, bem como quantificado o número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas.

O crescimento das mudas de tomateiro foi avaliada por meio da medição das variáveis: volume da raiz (VR), medido pelo método de deslocamento de volume de água conhecido em proveta; diâmetro do caule (DC), medido na parte inferior à inserção dos cotilédones com auxílio do parquímetro; altura de inserção dos cotilédones (AC), medida com régua do colo à região de mudança de cor; altura da muda (AM), medida com régua do colo ao ponto de crescimento apical; relação altura da muda e diâmetro do caule (AM/DC); número de folhas (NF), contando o número de folhas expandidas; matéria fresca da raiz (MFR), obtido pela pesagem de raízes da amostra, matéria fresca da parte aérea (MFPA), obtido pela pesagem do caule e folhas das mudas da amostra e matéria fresca total (MFT), foi a soma da matéria fresca da parte aérea e da raiz. Para a obtenção da matéria seca da parte aérea (MSPA), as folhas e caules das mudas de tomateiro foram cuidadosamente acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa (70°C) até atingir peso constante. O mesmo procedimento de secagem

foi empregado para as raízes. Depois foi feita a pesagem do material, tanto da parte aérea quanto para as raízes (MSR) e a soma (MST).

Para estabelecer uma relação entre alguns dos parâmetros que expressam o crescimento da muda, foi calculado o índice de qualidade de Dickson (IQD). O cálculo do IQD foi feito de acordo com a fórmula: $IQD = MST / [(AM/DC) + (MSPA/MSR)]$. Onde temos matéria seca total (MST), altura da muda (AM), diâmetro do colo (DC), matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) (DOS SANTOS et al., 2016).

Para a determinação do teores de N, P, K, foi feita a pesagem e à trituração do material, tanto da parte aérea quanto das raízes, separadamente. Para a determinação do nitrogênio foi usado o método de Kjeldahl, uma amostra de 0,1 g de tecido foi colocada em tubos de ensaio com ácido sulfúrico junto com mistura digestora composta por sulfato de cobre e sulfato de sódio durante 12 horas, depois foi feita a digestão à 350 °C até atingir a cor verde claro, posteriormente foi feita a destilação em presença de hidróxido de sódio (NaOH), água (H₂O) e ácido bórico (H₃BO₃) à 4%, para posteriormente fazer a titulação com HCl (VACCARO et al., 2004).

Para P e K foi feita digestão nitroperclórica segundo descrito no protocolo de anáises de rotina do laboratório de nutrição mineral de plantas da UFV *campus* Viçosa: amostras de 0,5 g de tecido foram colocadas em tubos de ensaio e agregado 4 mL de ácido nítrico deixando 12 horas em repouso. Depois os tubos foram levados para bloco digestor até atingir 95°C e a matéria parcialmente digerida, seguidamente foram colocados 2 mL de ácido perclórico e aumentada a temperatura para 150 °C até atingir cor clara. Os tubos foram retirados do bloco e em seguida, para cada tubo foi acrescentado 23 mL de água destilada. De cada um dos tubos foi retirada alíquotas de 5 mL e foram levadas para tubos de ensaio chamado extrato 1, usado para fazer as soluções de leitura de P e K.

Para P foi feita solução de leitura foi feita com 5 mL do extrato 1 e foram completados para 25 mL, desta solução foram tomadas alíquotas de 1 mL e levadas para tubos de ensaio contendo 2,5 mL de solução 725 e 1 mL de vitamina C à 2%, a leitura foi feita em espectrofotômetro a 725 nm. Para K, 5 mL do extrato 1 foi completado para 25 mL, alíquotas de 1 mL desta solução foram levadas para tubos de ensaio e feita a leitura em espectrofotômetro a 725 nm.

Para quantificação do NMP de bactérias diazotróficas foram usadas três mudas de cada tratamento. Amostras de 10g (contendo tecidos da raiz, caule, folha) foram trituradas com 90 mL de solução salina ($8,5\text{g L}^{-1}$ de NaCl), e realizadas diluições seriadas de 10^{-2} a 10^{-6} . De cada uma das diluições, alíquotas de 100 μL foram colocadas em triplicata em frascos de penicilina de vidro contendo os meios semi-sólidos isentos de nitrogênio: NFb, JNFb, JMV, JMVl, LGI e LGIP. Também foram usados os mesmos meios com modificação do pH: JMV modificado (JMVM) com pH 6,5; NFb modificado (NFbM) com pH 4,5; LGI modificado (LGIM) com pH 4,6. A formação de uma película aerotóxica típica na superfície do meio depois de 7 dias à 30 °C, foi considerado como resultado positivo.

5.7. Avaliação estatística

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições por tratamento, a unidade experimental consistiu de 20 mudas, das quais 6 foram a unidade útil. O número de tratamentos foi definido de acordo com o número de cepas bacterianas isoladas (29) mais o controle composto por mudas sem inoculação de bactérias diazotróficas e com a aplicação de 1mL de DYGS autoclavado.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e para agrupar as médias dos tratamentos foi usado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, os cálculos foram feitos com o auxílio do programa R Development Core Team (2015).

6. RESULTADOS

6.1. Quantificação e isolamento de bactérias diazotróficas de tomateiro

O resultado do número mais provável (NMP) de bactérias estimado com o auxílio da tabela de McCrady (DÖBEREINER et al., 1995), transformado ao logaritmo, para os meios de cultivo usados na identificação da condição de fixação biológica de nitrogênio, para a parte aérea (folhas e caule) e da raiz de plantas de tomateiro coletadas na UFV *Campus* Florestal no Setor de Olericultura. (Gráfico 1)

Encontrou-se maiores concentrações de bactérias diazotróficas nos tecidos da raiz quando comparado com os tecidos da parte aérea nos diferentes meios usados. Os meios modificados NFbM e JMVM não apresentaram crescimento bacteriano na parte aérea, assim como os meios LGI e LGIP.

Os valores das concentrações encontradas para os tecidos da raiz estão entre os valores de 10^4 a 10^6 e para os tecidos da parte aérea entre 10^3 a 10^4 . Os meios com maior concentração encontrados foram o NFb ($6,76 \times 10^6$) e o JNFb ($4,5 \times 10^4$) para os tecidos da parte aérea e para os tecidos da raiz foram o JNFb ($4,7 \times 10^4$) e o JMV ($5,7 \times 10^6$).

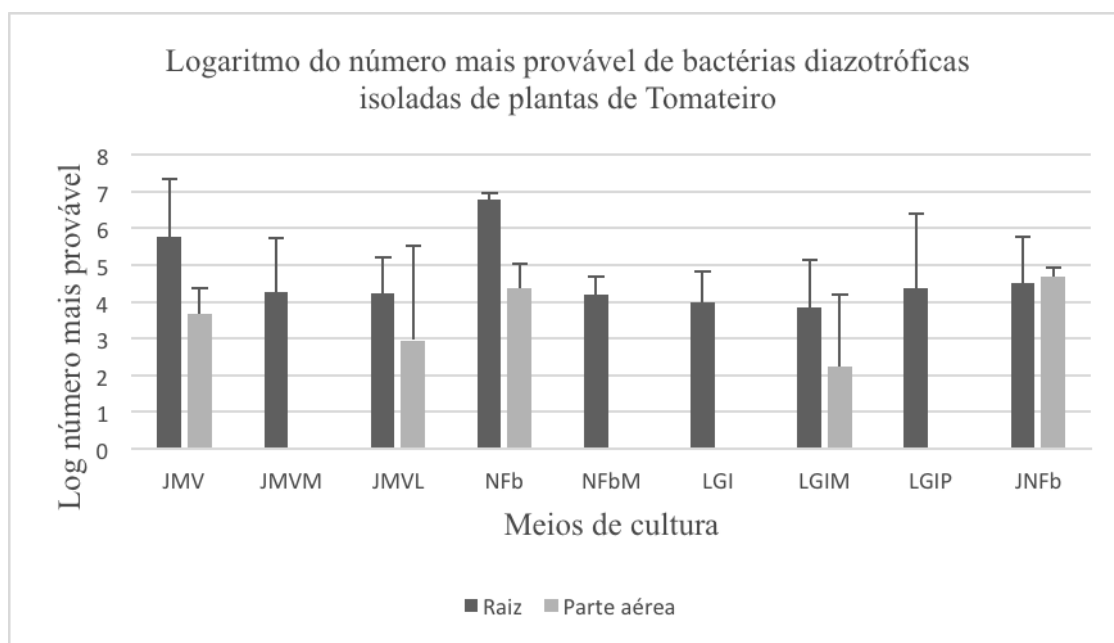


Gráfico 1. Número mais provável (NMP) de bactérias nos tecidos de parte aérea (folhas, caule) e raiz de plantas coletadas de tomateiro do cultivar Grazianni, no Setor de Olericultura da UFV *Campus* Florestal. Dados transformados com Log do NMP encontrado para cada meio. Fonte: dados experimento.

Foram obtidos 29 isolados de bactérias dos tecidos de plantas de tomate que apresentaram a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico. A distribuição de bactérias diazotróficas isoladas foi equitativa entre os tecidos da planta, 55% das bactérias foram isoladas da parte aérea e 45% da raiz (Tabela 2).

Os isolados foram nomeados de acordo com o código usado na bacterioteca do Setor de Floricultura da UFV-CAF que contém: a identificação UFV seguido de números que informam: a planta de onde foi isolada a bactéria - tomateiro (8); o tecido de onde foi isolada a bactéria - parte aérea (2), raiz (1); o meio de cultivo usado - JMV (1), JMV L (2), NFb (3), JNFb (4), LGI (5), LGIP (6), JMVM (7), LGIM (8), NFbM (9); o número da diluição usado para o isolamento (dentre 2 até 7) e por último o número do isolado bacteriano (Tabela 2).

Tabela 2. Descrição da codificação dos isolados bacterianos diazotróficos obtidos de *Solanum lycopersicum* L. cultivar Grazianni.

Código de identificação	Planta	Tecido vegetal	Meio de cultura	Diluição	Número da bactéria
UFV81133	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JMV	3	3
UFV81164	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JMV	6	4
UFV81165	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JMV	6	5
UFV81221	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JMVL	2	1
UFV81243	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JMVL	4	3
UFV81361	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	NFb	6	1
UFV81452	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JNFb	5	2
UFV81631	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	NFbM	3	1
UFV81651	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	NFbM	5	2
UFV81725	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JMVM	2	5
UFV81736	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JMVM	3	6
UFV81737	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JMVM	3	7
UFV81741	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	JMVM	4	1
UFV81921	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Raíz	NFbM	2	1
UFV82126	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JMV	2	6
UFV82131	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JMV	3	1
UFV82132	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JMV	3	2
UFV82222	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JMVL	2	2
UFV82234	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JMVL	3	4
UFV82322	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	NFb	2	2
UFV82323	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	NFb	2	3
UFV82334	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	NFb	3	4
UFV82335	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	NFb	3	5
UFV82431	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JNFb	3	1
UFV82433	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JNFb	3	3
UFV82521	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	NFbM	2	1
UFV82722	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JMVM	2	2
UFV82723	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JMVM	2	3
UFV82724	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Parte aérea	JMVM	2	4

Código usado na bacterioteca do Setor de Floricultura da UFV-CAF: Ufv seguido de cinco números que informam: a planta de onde foi isolada a bactéria tomateiro (8); o tecido de onde foi isolada a bactéria parte aérea (2), raiz (1); o meio de cultivo usado JMV (1), JMVL (2), NFb (3), JNFb (4), LGI (5), LGIP (6), JMVM (7), LGIM (8), NFbM (9); o número da diluição usado para o isolamento (dentre 2 até 7), e por último o número da bactéria.

6.2. Caracterização morfológica dos isolados

No processo de caracterização das colônias e das células das bactérias, foram identificados 29 isolados. Destes, 55% foi isolado da parte aérea (folhas e caule) e 45% da raiz. No meio JMV foram identificados 6 tipos diferentes de colônias de bactérias, no meio JNFb foram obtidos 3, para o meio JMVL 4, para o meio JMVM 7, para o meio NFb 5, para o meio NFbM 1, para o meio LGI 1 e para o meio LGIP 2 (Tabela 2).

As colônias no item forma, tiveram a característica circular em 90%, o restante 10% apresentaram forma irregular. Para o item coloração, 62% tiveram a coloração branco leitoso, 14% coloração amarelo, 17% amarelo claro, 3,5% para amarelo leitoso e 3,5 % para branco claro (Tabela 3).

Para o item tamanho da colônia, 83% das colônias foram observado tamanho maior que 1 mm, 14% igual a 1 mm e o restante 3% menor que 1 mm. Para elevação, 21% das colônias apresentaram elevação convexa, 38% tipo lente e 41% tipo pulvinada. Para a característica do bordo, 86% dos isolados exibiram bordo inteiro, 11% lobado e 3% ondulado (Tabela 3).

Para a característica superfície, 97% das colônias tiveram superfície tipo lisa, o restante 3% apresentara superfície rugosa. A condição de mucosidade nas colônias, 72% não apresentaram muco e o restante 28% apresentaram. Na colônia do isolado UFV82234 observou-se uma maior condição de mucosidade relacionada com a produção de biofilme, condição que pode inferir em sua capacidade para competir por espaço com outros microrganismos (Tabela 3).

Para a característica forma das células, 97% apresentaram forma tipo cocos e o restante 3% apresentaram forma de bastonete. No teste de coloração de Gram, 93% exibiram o caráter positivo e 7% o caráter negativo (Tabela 3).

Tabela 3. Caracterização celular e das colônias dos isolados bacterianos de *Solanum lycopersicum* L. cultivar Grazianni.

Identificação Código	Caracterização das Células			Caracterização das colônias					
	Forma	Coloração Gram	Forma	Coloração	Tamanho	Elevação	Bordo	Superfície	Mucosidade
UFV82131	Cocos	Negativo	Circular	Amarela	1mm	Lente	Ondulado	Lisa	-
UFV82132	Cocos	Negativo	Circular	Branca Clara	> 1mm	Convexo	Inteiro	Lisa	-
UFV81133	Cocos	Positivo	Circular	Amarelo claro	> 1mm	Convexo	Inteiro	Lisa	-
UFV81164	Bastonete	Positivo	Irregular	Branco leitoso	> 1mm	Lente	Lobado	Lisa	+
UFV81165	Cocos	Positivo	Circular	Amarelo	> 1mm	Convexo	Inteiro	Lisa	+
UFV82126	Cocos	Positivo	Circular	Amarelo claro	> 1mm	Lente	Inteiro	Lisa	-
UFV82431	Cocos	Positivo	Circular	Amarelo leitoso	> 1mm	Convexo	Inteiro	Lisa	+
UFV81452	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1mm	Convexo	Inteiro	Lisa	-
UFV82433	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1mm	Lente	Inteiro	Lisa	-
UFV81221	Cocos	Positivo	Irregular	Branco leitoso	1 mm	Lente	Lobado	Lisa	+
UFV82222	Cocos	Positivo	Circular	Amarelo claro	1 mm	Lente	Inteiro	Lisa	+
UFV81243	Cocos	Positivo	Circular	Amarelo claro	>1 mm	Lente	Inteiro	Lisa	-
UFV82234	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	>1 mm	Lente	Inteiro	Lisa	++++
UFV81741	Cocos	Positivo	Circular	Amarelo	>1 mm	Convexo	Inteiro	Lisa	+
UFV82722	Cocos	Positivo	Circular	Amarelo claro	< 1 mm	Lente	Inteiro	Lisa	+
UFV82723	Cocos	Positivo	Irregular	Amarelo	>1 mm	Lente	Lobado	Lisa	-
UFV82724	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	1 mm	Lente	Inteiro	Lisa	-
UFV81725	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV81736	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	>1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV81737	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV81361	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV82322	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV82323	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV82334	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Rugosa	-
UFV82335	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV81921	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV82521	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV81631	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-
UFV81651	Cocos	Positivo	Circular	Branco leitoso	> 1 mm	Pulvinada	Inteiro	Lisa	-

6.3. Avaliação da solubilização de fosfato de cálcio

Dos 29 isolados obtidos, 12 apresentaram a capacidade de solubilizar fosfato de cálcio ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$), os 17 restantes não apresentaram o halo característico que identifica a condição de solubilização do fosfato. Os maiores valores para o índice de solubilização foram apresentados pelos isolados UFV81221, UFV81165, UFV82334 e UFV81651 (Tabela 4).

Tabela 4. Isolados bacterianos de tomateiro que apresentaram halo de solubilização de fosfato de cálcio.

Isolado	Valor do halo (mm) *	Índice**
UFV81221	10±0,6	3±1,2
UFV81165	10±4,5	3±2,3
UFV81164	11±3,1	2±0,1
UFV82234	12±5,0	2±0,2
UFV82323	12±7,1	2±0,5
UFV82431	13±6,4	2±0,4
UFV82334	17±3,6	3±1,1
UFV81133	8±0,6	2±0,1
UFV82322	8±2,1	2±0,6
UFV81243	9±2,1	2±0,1
UFV81651	7±1,7	3±0,4
UFV82126	5±2	2±0,2

*Valor do halo: diâmetro do halo transparente - diâmetro da colônia, seguido pelo desvio padrão da média resultante das três repetições. **Índice: diâmetro da colônia dividido pelo diâmetro do halo.

Os 12 isolados que conseguiram solubilizar o fosfato de cálcio, foram testadas no meio de cultura contendo como fonte de fosfato, rocha de Araxá. Nenhum dos isolados conseguiu formar o halo característico que identifica a solubilização do fosfato no meio contendo como única fonte de P o fosfato de rocha de Araxá.

6.4. Avaliação da solubilização de óxido de zinco

Dos 29 isolados obtidos, 23 foram identificados com capacidade de solubilizar óxido de zinco (ZnO), os restantes 6 não apresentaram o halo característico que identifica a condição de solubilização. Os maiores valores foram apresentados pelos isolados: UFV81921, UFV82521, UFV82431, UFV82334 e UFV81133. A tabela 5 contém os resultados do teste de solubilização para todos os isolados.

Tabela 5. Valor do halo dos isolados que solubilizaram óxido de zinco.

Isolado	Valor do halo (mm) *
UFV81921	18,3±1,5
UFV82521	17,3±3,2
UFV82431	16,3±3,1
UFV82334	13,3±3,5
UFV81133	10,0 ±3,5
UFV81361	9,3±3,2
UFV82131	9,0±2,0
UFV81651	8,7±1,5
UFV82723	8,3±1,2
UFV81221	8,0±1,0
UFV82234	8,0±1,0
UFV81725	7,3±0,6
UFV81741	7,0±1,0
UFV81631	7,0±2,0
UFV81452	7,0±3,0
UFV81165	6,0±1,0
UFV81736	5,3±0,6
UFV81243	5,7±2,1
UFV81737	5,0±2,0
UFV82722	4,3±0,6
UFV82724	4,7±1,2
UFV82222	3,0±1,0
UFV81164	1,3±0,6

Dados do teste de solubilização de óxido de zinco *Valor do halo: diâmetro do halo transparente - diâmetro da colônia, seguido pelo desvio padrão da média resultante das três repetições.

6.5. Identificação do potencial de sínteses de compostos indólicos

O teste de identificação *in vitro* do potencial dos isolados bacterianos para sintetizar compostos indólicos foi feito segundo Baldotto et al., (2010), a identificação do halo rosa no ponto identificado de crescimento do isolado na membrana de nitrocelulose, foi considerado como resultado positivo para o potencial de síntese de compostos indólicos. Dos 29 isolados somente dois isolados apresentaram a cor característica para as três repetições no teste *in vitro*;

o isolado UFV81631 e o isolado UFV81651 apresentaram halo rosa no ponto de crescimento (Tabela 6).

Tabela 6. Identificação do potencial dos isolados bacterianos de tomateiro em sintetizar compostos indólicos.

Isolado	Síntese de Indol
UFV82131	-
UFV82132	-
UFV81133	-
UFV81164	-
UFV81165	-
UFV82126	-
UFV82431	-
UFV81452	-
UFV81221	-
UFV82222	-
UFV81243	-
UFV82234	-
UFV81741	-
UFV82722	-
UFV82723	-
UFV82724	-
UFV81725	-
UFV81736	-
UFV81737	-
UFV81361	-
UFV82334	-
UFV81921	-
UFV82521	-
UFV81631	+
UFV81651	+

Dados do teste de síntese de indol: -, ausência do halo rosa; +, presença do halo rosa.

6.6. Avaliação da promoção do crescimento de mudas de tomateiro

Nas tabelas 7, 8 e 9 apresentam-se os dados: altura da muda (AM), altura da inserção do cotilédone (AC), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), volume da raiz (VOL), matéria fresca da parte aérea (MFPA), matéria fresca da raiz (MFR), matéria fresca total em gramas (MFT), matéria seca da raiz (MSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca total (MST), conteúdo de potássio (CK), teor de potássio (TK), conteúdo de fósforo (CP), teor de fósforo (TP), conteúdo de nitrogênio (CN), teor de nitrogênio (TN), índice de qualidade de Dickson (IQD) em resposta à inoculação dos isolados bacterianos diazotróficos.

As médias das variáveis número de folhas (NF), altura da muda (AM), diâmetro do colo (DC), volume da raiz (VOL), matéria fresca da raiz (MFR), matéria seca da raiz (MSR), matéria fresca total (MFT), conteúdo de fósforo (CP) e teor de nitrogênio (TN) não apresentaram diferença estatística para o teste de Scott Knott à 5% de probabilidade.

Para as variáveis MFPA, MSPA, MST, CN e CK, as análises estatísticas mostraram diferença significativa entre as médias. Entretanto, o controle ficou contido dentro do grupo com melhor desempenho, indicando que as bactérias não tiveram efeito no acréscimo destas variáveis nas condições do ensaio (Tabela 7).

12 tratamentos apresentaram diferença estatística para a variável teor de fósforo e tiveram incrementos relativos quando comparados com o tratamento controle assim: UFV81133 de 26%, UFV81243 de 24%, UFV82222 de 23%, UFV81452 de 22%, UFV82131 de 20%, UFV82234 de 19%, UFV82431 de 18%, UFV81921 de 17%, UFV81165 de 17%, UFV81221 de 16%, UFV82126 de 16% e o UFV82433 de 16% . Isolados que apresentaram condição de solubilizar fosfato de cálcio (UFV81133, UFV81165, UFV81221, UFV81243, UFV82234, UFV82431) no teste *in vitro*, também apresentaram diferença estatística *in vivo* comparado ao controle (Tabela 9).

A variável teor de potássio apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Os isolados tiveram incrementos relativos quando comparados com o controle assim: UFV81133 de 14%, UFV81164 de 9%, UFV82131 de 9%, UFV82234 de 8%, UFV81736 de 7%, UFV81165 de 6%, UFV81361 de 5%, UFV81452 de 4%, UFV82322 de 4%, UFV82431 de 4% e UFV81725 de 3%.

Como parte da análise estatística da variável IQD foi necessária sua transformação para a normalização dos dados, para isso foi usada a expressão $IQD^{-1.5}$. Com a transformação aritmética proposta, os dados com melhor desempenho ficaram com os valores menores da média respectiva. Para uma melhor interpretação do IQD na tabela 7, os valores das médias com a letra “b” apresentaram melhor desempenho que as que acompanham a letra “a”.

O tratamento testemunha ficou no grupo com melhor desempenho, indicando que as bactérias usadas não tiveram interferência no índice de qualidade usado. O índice de qualidade de Dickson (IQD) é uma variável que permite ter uma referência da qualidade de mudas (GOMES et al., 2002; COVRE et al., 2013; COSTA et al., 2015).

O IQD é uma relação entre o peso da massa seca total (MST) e a soma das relações entre altura da muda (AM) e o diâmetro do colo (DC), somado com a relação entre o peso da massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSTR): $MST / (AM/DC) + (MSTA/MSTR)$ (DOS SANTOS et al., 2016). Assim, este índice mostra a robustez da planta juntando as características de ganho de massa e sua distribuição (ELOY et al., 2013; COSTA et al., 2015).

Tabela 7. Crescimento das mudas de tomateiro cultivar San Marzano em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas.

Tratamento	IQD ^{-1,5}	NF (ud)	DC (mm)	AM (cm)	AC (mm)	AM/DC	VOL (mL)
Controle	8,2 b	5 ns	3,2 ns	18,4 ns	5a	58,0 a	6,7 ns
UFV81133	13,5 a	5 ns	2,9 ns	18,3 ns	5a	61,5 a	6,3 ns
UFV81164	12,2 a	5 ns	3,0 ns	21,2 ns	5a	69,3 a	6,3 ns
UFV81165	10,6 a	5 ns	3,4 ns	18,5 ns	5a	56,0 b	7,0 ns
UFV81221	10,0 b	5 ns	3,4 ns	16,8 ns	4b	49,9 b	7,7 ns
UFV81243	10,9 a	5 ns	3,1 ns	15,9 ns	4b	51,5 b	7,3 ns
UFV81361	8,9 b	5 ns	3,3 ns	16,9 ns	4b	51,6 b	6,7 ns
UFV81452	10,9 a	5 ns	2,9 ns	17,4 ns	4b	60,1 a	9,3 ns
UFV81631	9,4 b	5 ns	2,9 ns	18,6 ns	4b	63,8 a	6,7 ns
UFV81651	8,5 b	5 ns	3,3 ns	17,9 ns	5a	55,0 b	6,7 ns
UFV81725	7,5 b	5 ns	3,6 ns	17,7 ns	4b	49,2 b	7,0 ns
UFV81736	8,6 b	5 ns	3,3 ns	17,0 ns	4b	52,7 b	6,3 ns
UFV81737	9,2 b	5 ns	3,5 ns	17,9 ns	5a	51,5 b	6,0 ns
UFV81741	9,5 b	5 ns	3,2 ns	17,3 ns	4b	54,9 b	7,0 ns
UFV81921	8,2 b	5 ns	3,6 ns	17,5 ns	5a	49,0 b	7,0 ns
UFV82126	11,0 a	5 ns	3,5 ns	17,4 ns	5a	50,6 b	7,0 ns
UFV82131	12,5 a	5 ns	3,0 ns	18,8 ns	5a	62,4 a	7,0 ns
UFV82132	11,8 a	5 ns	3,0 ns	19,4 ns	5a	64,8 a	6,7 ns
UFV82222	10,1 b	5 ns	3,3 ns	15,6 ns	4b	47,6 b	6,3 ns
UFV82234	9,4 b	5 ns	3,2 ns	16,0 ns	4b	49,8 b	7,0 ns
UFV82322	8,0 b	5 ns	3,4 ns	16,9 ns	5a	48,8 b	6,0 ns
UFV82323	8,6 b	5 ns	3,3 ns	17,1 ns	4b	52,3 b	6,7 ns
UFV82334	7,9 b	5 ns	3,7 ns	18,2 ns	5a	50,0 b	7,0 ns
UFV82335	9,2 b	5 ns	3,3 ns	17,9 ns	4b	55,7 b	7,3 ns
UFV82431	8,8 b	5 ns	4,1 ns	17,9 ns	5a	43,6 b	8,0 ns
UFV82433	12,1 a	5 ns	3,1 ns	16,6 ns	5a	54,3 b	6,7 ns
UFV82521	7,6 b	5 ns	3,7 ns	16,8 ns	4b	45,6 b	5,3 ns
UFV82722	9,1 b	5 ns	3,4 ns	17,7 ns	5a	53,1 b	7,0 ns
UFV82723	9,6 b	5 ns	3,4 ns	18,2 ns	5a	54,2 b	6,7 ns
UFV82724	8,3 b	5 ns	3,2 ns	17,4 ns	5a	54,7 b	7,7 ns
QMR	3,14	0,067	0,13	1,34	0,11	34,8	1,43
CV(%)	18,3	5,21	11,01	6,55	7,32	10,91	17,41

As médias com letras iguais não têm diferença estatística pelo teste de Scott Knott à 5% de probabilidade, QMR: quadrado médio do resíduo, CV: coeficiente de variação, Unidades da variável: Ud, Índice de qualidade de Dickson, IQD^{-1,5}; número de folhas, NF; diâmetro na altura do colo, DC; altura de inserção do cotilédono, AC; altura da muda, AM; relação altura da muda e diâmetro do caule, AM/DC; volume de raiz, VOL, Ns: não significativo.

Tabela 8. Matéria fresca e seca das mudas de tomateiro da cultivar San Marzano em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas.

Tratamento	MFPA (g)	MFR (g)	MFT (g)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
Controle	15,8 a	7,1 ns	22,8 ns	1,9 a	0,5 ns	2,4 a
UFV81133	13,4 b	5,7 ns	19,1 ns	1,4 b	0,3 ns	1,8 b
UFV81164	15,0 a	6,1 ns	21,1 ns	1,7 a	0,4 ns	2,1 a
UFV81165	14,5 a	5,9 ns	20,4 ns	1,5 b	0,4 ns	1,9 b
UFV81221	12,9 b	6,9 ns	19,9 ns	1,4 b	0,4 ns	1,8 b
UFV81243	12,8 b	5,7 ns	18,5 ns	1,4 b	0,3 ns	1,8 b
UFV81361	13,7 b	5,9 ns	19,6 ns	1,6 b	0,4 ns	2,0 a
UFV81452	14,5 a	6,3 ns	18,7 ns	1,5 b	0,4 ns	2,0 b
UFV81631	16,3 a	5,6 ns	21,9 ns	1,9 a	0,4 ns	2,4 a
UFV81651	15,1 a	6,2 ns	21,3 ns	1,7 a	0,4 ns	2,2 a
UFV81725	14,7 a	6,8 ns	21,5 ns	1,8 a	0,4 ns	2,2 a
UFV81736	14,4 a	5,7 ns	20,1 ns	1,7 a	0,4 ns	2,2 a
UFV81737	14,1 a	6,0 ns	20,2 ns	1,7 a	0,4 ns	2,1 a
UFV81741	13,5 b	6,3 ns	19,8 ns	1,5 b	0,4 ns	2,0 b
UFV81921	14,7 a	6,6 ns	21,2 ns	1,6 a	0,4 ns	2,1 a
UFV82126	13,1 b	5,9 ns	19,0 ns	1,5 b	0,3 ns	1,8 b
UFV82131	15,5 a	5,9 ns	21,3 ns	1,6 b	0,3 ns	2,0 b
UFV82132	14,3 a	6,2 ns	20,5 ns	1,6 b	0,4 ns	2,0 b
UFV82222	12,5 b	5,8 ns	18,4 ns	1,3 b	0,4 ns	1,7 b
UFV82234	13,2 b	6,0 ns	19,2 ns	1,4 b	0,4 ns	1,8 b
UFV82322	14,4 a	6,5 ns	20,9 ns	1,7 a	0,4 ns	2,2 a
UFV82323	13,8 b	5,6 ns	19,5 ns	1,6 b	0,4 ns	2,0 a
UFV82334	14,8 a	6,7 ns	21,5 ns	1,7 a	0,4 ns	2,2 a
UFV82335	14,7 a	6,4 ns	21,1 ns	1,8 a	0,4 ns	2,2 a
UFV82431	13,7 b	7,6 ns	21,3 ns	1,5 b	0,4 ns	1,9 b
UFV82433	12,3 b	5,3 ns	17,7 ns	1,3 b	0,3 ns	1,7 b
UFV82521	14,5 a	5,2 ns	19,6 ns	1,7 a	0,4 ns	2,2 a
UFV82722	14,7 a	5,7 ns	20,4 ns	1,7 a	0,4 ns	2,2 a
UFV82723	15,0 a	5,4 ns	20,4 ns	1,7 a	0,4 ns	2,1 a
UFV82724	14,9 a	6,6 ns	21,5 ns	1,7 a	0,4 ns	2,2 a
QMR	1,48	0,79	3,52	0,030	0,004	0,040
CV(%)	8,55	14,42	9,24	10,65	14,72	9,85

As médias com igual letra não apresentam diferença estatística pelo teste de Scott Knott à 5% de probabilidade. QMR: quadrado médio do resíduo. CV: coeficiente de variação. Matéria fresca da parte aérea (MFPA); matéria fresca da raiz (MFR); matéria fresca total, (MFT); matéria seca da parte aérea (MSPA); matéria seca da raiz (MSR); matéria seca total (MST). ns: não significativo.

Tabela 9. Teores e conteúdos dos nutrientes de mudas de tomateiro do cultivar San Marzano em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas.

Tratamento	TN (g Kg ⁻¹)	TP (g Kg ⁻¹)	TK (g Kg ⁻¹)	CN (g/planta)	CP (g/planta)	CK (g/planta)
Controle	14,0 ns	1,41 b	27,1 b	33,6 a	3,39 ns	65,1 a
UFV81133	16,0 ns	1,77 a	30,9 a	28,6 b	3,17 ns	55,2 a
UFV81164	14,2 ns	1,57 b	29,6 a	29,7 b	3,27 ns	61,7 a
UFV81165	14,9 ns	1,65 a	28,8 a	28,9 b	3,22 ns	56,1 a
UFV81221	14,2 ns	1,64 a	26,0 b	25,2 b	2,92 ns	46,1 b
UFV81243	14,2 ns	1,75 a	25,5 b	25,0 b	3,06 ns	44,7 b
UFV81361	15,1 ns	1,60 b	28,5 a	30,7 a	3,24 ns	57,9 a
UFV81452	14,5 ns	1,72 a	28,1 a	28,3 b	3,34 ns	54,7 a
UFV81631	14,0 ns	1,42 b	26,0 b	33,0 a	3,31 ns	61,1 a
UFV81651	15,7 ns	1,49 b	26,3 b	34,6 a	3,28 ns	57,9 a
UFV81725	14,1 ns	1,51 b	27,9 a	31,9 a	3,37 ns	62,7 a
UFV81736	14,4 ns	1,58 b	29,1 a	31,2 a	3,41 ns	63,1 a
UFV81737	13,9 ns	1,58 b	26,8 b	29,0 b	3,27 ns	55,9 a
UFV81741	13,4 ns	1,52 b	26,8 b	26,3 b	2,98 ns	52,8 a
UFV81921	16,6 ns	1,65 a	27,5 b	35,0 a	3,45 ns	57,9 a
UFV82126	14,3 ns	1,63 a	27,7 b	26,4 b	3,01 ns	51,0 b
UFV82131	15,1 ns	1,69 a	29,6 a	29,4 b	3,32 ns	57,7 a
UFV82132	16,8 ns	1,56 b	26,8 b	33,7 a	3,13 ns	53,8 a
UFV82222	15,3 ns	1,73 a	26,3 b	26,1 b	2,96 ns	45,0 b
UFV82234	12,9 ns	1,68 a	29,4 a	23,6 b	3,07 ns	53,5 a
UFV82322	14,6 ns	1,56 b	28,3 a	31,8 a	3,41 ns	61,9 a
UFV82323	15,8 ns	1,55 b	27,5 b	32,1 a	3,17 ns	56,1 a
UFV82334	15,1 ns	1,57 b	27,2 b	32,7 a	3,37 ns	58,8 a
UFV82335	13,1 ns	1,34 b	27,7 b	29,5 b	3,02 ns	62,4 a
UFV82431	14,2 ns	1,67 a	28,1 a	27,3 b	3,23 ns	54,3 a
UFV82433	15,0 ns	1,64 a	25,9 b	25,3 b	2,76 ns	43,8 b
UFV82521	14,5 ns	1,42 b	27,5 b	32,1 a	3,14 ns	60,8 a
UFV82722	13,8 ns	1,51 b	27,9 b	29,4 b	3,23 ns	59,7 a
UFV82723	14,5 ns	1,58 b	27,0 b	30,8 a	3,33 ns	57,3 a
UFV82724	14,8 ns	1,58 b	27,0 b	32,7 a	3,48 ns	59,7 a
QMR	1,71	0,011	11,55	11,58	0,092	30,39
CV(%)	8,94	6,7	4,51	11,42	9,47	9,79

As médias com a mesma letra não apresentam diferença estatística pelo teste de Scott Knott à 5% de probabilidade. QMR: quadrado médio do resíduo. CV: coeficiente de variação. Teor de nitrogênio (TN), teor de fósforo (TP), teor de potássio (TK), conteúdo de nitrogênio (CN), conteúdo de fósforo (CP), conteúdo de potássio (CK). ns: não significativo.

6.7. Identificação da ocorrência de bactérias diazotróficas nas mudas de tomateiro do cultivar San Marzano inoculadas

A técnica do NMP foi usada para a identificação da ocorrência de bactérias diazotróficas dentro dos tecidos das mudas de tomateiro cultivar San Marzano e confirmar a possível presença dos isolados inoculados nas mudas. Para isso foi comparado o valor do NMP encontrado no tecido das mudas inoculadas com os isolados de bactérias diazotróficas e o NMP encontrado no controle, para cada um dos meios de cultura usados no isolamento inicial (Gráfico 2).

O valor encontrado do NMP de cada um dos isolados foi em uma diluição maior que aquele obtido para o controle. Exceto para as mudas dos isolados UFV81133, UFV82431, UFV81452, UFV81921 que apresentaram valor igual de diluição comparada ao controle.

A concentração de células de bactérias diazotróficas variou entre 10^3 até 10^7 . Os isolados com valores dentro da diluição 10^{-7} foram: UFV82126, UFV82433, UFV81741, UFV81736, UFV82323 e UFV82335.

Valores dentro da diluição 10^{-6} foram encontrados para os isolados: UFV81243, UFV82724, UFV81725, UFV81737, UFV82334, UFV81651, para a diluição 10^{-5} foram obtidos os isolados: UFV81164, UFV82222, UFV82234, UFV82723, UFV81361, UFV82322, UFV82521 e UFV81631.

Os valores para a diluição 10^{-4} foram apresentados pelos isolados: UFV82131, UFV82132, UFV81165, UFV82431, UFV81452, UFV81221, UFV82722, UFV81921 e para a diluição 10^{-3} foi apresentada pelo isolado UFV81133. As mudas do controle apresentaram valores dentro das diluições entre 10^{-2} e 10^{-4} nos diferentes meios de cultura.

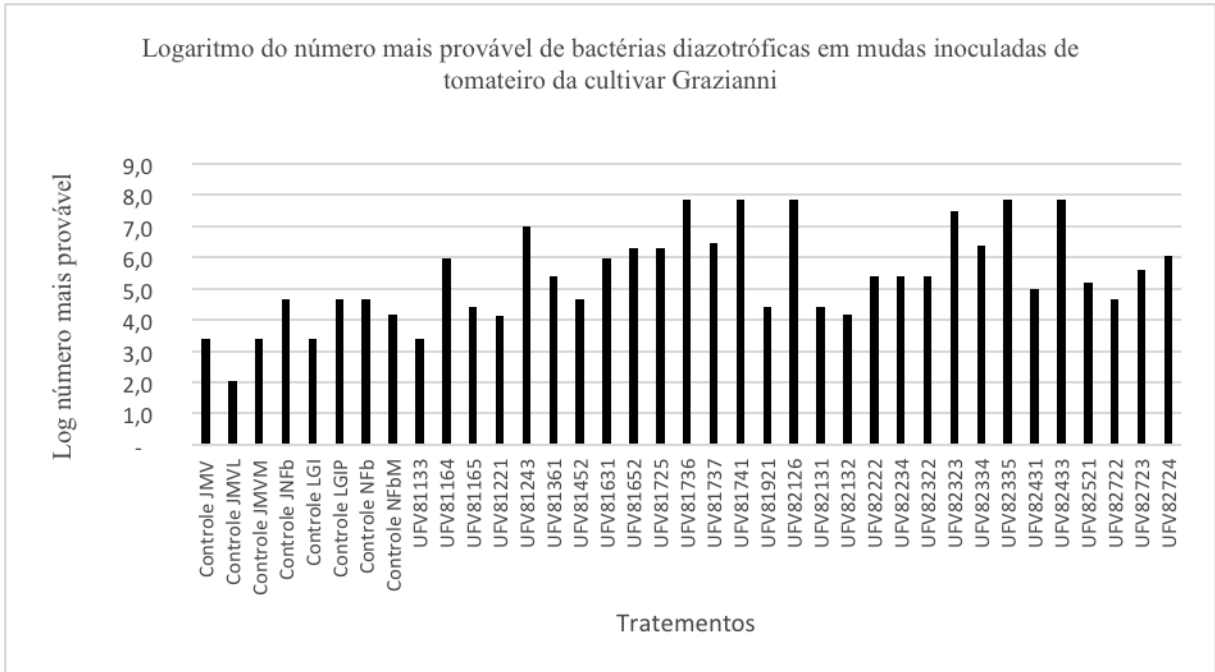


Gráfico 2. Log do número mais provável de ocorrência de bactérias diazotróficas em mudas de tomateiro cultivar San Marzano inoculadas com os isolados e controle para cada um dos meios de culturas usados.

7. DISCUSSÃO

A produção de mudas é parte fundamental da cultura de tomateiro, já que desta condição depende o êxito no desenvolvimento da cultura nos aspetos nutricionais e produtivos, a melhoria no sistema de produção destas se traduz em acréscimos na produtividade. A identificação de novos isolados de BPCP é alvo de muitas pesquisas que procuram identificar estirpes que promovam o desenvolvimento das plantas (HASSEN & LABUSCHAGNE, 2010; IKEDA et al, 2013; MOHITE, 2013; PEDRINHO, 2010). Procurando novas estirpes que ajudem na mitigação dos diferentes problemas que são enfrentados na produção de alimentos (SCAGLIOLA et al., 2016).

São conhecidos diferentes mecanismos pelos quais as BPCP interferem no desenvolvimento do simbiote: fornecendo ou melhorando a disponibilidade dos nutrientes, aumentando a proteção aos inimigos naturais, dentre outros (ADESEMOYE; OBINI; UGOJI, 2008; AHEMAD & KIBRET, 2014; ANTOUN, 2012; BASHAN et al., 2014; BASHAN et al., 2013; BEHERA et al., 2014).

Neste trabalho foram obtidos 29 isolados de bactérias diazotróficas nos diferentes meios de cultura isentos de nitrogênio, algumas espécies de bactérias isoladas em outras pesquisas nos mesmos meios foram: meio JNFb, *Methylobacterium radiotolerans*, *Bacillus pumilus*; meio NFb, *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum brasilense* (DA SILVA et al., 2015; REIS et al., 2015). As bactérias diazotróficas *Achromobacter xylosoxidans*, *Arthrobacter tumbae* e *Micrococcus luteus* conseguiram crescer no meio JMV (KAPLAN et al., 2013; BENSON et al., 2014). Em cana de açúcar foi reportado o uso dos meios LGIP, LGI, NFb e JNFb para o isolamento das bactérias *Acetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum spp.* que apresentaram efeito positivo no incremento da matéria seca em mudas de cana de açúcar (GÍRIO et al., 2015; DOS REIS JUNIOR et al., 2000).

Dos Reis Junior et al., (2000) no processo de isolamento de bactérias diazotróficas em cana de açúcar encontraram maiores porcentagens de alguns gêneros em raízes, seguido de colmos e folhas. O presente trabalho também mostrou para a cultura do tomate maior concentração de bactérias diazotróficas nos tecidos da parte aérea quando comparados com os tecidos da raiz, isto para todos os meios usados (gráfico 1).

Fernandes; Fernandes & Silva (2001) não encontraram diferença significativa no NMP de bactérias diazotróficas quando comparadas as quantidades em raízes esterilizadas e não

esterilizadas do coqueiro (*Cocos nucifera*) em meio JNFb. As quantidades tiveram uma diferença de 0,5 a 10^{-3} no NMP. Os autores concluíram que a distribuição de BPCP endófitas e epífitas em raízes de coqueiro é igual estatisticamente. As comunidades de BPCP podem ter uma relação direta com as propriedades físicas e químicas do solo (LÓPEZ-LÓPEZ et al., 2017). Guong et al., (2012) testaram a mudança na diversidade da comunidade de rizobactérias nos sistemas de rotação das culturas milho (*Zea mays*), feijão-mungo (*Phaseolus aureus*) e arroz (*Oryza sativa*) comparando com o sistema de monocultura de arroz; a composição, abundância e diversidade da comunidade de bactérias da rizosfera foi maior no sistema de rotação quando comparado com o sistema de monocultura, associando os resultados a diversidade que se tem na rotação de culturas nos exsudados das raízes, resíduos das raízes e trocas nos aportes de matéria orgânica.

Padder et al., (2017), no processo de isolamento de bactérias diazotróficas de *Brassica rapa* L., encontraram que 63% dos isolados tinham o caráter Gram negativo. O mesmo foi observado por Ashfaq et al., (2016) que isolaram 22 estirpes de bactérias diazotróficas na cultura de arroz, das quais 86% apresentaram caráter Gram negativo e por Patel et al., (2012) que isolaram 18 estirpes do tomateiro, das quais 72% apresentaram caráter Gram negativo. No presente trabalho 93% dos isolados apresentaram caráter positivo, apresentado diferença com as pesquisas antes relatadas, mostrando a diversidade que pode ser encontrada dentro dos microrganismos diazotróficos (ANDREOLLI et al., 2016; PEREIRA & CASTRO, 2014)

Um dos fatores que afeta o desenvolvimento das bactérias diazotróficas é o pH do meio de cultura (SHIN et al., 2012). Condição que pode restringir ou favorecer o desenvolvimento das colônias (BANDARA; SENEVIRATNE; KULASOORIYA, 2006; DA SILVA et al., 2016). A mudança do pH nos meios de cultura NFb (6,5 para 4,5) e JMV (4,5 para 6,5) usados, mostram diferença na concentração de bactérias diazotróficas (Gráfico 1). O número mais provável de bactérias contido dentro de tecidos de folhas foi diferente em meios onde houve mudança do pH, mostrando que populações de bactérias diazotróficas em folhas de tomateiro podem ser afetadas por mudanças no pH.

Mudas de tomateiro depois de 30 dias de sementeas podem atingir matéria seca entre 1,7 a 6,7 g/planta, assim como um comprimento entre 9,88 a 12,01 cm (ANGADI; RAI; BARA, 2017; DOS SANTOS et al., 2016; LATIF et al., 2016). No experimento realizado a matéria seca das mudas e o comprimento estiveram dentro do intervalo de 2,9 a 3,8 g/planta para a matéria seca total, para o comprimento os dados ficaram no intervalo entre 15,92 e 21,17 cm; acima

dos relatos, mostrando que as plantas tiveram um desempenho dentro do intervalo ótimo. A análise estatística mostrou não ter diferença das médias para as variáveis, altura das mudas e matéria seca total entre os diferentes tratamentos.

Tem sido demonstrado em diversas pesquisas o efeito positivo das bactérias diazotróficas no incremento da matéria fresca, seca e conteúdo de nutrientes como potássio e nitrogênio na cultura do tomateiro (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2015; ABDALLAH et al., 2016; SANCHEZ, 2012; ADESEMOYE; OBINI; UGOJI, 2008). Entretanto, este efeito está estritamente relacionado com fatores que podem afetar o desempenho das BPCP, como o estado nutricional do hospedeiro, pH do substrato, e número de UFC presentes no meio (ANTOUN, 2012; BASHAN et al., 2014; BASHAN et al., 2013; BEHERA et al., 2014).

A atuação das BPCP na promoção do crescimento é influenciada pelos fatores que afetam o reconhecimento BPCP-hospedeiro (BEHERA et al., 2014; WEIR et al., 2010). Um dos fatores é o padrão de colonização, que é determinado principalmente pelo genótipo da planta (IKEDA et al., 2013).

Exsudados da raiz em tomate tem sido estudados como parte do processo de reconhecimento BPCP-hospedeiro, na ausência destes o Quórum Sensing pode ser afetado e conseqüentemente o processo de sinergia planta-bactéria (BAIS et al., 2006). Chen et al., (2012) estudando o efeito da produção de metabólitos secundários no reconhecimento da BPCP *Bacillus subtiliz* em mudas de tomateiro, encontraram que o crescimento em termos de incremento do biofilme de *B. subtiliz* está diretamente relacionado com a produção de ácido L-málico nas raízes de tomate.

Existe relatos em diferentes trabalhos sobre a interação entre genótipos de plantas e as BPCP, demonstrando que algumas BPCP respondem de forma diferente na promoção do crescimento quando testadas com a mesma espécie, mas em diferentes variedades (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2015; IKEDA et al., 2013; XU et al., 2013).

No presente trabalho as bactérias foram isoladas do cultivar Grazianni e testadas no cultivar San Marzano, alguns dos isolados bacterianos poderiam não ter conseguido consorciar-se com a planta de tomateiro e promover os benefícios da simbiose.

Um fator que afeta a relação entre as BPCP e a planta hospedeira é o estado nutricional da planta, condição que afeta o padrão de extrusão de substâncias orgânicas como metabólitos

secundários, usados no processo de sinalização para efetuar o reconhecimento do hospedeiro com a BPCP (SCAGLIOLA et al., 2016).

O reconhecimento entre planta hospedeira e a bactéria simbiote é determinada pelos sinais emitidos pela planta e reconhecido pela bactéria (DIXON & KAHN, 2004). Uma das formas de reconhecimento é a sinalização mediante a emissão de exsudados da raiz como os ácidos orgânicos (ZHU; VIVANCO; MANTER, 2016).

Os ácidos orgânicos e hormônios interferem no relacionamento das BPCP e a planta, como por exemplo na quantidade e forma em que o ferro está presente, o valor do pH, a quantidade e forma do N, C e P (SCAGLIOLA et al., 2016; CHEN et al., 2012). A produção de ácido orgânicos por parte de plantas de tomate pode ser afetada em condições de diferentes conteúdos de nitrogênio e fósforo no substrato (BERGER; BROCK; RUPPEL, 2013). As mudas de tomateiro do presente trabalho apresentaram crescimento dentro dos intervalos ótimos fato que evidencia o adequado fornecimento de nutrientes no substrato e cria um cenário que poderia ter afetado a necessidade da planta para procurar simbioses.

A tradução de genes para o abastecimento dos nutrientes é regulada pela necessidade da planta para obtê-los. Em condições de baixo conteúdo de nutrientes as plantas investem na produção de proteínas para obter esses elementos (SCAGLIOLA et al., 2016), plantas com adequados níveis de nutrientes no substrato, podem não investir na produção deste tipo de proteínas, diminuindo a produção de substâncias sinalizadoras dentro do processo de reconhecimento BPCP- planta hospedeira (BAIS et al., 2006).

Berger, Brock e Ruppel, (2013) observaram uma relação estreita entre a tradução de genes para transporte de fosfato e o estado nutricional da planta; quando eles testaram duas condições de fornecimento de nitrogênio (alta com 350 mg e baixa com 150 mg) encontram que a quantidade de genes foi afetada pela quantidade de nitrogênio no meio.

BPCP testadas em diferentes concentrações de NaCl, mostraram um melhor desempenho quando foi incrementado o teor de sais no substrato (SHENG et al., 2012), o que pode corroborar que diferentes concentrações de nutrientes e outros elementos podem influenciar o relacionamento entre as BPCP e a planta hospedeira.

Abbamondi et al., (2016) encontraram que 73% das bactérias endofíticas isoladas de tomateiro tiveram resultado positivo no teste de produção de ácidos orgânicos, além disso 89% tiveram resultado positivo na produção de AIA. Essas bactérias isoladas da rizosfera de

tomateiro afetaram negativamente o alongamento de raízes, além da quantidade de pelos radiculares em *Arabidopsis thaliana*, efeito atribuído a produção de AIA em concentrações supra-ótimas.

Um dos fatores que podem influenciar de maneira negativa a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é o alto custo energético em termos de ATP que tem o processo para a planta, que pode chegar a ser 12% da respiração (FAGAN et al., 2007). Neste cenário o suprimento de nitrogênio por meio da adubação pode interferir no processo simbiótico da FBN. Os resultados mostraram não haver diferença estatística entre as variáveis conteúdo de nitrogênio e teor nas mudas inoculadas e o controle (Tabela 9).

A presença ou adição de nitrogênio, principalmente na forma de amônio, pode diminuir ou inibir o processo de fixação biológica de nitrogênio (DE ARAÚJO & CARVALHO, 2009). Spolaor et al., (2016) não encontraram efeito na produtividade de plantas de milho pipoca quando foram inoculadas com *A. brasilense* junto com doses altas de adubação nitrogenada (105 Kg ha⁻¹).

Oliveira et al., (2003) encontraram diferença entre o número de gêneros de bactérias diazotróficas isoladas de tecidos de cana de açúcar. Os autores relatam que estas diminuíram em plantas que receberam doses altas de nitrogênio, o que pode evidenciar que a associação de bactérias diazotróficas com a planta hospedeira é influenciada pelo fornecimento de nitrogênio no meio de crescimento ou substrato (DOS SANTOS et al., 2017).

O número de unidades formadoras de colônia é conexo com o melhor desempenho das ações das BPCP (BASHAN et al., 2014). Uma maior população de bactérias tem sido relacionada com o aumento na possibilidade de colonização dos tecidos radiculares e melhoria na competição com outros microrganismos do substrato (XU et al., 2013; ZHU; VIVANCO; MANTER, 2016).

No experimento não foi observado que o NMP de bactérias diazotróficas em mudas inoculadas e não inoculadas apresentaram relação direta com os resultados das variáveis que avaliaram o incremento da matéria fresca e seca, e conteúdo ou teor de nutrientes (Tabelas 8 e 9; Gráfico 2). Bactérias que apresentaram baixa concentração, nem sempre exibiram baixo desempenho quando comparadas aquelas com maior concentração.

Szilagyi-Zecchin et al., (2015) relataram um efeito contrário a essa observação quando testaram doses (1,6 x10⁵ e 6,4 x10⁶) da BPCP *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *Plantarum*

em sementes e mudas de tomateiro. Encontraram efeito negativo do aumento da concentração nas variáveis: índice de germinação e massa seca das mudas, relacionando a maior concentração da bactéria com maior quantidade de AIA produzido, afetando a quantidade endógena do hormônio para acima do nível ótimo na rizosfera.

Com relação ao potencial solubulizador de fosfato de cálcio por parte dos isolados, os resultados apresentaram relação direta entre a habilidade dos isolados *in vitro*, e o teor de fósforo encontrado nas mudas inoculadas (Tabelas 3 e 9). Entretanto, isolados que apresentaram maior valor do halo solubulizador assim como do índice calculado, não tiveram relação com o teor nas mudas. Pastor et al., (2014) relataram que BPCP solubilizadoras de fosfato de cálcio em tomate, não tiveram relação entre o tamanho do halo e a quantidade de fosfato solubilizado.

Segundo Massenssini et al., (2016) a relação entre o tamanho do halo e o tamanho da colônia, pode ser usado para calcular o índice de potencial de solubilização de fosfato. Quando o índice é menor de 2, os isolados podem ser catalogados como pouco solubilizadores, com valores entre 2 e 3 como médio potencial e com valores superiores a 3 com potencial alto. Os resultados mostraram que os valores do índice ficaram entre 2 e 3, que pode se catalogar como isolados com potencial médio (Tabela 4).

O potencial de solubilização de fosfatos pode ser influenciado pela concentração do microrganismo no meio (GONZÁLEZ et al., 2014). Cinco dos doze isolados que conseguiram solubilizar fosfato de cálcio foram também encontrados em maior concentração nas mudas quando feito o teste do NMP; com essa observação, o fornecimento de fosfato por parte dos isolados poderia ser afetado pela concentração destes nos tecidos das mudas.

Um dos mecanismos associado com a solubilização de fosfato de cálcio por parte das BPCP é a modificação do pH do meio (MASSENSINI et al., 2015). A modificação do pH do meio pode estar associada com a extrusão de prótons, assim como com a produção de ácidos orgânicos (GYANESHWAR et al., 2002). Dentro dos produtos da fixação biológica do nitrogênio por parte das bactérias pela ação da nitrogenase, está a liberação de prótons no meio, o que modifica o pH (POSSO & DE PRAGER, 2017; BASHAN et al., 2013; SANCHEZ, 2012).

A fertilização fosfórica depende principalmente das extrações das formas de fosfatos da rocha fosfórica, sendo um recurso finito e não renovável (GRUEN et al., 2014). A sinergia entre

BPCP e plantas de tomateiro no fornecimento do fósforo pode reduzir o consumo de fertilizantes fosfatados e diminuir o impacto dessa atividade no meio ambiente (PASTOR et al., 2014).

Fósforo é um fator limitante no crescimento e produtividade das plantas, assim as plantas desenvolveram estratégias para incrementar a habilidade de adquirir o fósforo no solo devido à alta taxa de fixação que ele tem (como, por exemplo, a associação com fungos e bactérias). Em solos bem fertilizados só 20% do fósforo inorgânico é aproveitado pelas plantas, o restante é rapidamente imobilizado, adquirindo formas não disponíveis (NEUMANN, 2015).

El-tantawy et al., (2009), testaram bactérias solubilizadoras de fosfatos em mudas de tomate; os autores descreveram que as bactérias incrementaram a matéria seca da parte aérea e da raiz. Os teores de fósforo nos tecidos das mudas foram do 0,58% para plantas inoculadas e de 0,51% para plantas não inoculadas.

O fósforo é um dos nutrientes limitantes na produção de plantas, é absorvido pelas raízes e levado para outras partes na forma de ortofosfato (Pi) (DARAM et al., 1998; GRUEN et al., 2014). O incremento nos pelos radiculares no tomateiro esta influenciado pela concentração de fósforo e nitrogênio no substrato (BASIRAT et al., 2011; ABBAMONDI et al., 2016). Os resultados obtidos não mostraram diferença estatística do volume das raízes, o que pode estar relacionado com o adequado fornecimento do fósforo no meio.

Outros estudos de BPCP que conseguiram solubilizar fosfato de cálcio, foram descritas como Gram Negativas (MASSENSINI et al., 2016; SHARON et al., 2016), contrário com os resultados obtidos, onde pode-se observar que o teste mostra que o total dos isolados que conseguiram solubilizar fósforo eram Gram positivos (Tabela 1).

Observou-se uma relação entre as mudas que apresentaram maior teor de potássio e que foram inoculadas com isolados que exibiram capacidade de solubilizar fosfato; pode-se explicar já que um dos mecanismos usados pelas bactérias para a solubilização de fosfatos é o incremento de H^+ na rizosfera, e transportadores celulares de alta afinidade pelo potássio são estimulados na presença de H^+ (SHARMA; DREYER; RIEDELSBERGER, 2013).

O potássio é o elemento de maior demanda na planta de tomateiro, e tem relação direta com o desempenho do crescimento de mudas e da produção da cultura, tanto no ambiente protegido como no campo (GENUNCIO et al., 2010). Deficiência de potássio ocasiona frutos pouco firmes e assim diminuição na qualidade deles (COSTA et al., 2015).

As plantas requerem concentrações de potássio no citoplasma na ordem de 100 a 200 mM, em contraste a concentração de potássio no solo pode ser de 10-100 μM (SHARMA; DREYER; RIEDELSBERGER, 2013). Os resultados sugerem que BPCP podem incentivar de forma indireta a absorção de potássio por parte das mudas de tomateiro, e assim incrementar teores deste elemento e o desenvolvimento da cultura.

Kubar et al., (2016) testando o efeito da fertilização com potássio em plantas de tomate, encontraram o melhor desempenho com adubação entre 100 e 150 Kg de K_2O ha^{-1} , correspondente a uma concentração de 4,2% de potássio na planta. Os resultados do presente trabalho mostraram concentrações entre 3,0% e 2,5% nas mudas inoculadas e de 2,71% no tratamento testemunha; concentrações dentro do padrão ótimo, como possível efeito da inoculação com os isolados usados.

Os dados mostraram que 90% dos isolados conseguiram solubilizar óxido de zinco *in vitro*, expondo a potencialidade dos isolados em favorecer a disponibilidade do zinco na solução nutritiva. Inoculações com BPCP com habilidade de solubilizar óxido de zinco podem incrementar as produções e desenvolvimento das culturas, assim como ser usadas em biofertilizantes para suprir as necessidades de zinco (KRITHIKA & BALACHANDAR, 2016).

As BPCP podem solubilizar zinco mediante a produção de ácidos orgânicos, extrusão de prótons e produção de quelatos (SARAVANAN et al., 2007). A produção de ácido glutâmico, ácido cítrico, ácido carbônico tem sido reportado dentro das BPCP associadas com a capacidade de solubilizar zinco (VAID et al., 2013; SHAKEEL et al., 2015).

Vaid et al., (2014) testando as bactérias solubilizadoras de óxido de zinco *Burkholderia* e *Acinetobacter* em plantas de arroz (*Oryza sativa*) irrigado, observaram incremento no teor do Zn nos tecidos das plantas, assim como o incremento da massa seca das plantas inoculadas com as bactérias. Ditas bactérias foram testadas *in vitro* obtendo a média de halo solubilizador de 1,25 cm.

Shakeel et al., (2015), obtiveram 237 isolados de BPCP de raízes de arroz (*Oryza sativa*) dos quais 27% conseguiram solubilizar óxido de zinco em ensaio *in vitro* observando halos de solubilização entre 1 a 24 mm. Os isolados que conseguiram solubilizar óxido de zinco, incrementaram o comprimento da panícula, conteúdos de clorofila e a produção das plantas inoculadas quando comparadas com testemunha.

O zinco tem relação direta com a absorção de outros metais na solução do solo como cobalto, ferro, manganês, assim como com as concentrações de cálcio e magnésio (TIFFIN, 1967). Gharaibeh et al., (2016) relatam que adições de Zn na água de irrigação interferiram na absorção de cádmio (Cd) por parte de plantas de tomate; encontrando que a taxa de transferência de cádmio do solo para os frutos foi afetada positivamente, apresentando efeito antagônico do Zn para o Cd. De acordo com esses resultados o incremento da disponibilidade de Zn na rizosfera pode influenciar positivamente baixas taxas de absorção de Cd melhorando a qualidade dos frutos (tendo em conta que o cádmio é considerado cancerígeno). Os isolados têm o potencial de ser testados em cenários de disponibilização de Zn em presença de Cd, para a diminuição da aquisição deste último, assim como no possível efeito dos isolados na biorremediação de solos contaminados com metais pesados.

Existe uma relação entre os processos de absorção de fósforo por parte da planta e deficiência de zinco; processos de tradução de genes para a incorporação de fósforo pode ser afetada por deficiências de zinco nas plantas (BRIAT et al., 2015). Raliya et al., (2015) relatam que Zn atua como cofator para enzimas solubilizadoras de fosfato, tais como fosfatase e fitase, enzimas que atuam dentro do processo de aquisição de fósforo pela planta, em deficiência de Zn o desempenho destas enzimas pode ser afetado.

Os resultados apresentaram dois isolados como positivos no teste *in vitro* de produção de compostos indólicos, UFV81631 e o isolado UFV81651. As médias para as variáveis de expressão do crescimento das mudas de tomate inoculadas com estes isolados, ficaram no grupo de melhor desempenho junto com o controle.

Zhang et al., (2017), encontraram que BPCP isoladas de raízes de tomate, tiveram efeito positivo no acréscimo da matéria seca de mudas de tomateiro, assim como no incremento de pelos radiculares. A produção de AIA por estas bactérias ficou na faixa de 8,06 e 62,43 mgL⁻¹, mostrando diferentes desempenhos em relação a capacidade de produção de AIA.

Szilagyi Zecchin et al., (2015) testando a influência de *Bacillus amyloliquefaciens subsp.* no desempenho de mudas e sementes de tomate, verificaram que aumento na concentração desta BPCP (em termos de maior número de UFC por grama de sementes) interferiu na germinação das sementes e no ganho de massa das mudas na parte aérea, relatando que dito efeito está relacionado com a quantidade de AIA por parte das BPCP. Neste trabalho os isolados com potencial de produção de compostos indólicos não apresentaram acréscimo nas variáveis de ganho de massa quando comparados com o controle.

No tomateiro as auxinas podem interferir nos diferentes processos de crescimento da cultura, seu papel pode se relacionar com os processos: queda de órgãos florais, processo de polinização, formação dos frutos; ausência ou baixos níveis podem ocasionar mal formação de frutos e afetar o número de sementes por fruto (DE JONG; MARIANI; VRIEZEN, 2009).

Recentes relatos de pesquisa mostram as auxinas como parte da sinalização do processo de defesa da planta, assim como é já conhecido para o ácido jasmônico e ácido salicílico (SHIGENAGA & ARGUESO, 2016). Pesquisas adiantadas na área dos hormônios em plantas relatam a atuação que tem as auxinas na defesa da planta contra doenças; parte da revisão dos pesquisadores relatam que em tomate altos níveis de auxinas foram detectados em plantas afetadas por *Pseudomonas solanaceraum* (KAZAN & MANNERS 2009).

BPCP que apresentem a capacidade de sínteses de AIA podem ter papel importante no controle de doenças (KAZAN & MANNERS 2009; TIAN et al., 2017). Com os isolados UFV81631 e UFV81651 é possível adiantar ensaios no controle de bactérias patogênicas ou na influência destas na resposta de plantas de tomate inoculadas frente a este tipo de patógeno.

8. CONCLUSÕES

Bactérias diazotróficas podem ser isoladas de raízes, folhas e caule de plantas de tomate. Os isolados podem ser diversos em relação as características tanto das colônias como das células e sua distribuição é proporcional entre a parte aérea e raízes de plantas de tomateiro. Seu efeito sobre o ganho de matéria seca e fresca quando inoculadas em mudas de tomateiro pode ser nulo.

Bactérias diazotróficas isoladas de plantas de tomateiro possuem também a capacidade de sintetizar indol, assim como de solubilizar *in vitro* fosfato de cálcio e óxido de zinco. Quando inoculadas em mudas de tomateiro podem incrementar os teores de fósforo e potássio.

Os isolados bacterianos obtidos podem ser promissores para inclusão em novas pesquisas avaliando sua capacidade de incrementar a produtividade de diferentes cultivares de tomateiro.

9. BIBLIOGRAFIA

ABBAMONDI, Gennaro Roberto et al. **Plant growth-promoting effects of rhizospheric and endophytic bacteria associated with different tomato cultivars and new tomato hybrids**. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, v. 3, n. 1, p. 1, 2016.

ABDALLAH, Rania Aydi Ben et al. **Biocontrol of Fusarium wilt and growth promotion of tomato plants using endophytic bacteria isolated from *Nicotiana glauca* organs**. Biological Control, v. 97, p. 80-88, 2016.

ADAMOWSKI, Maciek; FRIML, Jiří. **PIN-dependent auxin transport: action, regulation, and evolution**. The Plant Cell, v. 27, n. 1, p. 20-32, 2015.

ADESEMOYE, A. O.; OBINI, M.; UGOJI, E. O. **Comparison of plant growth-promotion with *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in three vegetables**. Brazilian Journal of Microbiology, v. 39, n. 3, p. 423-426, 2008.

AHEMAD, Munees; KIBRET, Mulugeta. **Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective**. Journal of King Saud University-Science, v. 26, n. 1, p. 1-20, 2014.

ANDREOLLI, Marco et al. **Diversity of bacterial endophytes in 3 and 15 year-old grapevines of *Vitis vinifera* cv. Corvina and their potential for plant growth promotion and phytopathogen control**. Microbiological Research, v. 183, p. 42-52, 2016.

ANGADI, Vamadeva; RAI, Prashant Kumar; BARA, Bineeta M. **Effect of organic manures and biofertilizers on plant growth, seed yield and seedling characteristics in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, v. 6, n. 3, p. 807-810, 2017.

ANTOUN, Hani. **Beneficial microorganisms for the sustainable use of phosphates in agriculture**. Procedia Engineering, v. 46, p. 62-67, 2012.

ASHFAQ, Muhammad et al. **Morphological characterization of endophytic bacterial strains isolated from discolored rice grain**. Pakistan Journal of Phytopathology, v. 28, n. 1, p. 01-08, 2016.

BALDOTTO, Lílian Estrela Borges et al. **Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar Vitória durante a aclimatização**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 34, n. 2, 2010.

BANDARA, W. MMS; SENEVIRATNE, Gamini; KULASOORIYA, Sabharatna Ananda. **Interactions among endophytic bacteria and fungi: effects and potentials**. Journal of Biosciences, v. 31, n. 5, p. 645-650, 2006.

BARBOSA, Leonardo de Paiva. **Avaliação de métodos para controle de qualidade de inoculantes para soja**. 2014. 84 p. : il. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

BARRETTI, Patrícia Baston et al. **Increased nutritional efficiency of tomato plants inoculated with growth-promoting endophytic bacteria.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 32, n. 4, p. 1541-1548, 2008.

BASHAN, Yoav et al. **Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013).** Plant and Soil, v. 378, n. 1-2, p. 1-33, 2014.

BASHAN, Yoav et al. **Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure.** Biology and Fertility of Soils, v. 49, n. 4, p. 465-479, 2013.

BASIRAT, Majid et al. **Effects of phosphorous supply on growth, phosphate distribution and expression of transporter genes in tomato plants.** Australian Journal of Crop Science, v. 5, n. 5, p. 537, 2011.

BEHERA, B. C. et al. **Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove—a review.** Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 3, n. 2, p. 97-110, 2014.

BENSON, Abitha et al. **Role of *Achromobacterxylosoxidans* AUM54 in Micropropagation of Endangered Medicinal Plant *Naraveliazeylanica* (L.) DC.** Journal of Plant Growth Regulation, v. 33, n. 2, p. 202-213, 2014.

BERGER, Beatrice.; BROCK, Anita K.; RUPPEL, Silke. **Nitrogen supply influences plant growth and transcriptional responses induced by *Enterobacter radicincitans* in *Solanum lycopersicum*.** Plant and Soil, v. 370, n. 1-2, p. 641-652, 2013.

BAIS, Harsh P. et al. **The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms.** Annu. Rev. Plant Biol., v. 57, p. 233-266, 2006.

BRIAT, Jean-François et al. **Integration of P, S, Fe, and Zn nutrition signals in *Arabidopsis thaliana*: potential involvement of phosphate starvation response 1 (PHR1).** Frontiers in Plant Science, v. 6, 2015.

BUAINAIN, Antônio Márcio; GARCIA, Junior Ruiz; VIEIRA, Pedro Abel. **O desafio alimentar no século XXI.** Estudos Sociedade e Agricultura, v. 24, n. 2, 2016.

CASSÁN, Fabricio; VANDERLEYDEN, Jos; SPAEPEN, Stijn. **Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*.** Journal of Plant Growth Regulation, v. 33, n. 2, p. 440-459, 2014.

CATTELAN, A. J. **Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal.** Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E), 1999

CERQUEIRA, Fernando Barnabé et al.. **Produção de mudas de tomate cv. Santa cruz em diferentes substratos.** Journal of Bioenergy and Food Science, Macapá, v.2, n.2, p.39-45, abr./jun, 2015

- CHENG, Zhenyu et al. **Combined effects of the plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas putida* UW4 and salinity stress on the *Brassica napus* proteome.** Applied Soil Ecology, v. 61, p. 255-263, 2012.
- CHEN, Lin et al. **Growth promotion and induction of antioxidant system of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) by endophyte TPs-04 under low night temperature.** Scientia Horticulturae, v. 176, p. 143-150, 2014.
- CHEN, Yun et al. **A *Bacillus subtilis* sensor kinase involved in triggering biofilm formation on the roots of tomato plants.** Molecular Microbiology, v. 85, n. 3, p. 418-430, 2012.
- COSTA, Edilson et al. **Ambientes e substratos na formação de mudas e produção de frutos de cultivares de tomate cereja.** Horticultura Brasileira, v. 33, n. 01, 2015.
- COVRE, André Monzoli et al. **Crescimento e desenvolvimento inicial de genótipos de café Conilon.** Revista Agroambiente On-line, v. 7, n. 2, p. 193-202, 2013.
- DA SILVA JÚNIOR, José Valdenor et al. **Aproveitamento de materiais alternativos na produção de mudas de tomateiro sob adubação foliar.** Revista Ciência Agronômica, v. 45, n. 3, p. 528-536, 2014.
- DA SILVA, Maria Luiza et al. **Identificação de bactérias diazotróficas isoladas em cultivares de palma (*Opuntia* e *Nopalea*) usando o gene recA.** Bioscience Journal, v. 31, n. 2, p. 577-583, 2015
- DA SILVA, Marinete Flores et al. **Inoculantes formulados com polímeros e bactérias endofíticas para a cultura da cana-de-açúcar.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 44, n. 11, p. 1437-1443, 2010.
- DAMASCENO, Josilda CA. **Actinobactérias na promoção de crescimento e controle de *Meloidogyne javanica* em mudas de tomateiro.** 2011 95p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB, Cruz das Almas-BA. 2011.
- DARAM, Pierre et al. **Functional analysis and cell-specific expression of a phosphate transporter from tomato.** Planta, v. 206, n. 2, p. 225-233, 1998.
- DAVLETOVA, Sholpan et al. **The zinc-finger protein Zat12 plays a central role in reactive oxygen and abiotic stress signaling in Arabidopsis.** Plant physiology, v. 139, n. 2, p. 847-856, 2005.
- DE ARAÚJO, Fábio Fernando; DE CARVALHO, Marlon Henrique Marquezi. **Crescimento de tomateiro após tratamento de mudas com *Bacillus subtilis* e Carbofuran/Growth of tomato after treatment of plants with *Bacillus subtilis* and carbofuran.** Bioscience Journal, v. 25, n. 4, 2009.
- DE JONG, Maaïke; MARIANI, Celestina; VRIEZEN, Wim H. **The role of auxin and gibberellin in tomato fruit set.** Journal of Experimental Botany, v. 60, n. 5, p. 1523-1532, 2009.

DELEO, João Paulo; DE SOUZA, Jair; PARANHOS, Guilherme. **Custos de produção de tomate em Caçador: Pequena e grande escala tiveram expressiva alta dos custos na região catarinense.** Revista Hortifruti Brasil, ano 14. n. 156, p. p1-40, 2016.

DIVITO, Guillermo A.; SADRAS, Victor O. **How do phosphorus, potassium and sulphur affect plant growth and biological nitrogen fixation in crop and pasture legumes? A meta-analysis.** Field Crops Research, v. 156, p. 161-171, 2014.

DIXON, Ray.; KAHN, Daniel. **Genetic regulation of biological nitrogen fixation.** Nature Reviews. Microbiology, v. 2, n. 8, p. 621, 2004.

DÖBEREINER, J. et al. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas.** Embrapa Agrobiologia, Seropédica. 66p, 1995.

DOS SANTOS, Antônio Carlos Martins et al. **Produção de mudas de tomateiro cv. Drica sob substratos alternativos.** Agropecuária Científica no Semiárido, v. 11, n. 4, p. 1-12, 2016.

DOS SANTOS, Silvana Gomes et al. **Development and nitrate reductase activity of sugarcane inoculated with five diazotrophic strains.** Archives of Microbiology, p. 1-11, 2017.

DOS REIS JUNIOR, Fábio Bueno et al. **Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 35, n. 5, p. 985-994, 2000.

DUCA, Daiana et al. **Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions.** Antonie Van Leeuwenhoek, v. 106, n. 1, p. 85-125, 2014.

EADY, Robert R. **Current status of structure function relationships of vanadium nitrogenase.** Coordination Chemistry Reviews, v. 237, n. 1, p. 23-30, 2003.

ELOY, Elder et al. **Avaliação da Qualidade de Mudas de *Eucalyptus Grandis* Utilizando Parâmetros Morfológicos.** Floresta, v. 43, n. 3, p. 373-384, 2013.

EL-TANTAWY, M. E. et al. **Effect of inoculation with phosphate solubilizing bacteria on the tomato rhizosphere colonization process, plant growth and yield under organic and inorganic fertilization.** Journal of Applied Sciences Research, n. September, p. 1117-1131, 2009.

ENYA, Junichiro et al. **Culturable leaf-associated bacteria on tomato plants and their potential as biological control agents.** Microbial ecology, v. 53, n. 4, p. 524-536, 2007.

FAGAN, Evandro Binotto et al. **Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja-Revisão.** Revista da FZVA, v. 14, n. 1, 2007.

FERNANDES, Marcelo Ferreira.; FERNANDES, Roberta Pereira Miranda.; DA SILVA RODRIGUES, Luciana. **Bactérias diazotróficas associadas a coqueiros na região de baixada litorânea em Sergipe.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 36, n. 12, p. 1509-1517, 2001.

FERREIRA, Magna Maria M. et al. **Produção do tomateiro em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica em duas épocas de cultivo.** Horticultura Brasileira, v. 21, n. 3, p. 468-473, 2003.

FERREIRA, Magna Maria M. et al. **Qualidade do tomate em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica em duas estações.** Horticultura Brasileira, v. 24, n. 2, p. 141-145, 2006.

FIORINI, Cibelle VA et al. **Caracterização de linhagens de tomateiro originadas de cruzamento interespecífico quanto à resistência à requeima.** Horticultura Brasileira, v. 28, n. 2, p. 197-202, 2010.

GENUNCIO, Gláucio C. et al. **Produção de cultivares de tomateiro em hidroponia e fertirrigação sob razões de nitrogênio e potássio.** Horticultura Brasileira, v. 28, n. 4, p. 446-452, 2010.

GHARAIBEH, Mamoun A. et al. **Cadmium uptake and translocation of tomato in response to simulated irrigation water containing elevated concentrations of cadmium and zinc in clayey soil.** Water, Air & Soil Pollution, v. 227, n. 5, p. 133, 2016.

GÍRIO, Lucas Augusto da Silva et al. **Plant growth-promoting bacteria and nitrogen fertilization effect on the initial growth of sugarcane from pre-sprouted seedlings.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 50, n. 1, p. 33-43, 2015.

GOMES, José Mauro et al. **Parâmetros morfológicos na avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*.** Revista Árvore, v. 26, n. 6, p. 655-664, 2002.

GONZÁLEZ, Leónides Castellanos et al. **Use of filter cake enriched with rock phosphate and biofertilizers in a Haplustox soil.** Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 44, n. 2, p. 135-141, 2014.

GOUDJAL, Yacine et al. **Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara.** Microbiological Research, v. 169, n. 1, p. 59-65, 2014.

GUIMARÃES, Salomão Lima; BALDANI, Vera Lúcia Divan; JACOB-NETO, Jorge. **Viabilidade do inoculante turfoso produzido com bactérias associativas e molibdênio.** Revista Ciência Agronômica, v. 44, n. 1, p. 10-15, 2012.

GURGEL, Luciana MS et al. **Proteção à murcha de fusário do tomateiro com acibenzolar-metil e ácido β -aminobutírico, em campo.** Fitopatologia Brasileira, v. 30, p. 655-657, 2005.

GUSMÃO, Mônica T A de, et al. **Produtividade de tomate tipo cereja cultivado em ambiente protegido e em diferentes substratos.** Horticultura Brasileira, v. 24, n. 4, p. 431-436, 2006.

GUONG, Vo Thi et al. **Different crop rotation systems as drivers of change in soil bacterial community structure and yield of rice, *Oryza sativa*.** Biology and Fertility of Soils, v. 48, n. 2, p. 217-225, 2012.

GRUEN, Astrid et al. **Efficient mineral nutrition: genetic improvement of phosphate uptake and use efficiency in crops.** Nutrient Use Efficiency in Plants, p. 93, 2014.

GYANESHWAR, P. et al. **Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants.** Plant and Soil, v. 245, n. 1, p. 83-93, 2002.

HALLMANN, J. et al. **Bacterial endophytes in agricultural crops.** Canadian Journal of Microbiology, v. 43, n. 10, p. 895-914, 1997.

HARMANPREET, Kaur et al. **Effect of Hoagland solution for growing tomato hydroponically in greenhouse.** Hortflora Research Spectrum, v. 5, n. 4, p. 310-315, 2016.

HASSEN, Ahmed Idris; LABUSCHAGNE, N. **Root colonization and growth enhancement in wheat and tomato by rhizobacteria isolated from the rhizoplane of grasses.** World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 26, n. 10, p. 1837-1846, 2010.

HICHRI, Imène et al. **The *Solanum lycopersicum* Zinc Finger2 cysteine-2/histidine-2 repressor-like transcription factor regulates development and tolerance to salinity in tomato and Arabidopsis.** Plant Physiology, v. 164, n. 4, p. 1967-1990, 2014.

HOFFMAN, Brian M. et al. **Nitrogenase: a draft mechanism.** Accounts of Chemical Research, v. 46, n. 2, p. 587-595, 2013.

IKEDA, Angela Cristina et al. **Morphological and genetic characterization of endophytic bacteria isolated from roots of different maize genotypes.** Microbial ecology, v. 65, n. 1, p. 154-160, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA [IBGE]. **Estatística da produção agrícola: dezembro de 2016.** Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/2016/lspa_201612_20170222_133000.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/2016/lspa_201612_20170222_133000.pdf). Acesso em: 01 maio. 2017.

KAPLAN, Drora et al. **A survey of the microbial community in the rhizosphere of two dominant shrubs of the Negev Desert highlands, *Zygophyllum dumosum* (Zygophyllaceae) and *Atriplex halimus* (Amaranthaceae), using cultivation-dependent and cultivation-independent methods.** American Journal of Botany, v. 100, n. 9, p. 1713-1725, 2013.

KAZAN, Kemal; MANNERS, John M. **Linking development to defense: auxin in plant pathogen interactions.** Trends in Plant Science, v. 14, n. 7, p. 373-382, 2009.

KHAN, Abdul Latif et al. **Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth.** Journal of Microbiology, v. 52, n. 8, p. 689-695, 2014.

KHAN, Saghir; ZAIDI, Almas; AHMAD, Ees. **Mechanism of Phosphate Solubilization and Physiological Functions of Phosphate-Solubilizing Microorganisms.** Phosphate Solubilizing Microorganisms: Principles and Application of Microphos Technology, p. 31, 2014.

KRITHIKA, Selvaraj; BALACHANDAR, Dananjeyan. **Expression of zinc transporter genes in rice as influenced by zinc-solubilizing *Enterobacter cloacae* strain ZSB14.** *Frontiers in Plant Science*, v. 7, 2016.

KUBAR, K. A. et al. **Response of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) at varying levels of soil applied potassium.** *Journal of Basic and Applied Sciences*, v. 12, p. 198-201, 2016.

KUMAR, Krishna; MANIGUNDAN, K.; AMARESAN, Natarajan. **Influence of salt tolerant *Trichoderma* spp. on growth of maize (*Zea mays*) under different salinity conditions.** *Journal of Basic Microbiology*, v. 57, n. 2, p. 141-150, 2017.

LATIF KHAN, Abdul et al. **Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*.** *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 19, n. 3, p. 58-64, 2016.

LEITE, Germano LD et al. **Efeito da adubação sobre a incidência de traça-do-tomateiro e alternaria em plantas de tomate.** *Horticultura Brasileira*, v. 21, n. 3, p. 448-451, 2003.

LOOS, Rodolfo A. et al. **Identificação e quantificação dos componentes de perdas de produção do tomateiro.** *Horticultura Brasileira*, v. 22, p. 238-242, 2004.

LÓPEZ-LÓPEZ, E. et al. **Variation of the bacterial communities in the rhizosphere of three species of the genus *tagetes* (marigold) over time.** *Applied Ecology and Environmental Research*, v. 15, n. 4, p. 1327-1345, 2017.

LUNA, María Flavia et al. **Colonization and yield promotion of tomato by *Gluconacetobacter diazotrophicus*.** *Applied Soil Ecology*, v. 61, p. 225-229, 2012.

MACHADO, Andrezza da Silva. **Viabilidade agroeconômica da produção de tomate de ‘mesa’ sob diferentes sistemas de cultivo e manejo de adubação.** 2014. 107 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro RJ, 2014.

MAJEED, Afshan et al. **Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion.** *Frontiers in Microbiology*, v. 6, 2015.

MALAVOLTA, E. et al. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações.** 2.ed. Piracicaba, POTAFOS, p. 319, 1997.

MARRA, Leandro Marciano. **Solubilização de fosfatos por bactérias e sua contribuição no crescimento de leguminosas e gramíneas.** 2012. 141 p. Tese (doutorado ciência do solo) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

MASSESSINI, André Marcos et al. **Isolamento e caracterização de bactérias solubiladoras de fosfato da rizosfera de *Eucalyptus* sp.** *Revista Árvore*, v. 40, n. 1, p. 125-134, 2016.

MASSESSINI, André Marcos et al. **Potential phosphate solubilization ted by rhizospheric microbiota of eucalyptus cultivated in a typical toposequence of the zona da mata, Minas Gerais, Brazil.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 39, n. 3, p. 692-700, 2015.

MAYAK, Shimon. et al. **Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers.** Plant Science, v. 166, n. 2, p. 525-530, 2004.

MEDEIROS, Damiana Cleuma de et al. **Qualidade de mudas de tomate em função do substrato e irrigação com efluente de piscicultura.** Revista Brasileira de Agroecologia, v. 8, n. 2, p. 170-175, 2013.

MOHITE, B. **Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth.** Journal of Soil Science and Plant Nutrition, v. 13, n. 3, p. 638-649, 2013.

NARLOCH, Charles et al. **Resposta da cultura do rabanete à inoculação de fungos solubilizadores de fosfatos.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, n. 06, p. 841-845, 2002.

NEUMANN, Günter. **The role of ethylene in plant adaptations for phosphate acquisition in soils—a review.** Frontiers in Plant Science, v. 6, 2015.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). **Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas: una mirada hacia América Latina y el Caribe 2015-2016 / CEPAL, FAO, IICA -- San José, C.R.: IICA, 214 p, 2015.**

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. **Se o atual ritmo de consumo continuar, em 2050 mundo precisará de 60% mais alimentos e 40% mais água.** 2009. Disponível em < <https://nacoesunidas.org/fao-se-o-atual-ritmo-de-consumo-continuar-em-2050-mundo-precisara-de-60-mais-alimentos-e-40-mais-agua/> > acesso 2016.

OLIVEIRA, André Luiz Martinez de et al. **Response of micropropagated sugarcane varieties to inoculation with endophytic diazotrophic bacteria.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 34, p. 59-61, 2003.

OVIDO, Victoria Rossmary Santacruz. **Produção de tomate em função da idade da muda e volume do recipiente.** 2007. 75 p. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

PADDER, Shahid Ahmad et al. **Morphological metabolic and biochemical characterization of bacterial root endophytes associated with brown sarson (*Brassica rapa* L.).** Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, v. 6, n. 2, p. 226-232, 2017.

PASQUALINI, Diego. et al. **Arbuscular mycorrhizal fungal communities influence growth and phosphorus concentration of woody plants species from the Atlantic rain forest in South Brazil.** Forest Ecology and Management, v. 245, n. 1, p. 148-155, 2007.

PASTOR, Nicolás et al. **Inoculation with *Pseudomonas putida* PCI2, a phosphate solubilizing rhizobacterium, stimulates the growth of tomato plants.** Symbiosis, v. 62, n. 3, p. 157-167, 2014.

PATEL, Hardik A. et al. **Isolation and characterization of bacterial endophytes from *Lycopersicon esculentum* plant and their plant growth promoting characteristics.** Nepal Journal of Biotechnology, v. 2, n. 1, p. 37-52, 2012.

PEDRINHO, Eliamar Aparecida Nascimbém et al. **Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho.** *Bragantia*, Campinas, v. 69, n. 4, p. 905-911, 2010

PEREIRA, S. I. A.; CASTRO, P. M. L. **Diversity and characterization of culturable bacterial endophytes from *Zea mays* and their potential as plant growth-promoting agents in metal-degraded soils.** *Environmental Science and Pollution Research*, v. 21, n. 24, p. 14110-14123, 2014.

POSSO, Eduardo José Serna; DE PRAGER, Marina Sánchez. **Production of organic acids by rhizosphere microorganisms isolated from a Typic Melanudands and its effects on the inorganic phosphates solubilization.** *Acta Agronómica*, v. 66, n. 2, 2017.

RALIYA, Ramesh et al. **Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant.** *Metallomics*, v. 7, n. 12, p. 1584-1594, 2015

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. URL <https://www.R-project.org/>.

REBELEIN, Johannes et al. **Differential reduction of CO₂ by molybdenum and vanadium nitrogenases.** *Angewandte Chemie International Edition*, v. 53, n. 43, p. 11543-11546, 2014.

REIS, Veronica Massena. et al. **Isolation, identification and biochemical characterization of *Azospirillum spp.* and other nitrogen-fixing bacteria.** *Handbook for Azospirillum*, v. 10, n. 1007, p. 3-26, 2015.

SAMPAIO, Reginaldo A. et al. **Produção de mudas de tomateiro em substratos contendo fibra de coco e pó de rocha.** *Horticultura Brasileira*, v. 26, n. 4, p. 499-503, 2008.

SÁNCHEZ LÓPEZ, Diana Beatriz et al. **Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero.** *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, v. 3, n. 7, p. 1401-1415, 2012.

SANTI, Carole; BOGUSZ, Didier; FRANCHE, Claudine. **Biological nitrogen fixation in non-legume plants.** *Annals of Botany*, v. 111, n. 5, p. 743-767, 2013.

SARAVANAN, Venkatakrishnan Sivaraj et al. **Zinc metal solubilization by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and induction of pleomorphic cells.** *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 17, n. 9, p. 1477-1482, 2007.

SARAVANAN, Venkatakrishnan Sivaraj; SUBRAMONIAM, Sudalayandy Rama; RAJ, Savariappan Anthoni. **Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (ZSB) isolates.** *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, n. 1-2, p. 121-125, 2004.

SCAGLIOLA, M. et al. **Characterization of plant growth promoting traits of bacterial isolates from the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.) and tomato (*Solanum lycopersicon* L.) grown under Fe sufficiency and deficiency.** *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 107, p. 187-196, 2016.

SCHALLER, G. Eric; BISHOPP, Anthony; KIEBER, Joseph J. **The yin-yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development.** *The Plant Cell*, v. 27, n. 1, p. 44-63, 2015.

SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS, Subsecretaria **Do Agronegócio. Tomate Belo Horizonte – MG, 2016.** Disponível em http://www.agricultura.mg.gov.br/images/documentos/perfil_tomate_mai_2016.pdf. Acesso em janeiro 05 de 2017.

SELEGUINI, Alexsander; SENO, Shizuo; JÚNIOR, Max José de Araújo Faria. **Híbridos de tomateiro industrial cultivados em ambiente protegido e campo aberto.** *Científica*, v. 35, n. 1, p. 80-87, 2007.

SHAKEEL, Muhammad et al. **Root associated *Bacillus sp.* improves growth, yield and zinc translocation for basmati rice (*Oryza sativa*) varieties.** *Frontiers in Microbiology*, v. 6, 2015.

SHARMA, Tripti; DREYER, Ingo; RIEDELSBERGER, Janin. **The role of K⁺ channels in uptake and redistribution of potassium in the model plant *Arabidopsis thaliana*.** *Frontiers in Plant Science*, v. 4, 2013.

SHARON, J. A. et al. **Isolation of efficient phosphate solubilizing bacteria capable of enhancing tomato plant growth.** *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, v. 16, n. 2, p. 525-536, 2016.

SCHMER, Marty R. et al. **Energy potential and greenhouse gas emissions from bioenergy cropping systems on marginally productive cropland.** *Plos One*, v. 9, n. 3, p. e89501, 2014.

SHIGENAGA, Alexandra M.; ARGUESO, Cristiana T. **No hormone to rule them all: Interactions of plant hormones during the responses of plants to pathogens.** *Seminars in Cell & Developmental Biology*, v 56, p. 174-189, 2016.

SHIN, Mi-Na et al. **Characterization of lead resistant endophytic *Bacillus sp.* MN3-4 and its potential for promoting lead accumulation in metal hyperaccumulator *Alnus firma*.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 199, p. 314-320, 2012.

SILVA, G. N.; VIDOR, C. **Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 24, n. 2, p. 311-319, 2000.

SILVA, Ricardo F. et al. **Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*.** *Fitopatologia Brasileira*, v. 32, n. 3, p. 189-196, 2007.

SILVEIRA, Elineide B. et al. **Pó de coco como substrato para produção de mudas de tomateiro.** *Horticultura Brasileira*, v. 20, n. 2, p. 211-216, 2002.

SMÉKALOVÁ, Veronika et al. **Crosstalk between secondary messengers, hormones and MAPK modules during abiotic stress signalling in plants.** *Biotechnology Advances*, v. 32, n. 1, p. 2-11, 2014.

SOUZA, Rocheli de; AMBROSINI, Adriana; PASSAGLIA, Luciane MP. **Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils**. Genetics and Molecular Biology, v. 38, n. 4, p. 401-419, 2015.

SPOLAOR, Leandro Teodoski et al. **Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance**. Bragantia, v. 75, n. 1, p. 33-40, 2016.

SZILAGYI-ZECCHIN, Vivian J. et al. **Crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) estimulado pela bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 em cultura orgânica**. Revista de Ciências Agrárias, v. 38, n. 1, p. 26-33, 2015.

TIAN, Baoyu et al. **Beneficial traits of bacterial endophytes belonging to the core communities of the tomato root microbiome**. Agriculture, Ecosystems & Environment, v. 247, p. 149-156, 2017.

TIFFIN, Lee O. **Translocation of manganese, iron, cobalt, and zinc in tomato**. Plant Physiology, v. 42, n. 10, p. 1427-1432, 1967.

TKACZ, Andrzej; POOLE, Philip. **Role of root microbiota in plant productivity**. Journal of Experimental Botany, v. 66, n. 8, p. 2167-2175, 2015.

TSUI, Cheng. **The role of zinc in auxin synthesis in the tomato plant**. American Journal of Botany, p. 172-179, 1948.

VACCARO, Sandro et al. **Comparação entre três diferentes métodos de análise de tecido vegetal**. Bol. Pesqui. Florest, v. 48, p. 15-28, 2004.

VAID, Sachin Kumar et al. **Effect of zinc solubilizing bioinoculants on zinc nutrition of wheat (*Triticum aestivum* L.)**. Int. J. Adv. Res, v. 1, n. 9, p. 805-820, 2013.

VAID, Sachin Kumar et al. **Effect of Zn solubilizing bacteria on growth promotion and Zn nutrition of rice**. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, v. 14, n. 4, p. 889-910, 2014.

VIDA, João Batista et al. **Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido**. Fitopatologia Brasileira, v. 29, n. 4, p. 355-372, 2004.

VIEIRA, Ana Camila et al. **Fogo e seus efeitos na qualidade do solo de pastagem (fire and its effects on the quality of pasture)**. Revista Brasileira de Geografia Física, v. 9, n. 6, p. 1703-1711, 2016.

WALPOLA, Buddhi Charana; YOON, Min-Ho. **Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and their co-inoculation efficiency on tomato plant growth and phosphorous uptake**. African Journal of Microbiology Research, v. 7, n. 3, p. 266-275, 2013.

WARWATE, S. I. et al. **The effect of seed priming with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on growth of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) seedling**. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, v. 6, n. 3, p. 1926-1934, 2017.

WEIR, T. L. et al. **The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms.** Annual Review of Plant Biology, n. errata, 2010.

WENG, Lin et al. **The zinc finger transcription factor SIZFP2 negatively regulates abscisic acid biosynthesis and fruit ripening in tomato.** Plant Physiology, v. 167, n. 3, p. 931-949, 2015.

XU, Qinsong et al. **Responses of *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle to zinc: in situ localization, subcellular distribution and physiological and ultrastructural modifications.** Plant Physiology and Biochemistry, v. 69, p. 43-48, 2013.

ZHANG, Jian et al. **Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from mushroom residues and their effect on tomato plant growth promotion.** Polish Journal of Microbiology, v. 66, n. 1, p. 57-65, 2017.

ZUBA, Simone Nassau et al. **Yield and nutrition of tomato using different nutrient sources.** Horticultura Brasileira, v. 29, n. 1, p. 50-56, 2011.

ZHU, Shusheng; VIVANCO, Jorge M.; MANTER, Daniel K. **Nitrogen fertilizer rate affects root exudation, the rhizosphere microbiome and nitrogen-use-efficiency of maize.** Applied Soil Ecology, v. 107, p. 324-333, 2016.

10. ANEXOS

10.1. Análises de variância

Quadro 1. Análise de variância das variáveis de crescimento de mudas de tomate inoculadas com bactérias diazotróficas.

F.V	GL	IQD ^{-1,5} (ud)	NF (ud)	DC (ud)	AC (ud)	AM (cm)	AM/DC (ud)	VOL (mL)
Tratamento	29	7.57**	0.115 ns	0.21ns	0.192**	3.55ns	105.36**	1.505ns
Resíduo	60	3.14	0.067	0.13	0.11	1.34	34,8	1.43
CV(%)		18.3	5.21	11.01	7.32	6.55	10.92	17.41

** Diferença significativa, ns Diferença não significativa ao nível de 5% para o teste de Scott Knott.

Índice de qualidade de Dickson, IQD^{-1,5}; número de folhas, NF; diâmetro na altura do colo, DC; altura de inserção do cotilédone, AC; altura da muda, AM; relação altura da muda e diâmetro do caule, AM/DC; volume da raiz, VOL.

Quadro 2. Análise de variância das variáveis matéria fresca e seca das mudas de tomate inoculadas com bactérias diazotróficas.

F.V	GL	MFPA (g)	MFR (g)	MFT (g)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
Tratamento	29	2.77**	0.89ns	4.302ns	0.78**	0.0051ns	0.109**
Resíduo	60	1.48	0.79	3.52	0.030	0.004	0.04
CV(%)		8.55	14.42	9.24	10.65	14.72	9.85

** Diferença significativa, ns Diferença não significativa ao nível de 5% para o teste de Scott Knott.

Matéria fresca da parte aérea, MFPA; matéria fresca da raiz, MFR; matéria fresca total, MFT; matéria seca da parte aérea, MSPA; matéria seca da raiz, MSR; matéria seca total, MST.

Quadro 3. Análise de variância dos teores e conteúdos de nutrientes em mudas de tomate inoculadas com bactérias diazotróficas.

F.V	GL	TN (gKg ⁻¹)	TP (gKg ⁻¹)	TK (gKg ⁻¹)	CN (g/planta)	CP (g/planta)	CK (g/planta)
Tratamento	29	2.52ns	0.033604**	4.90**	29.23**	0.0925ns	96.38**
Resíduo	60	1.71	0.011276	11.55	11.58	0.0923	30.39
CV(%)		8.94	6.7	4.51	11.42	9.47	9.79

** Diferença significativa, ns Diferença não significativa ao nível de 5% para o teste de Scott Knott.

Teor de nitrogênio (TN), teor de fósforo (TP), teor de potássio (TK), conteúdo de nitrogênio (CN), conteúdo de fósforo (CP), conteúdo de potássio (CK)

10.2. Condução do experimento na casa de vegetação e coleta de dados.



Figura 1. Condução do experimento em casa de vegetação, mudas aos zeros, 15 e 30 dias depois de semeadas.



Figura 2. Processo de medição e registro das variáveis mensuradas em mudas de tomateiro cultivar San Marzano inoculadas com bactérias diazotróficas.



Figura 3. Mudanças de tomateiro do cultivar San Marzano aos 35 dias depois de sementeiras.

10.3. Teste de solubilização de fósforo dos isolados.

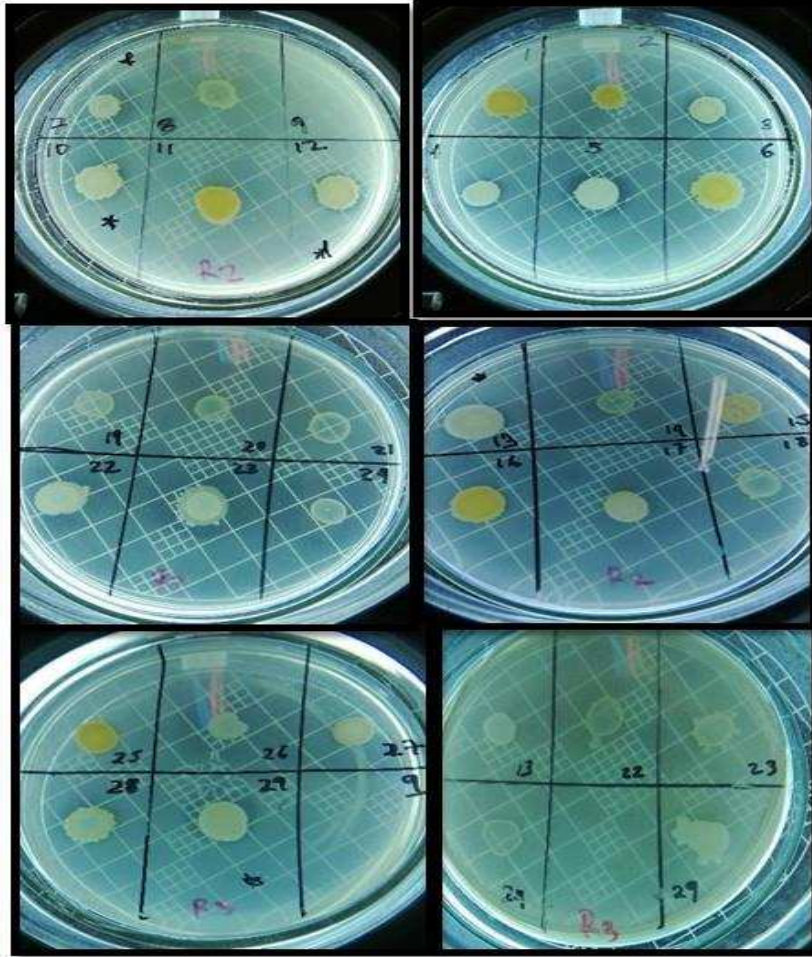


Figura 4. Teste de solubilização de fosfato de cálcio dos isolados bacterianos UFV82131 (1), UFV82132 (2), UFV81133 (3), UFV81164 (4), UFV81165 (5), UFV82126 (6), UFV82431 (7), UFV81452 (8), UFV82433 (9), UFV81221 (10), UFV82222 (11), UFV82234 (12), UFV82234 (13), UFV81741 (14), UFV82722 (15), UFV82723 (16), UFV82724 (17), UFV81725 (18), UFV81736 (19), UFV81737 (20), UFV81361 (21), UFV82322 (22), UFV82323 (23), UFV82334 (24), UFV82335 (25), UFV81921 (26), UFV82521 (27), UFV81631 (28), UFV81651 (29). O halo transparente indica o potencial de solubilização dos isolados.

10.4. Teste de solubilização de óxido de zinco.

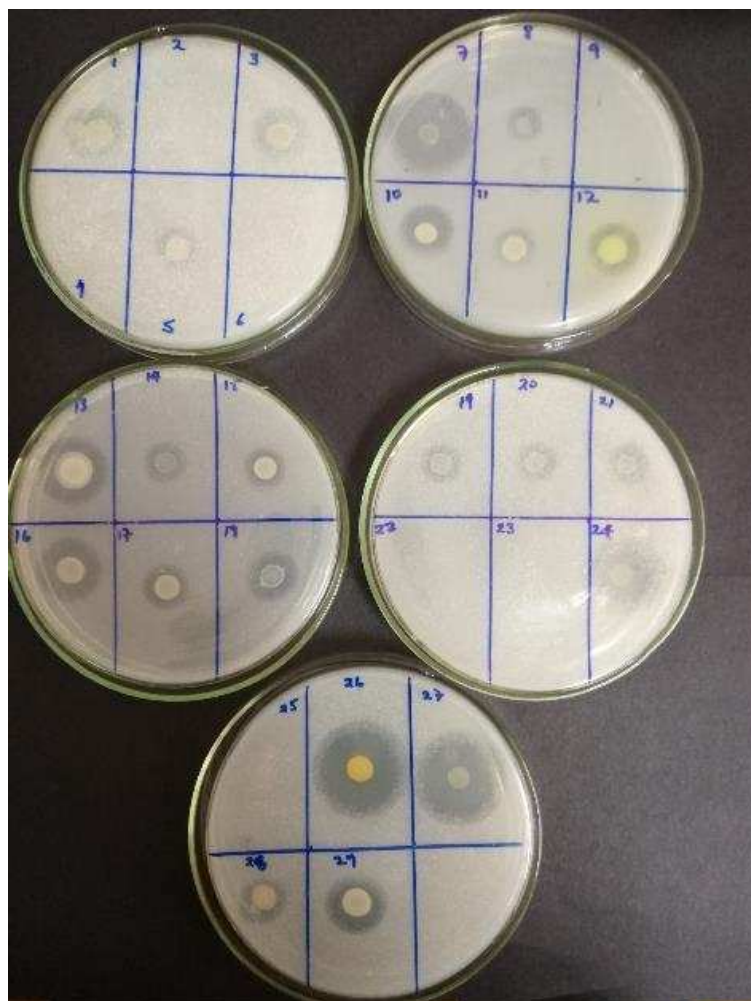


Figura 5. Teste de solubilização de óxido de zinco dos isolados bacterianos, UFV82131 (1), UFV82132 (2), UFV81133 (3), UFV81164 (4), UFV81165 (5), UFV82126 (6), UFV82431 (7), UFV81452 (8), UFV82433 (9), UFV81221 (10), UFV82222 (11), UFV82234 (12), UFV82234 (13), UFV81741 (14), UFV82722 (15), UFV82723 (16), UFV82724 (17), UFV81725 (18), UFV81736 (19), UFV81737 (20), UFV81361 (21), UFV82322 (22), UFV82323 (23), UFV82334 (24), UFV82335 (25), UFV81921 (26), UFV82521 (27), UFV81631 (28), UFV81651 (29). O halo transparente indica o potencial de solubilização dos isolados.

10.5. Teste do potencial de sínteses de compostos indólicos dos isolados.

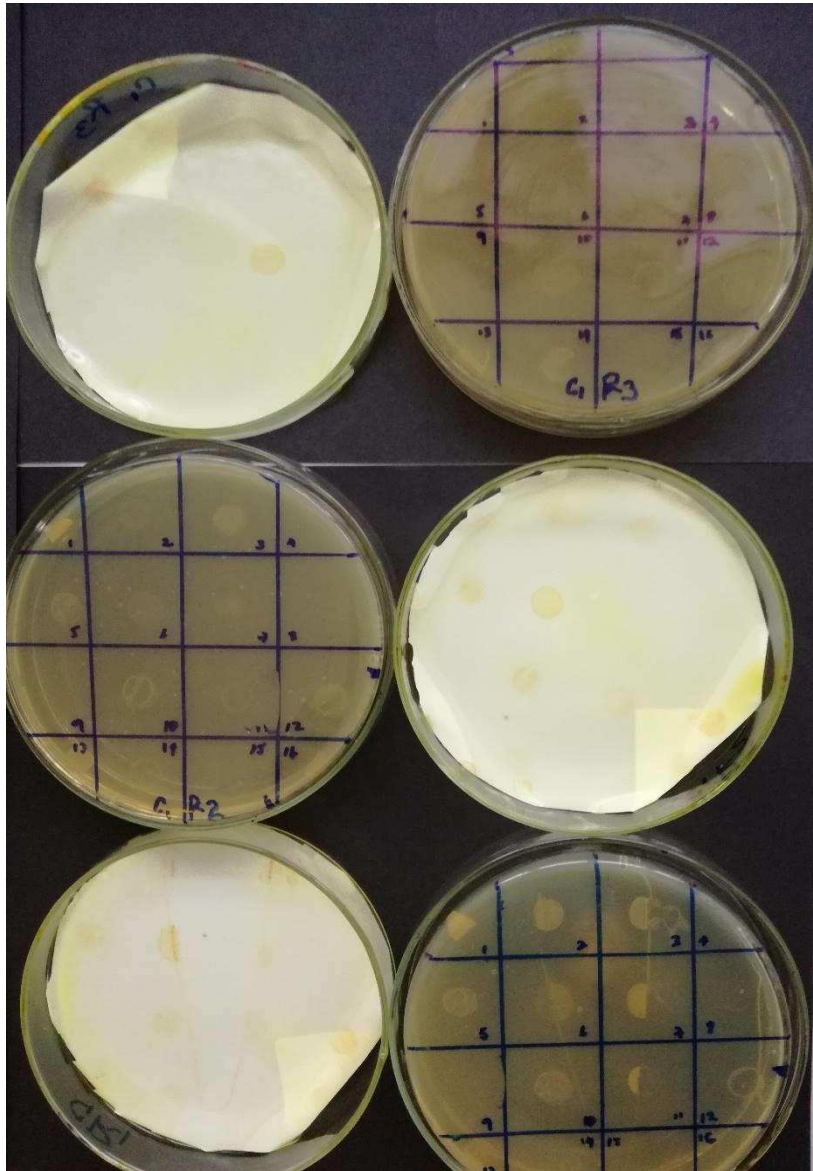


Figura 6. Teste de potencial de síntese de compostos indólicos dos isolados bacterianos UFV82131 (1), UFV82132 (2), UFV81133 (3), UFV81164 (4), UFV81165 (5), UFV82126 (6), UFV82431 (7), UFV81452 (8), UFV82433 (9), UFV81221 (10), UFV82222 (11), UFV82234 (12), UFV82234 (13), UFV81741 (14), UFV82722 (15), UFV82723 (16). A cor rosa indica o potencial de sínteses de compostos indólicos dos isolados.

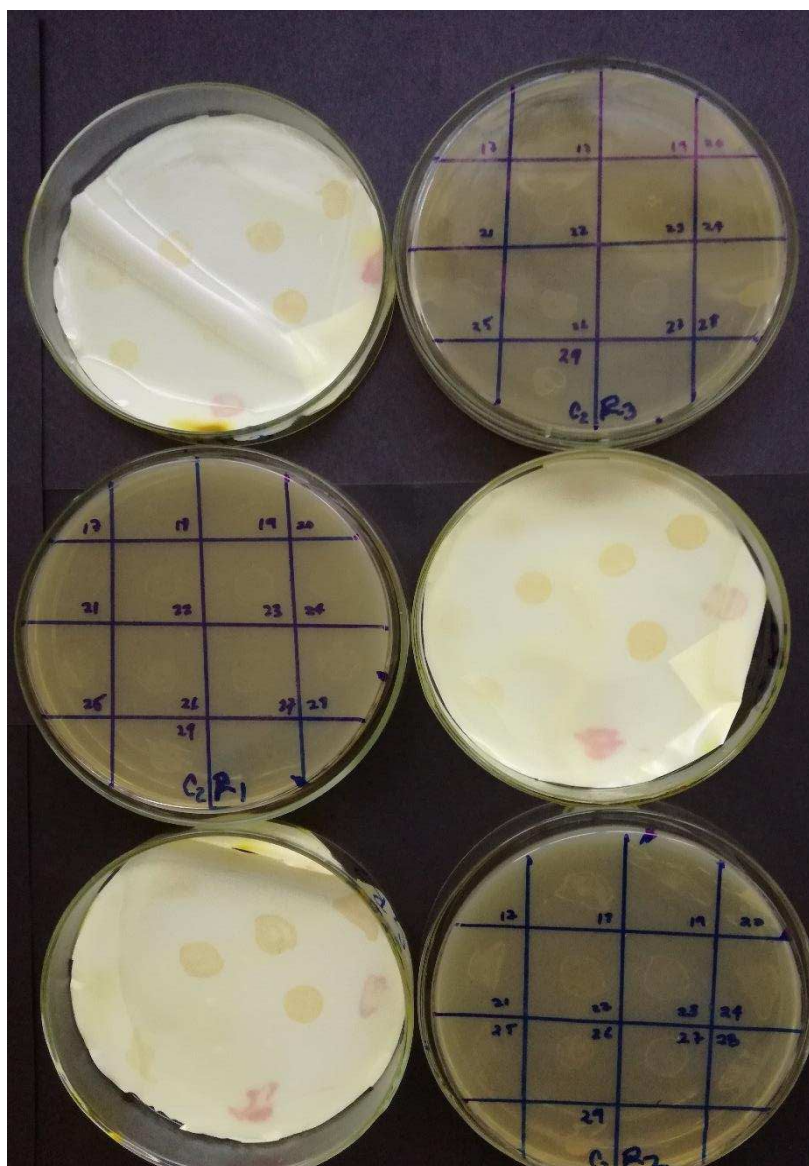


Figura 7. Teste de potencial de síntese de compostos indólicos dos isolados bacterianos UFV82724 (17), UFV81725 (18), UFV81736 (19), UFV81737 (20), UFV81361 (21), UFV82322 (22), UFV82323 (23), UFV82334 (24), UFV82335 (25), UFV81921 (26), UFV82521 (27), UFV81631 (28, apresenta), UFV81651 (29, apresenta). A cor rosa indica o potencial de sínteses de compostos indólicos dos isolados.

10.6. Composição dos meios de cultura

10.6.1. Meio DYGS

Para 1000 mL de água destilada foi acrescentado 2,0 g de glicose 2,0 g de ácido málico, 1,5 g de peptona bacteriológica, 2,0 g de extrato de levedura, 0,5 g de fosfato de potássio dibásico, 0,5 g de sulfato de magnésio hidratado, 1,5 g de ácido glutâmico, ajustou-se o pH com hidróxido de potássio solução à 10% e/ou ácido sulfúrico à 5%. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera e 120 graus Celsius.

10.6.2. Meio JMV

Para 1000 mL de água destilada foi acrescentado 5 g de manitol, 1,6 mL de solução de fosfato de potássio dibásico, 18 mL de solução de fosfato de potássio monobásico, 2 mL de solução de sulfato de magnésio hidratado, 1 mL de solução de cloreto de sódio, 2 mL de solução de cloreto de cálcio, 2 mL de solução de azul de bromotimol, 2 mL de solução de micronutrientes para meio de cultura, 4 mL de solução de EDTA de ferro, 1 mL de solução de vitamina para meio de cultura, ajustou-se o pH para 4,2 – 4,5 usando ácido sulfúrico à 5% e/ou hidróxido de potássio a 10%. O ágar foi acrescentado nas seguintes quantidades: 2,1 g por litro para meio semissólido, 25 g por litro para meio sólido, adicionado 100 mg de extrato de levedura. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera e 120 graus Celsius.

10.6.3. Meio NFb

Para 1000 mL de água destilada foi acrescentado 5 g de ácido málico, 5 mL de solução de fosfato de potássio dibásico, 2 mL de solução de sulfato de magnésio heptahidratado, 1 mL de solução de cloreto de sódio, 2 mL de solução de cloreto de cálcio dihidratado, 2 mL de azul de bromotimol 0,5% em 0,2N de hidróxido de potássio, 2 mL de solução de micronutrientes para meio de cultura, 4 mL de solução de EDTA de ferro, 1 mL de solução de vitamina para meio de cultura, 4,5 g de hidróxido de potássio, ajustou-se o pH para 6,5 com solução de hidróxido de potássio à 10% e/ou solução ácido sulfúrico à 5%. O ágar foi adicionado nas seguintes quantidades: 1,8 g por litro para meio semi sólido, 15 g por litro para meio sólido,

colocando 50 mg de extrato de levedura por litro de meio de cultura. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera de pressão e 120 graus Celsius.

10.6.4. Meio LGI

Para 1000 mL de água destilada foi acrescentado 5 g de açúcar cristal, 2 mL de solução de fosfato de potássio dibásico, 6 mL de solução de fosfato de potássio monobásico, 2 mL de solução de sulfato de magnésio heptahidratado, 2 mL de solução de cloreto de cálcio dihidratado, 2 mL de solução de molibdato de sódio dihidratado, 1 mL de solução de cloreto férrico hexahidratado, 5 mL de solução de azul de bromotimol, 1 g de nitrato de potássio, 1 mL de solução de vitamina para meio de cultura, ajustou-se o pH para 6,0 – 6,2, usando solução de ácido sulfúrico à 5%. O ágar foi adicionado nas seguintes quantidades: 15 g por litro de meio de cultura sólido, 1,8 g por litro de meio de cultura para meio semi sólido colocando também 0,02 g de extrato de levedura. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera e 120 graus Celsius.

10.6.5. Meio JNFb

Para 1000 mL de água destilada foram adicionados 5 g de ácido málico, 6 mL de solução de fosfato de potássio dibásico, 18 mL de solução de fosfato de potássio monobásico, 2 mL de sulfato de magnésio heptahidratado, 1 mL de solução de cloreto de sódio, 2 mL de solução de cloreto de cálcio dihidratado, 2 mL de solução de azul de bromotimol, 2 mL de solução de micronutrientes para meio de cultura, 4 mL de solução de EDTA de ferro, 4,5 g de hidróxido de potássio, 1 mL de solução de vitamina para meio de cultura. Ajustou-se o pH para 5,8 usando solução de hidróxido de potássio à 10% e/ou solução de ácido sulfúrico à 5%. O ágar foi adicionado nas seguintes quantidades: 1,9 g por litro para meio semi sólido, 17 g por litro para meio sólido, 20 mg de extrato de levedura. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera e 120 graus Celsius.

10.6.6. Meio LGI-P

Para 1000 mL de água destilada foram colocados 100 g de açúcar cristal, 2 mL de solução de fosfato de potássio dibásico, 6 mL de solução de fosfato de potássio monobásico, 2 mL de solução de sulfato de magnésio hidratado, 2 mL de solução de cloreto de cálcio dihidratado, 2 mL de solução de molibdato de sódio dihidratado, 1 mL de solução de cloreto férrico hexahidratado, 5 mL de solução de azul de bromotimol, 1 mL de solução de vitamina para meio de cultura, ajustou-se o pH para 5,5 usando solução de ácido acético à 10%. O ágar foi adicionado nas seguintes quantidades: 1,6 g por litro para meio semi sólido e 25 g por litro de meio sólido. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera e 120 graus Celsius.

10.6.7. Meio JMVL

Para 1000 mL de água destilada foram colocados 5,0g de manitol, 18,0 mL de fosfato de potássio monobásico, 6,0 ml solução de fosfato de potássio dibásico, 2,0 mL solução de sulfato de magnésio hidratado, 1,0 mL de cloreto de sódio, 2,0 mL de solução de cloreto de cálcio dihidratado, 4,0 mL de azul de bromotimol sol. 0,5% em 0,2N de hidróxido de potássio, 2,0 mL EDTA de ferro, 2,0 mL de solução de micronutrientes para meio de cultura, 1,0 mL de vitamina para meio de cultura, 20 mg de extrato de levedura. Foi ajustado o pH para 5,0-5,4 usando ácido sulfúrico à 5% e/ou hidróxido de potássio à 10%. O ágar foi adicionado assim: para meio sólido 125g L⁻¹, para meio semi-sólido 6 g L⁻¹. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera e 120 graus Celsius.

10.6.8. Meio JMVM

Para 1000 mL de água destilada foi adicionado 5 g de manitol, 1,6 mL de solução de fosfato de potássio dibásico, 18 mL de solução de fosfato de potássio monobásico, 2 mL de solução de sulfato de magnésio hidratado, 1 mL de solução de cloreto de sódio, 2 mL de solução de cloreto de cálcio, 2 mL de solução de azul de bromotimol, 2 mL de solução de micronutrientes para meio de cultura, 4 mL de solução de EDTA de ferro, 1 mL de solução de vitamina para meio de cultura, ajustou-se o pH para 6,5 usando ácido sulfúrico à 5% e/ou hidróxido de potássio à 10%. O ágar foi agregado nas seguintes quantidades: 2,1 g por litro

para meio semissólido, 25 g por litro para meio sólido, adicionado 100 mg de extrato de levedura. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera e 120 graus Celsius.

10.6.9. Meio NFbM

Para 1000 mL de água destilada foi agregado 5 g de ácido málico, 5 mL de solução de fosfato de potássio dibásico, 2 mL de solução de sulfato de magnésio heptahidratado, 1 mL de solução de cloreto de sódio, 2 mL de solução de cloreto de cálcio dihidratado, 2 mL de azul de bromotimol 0,5% em 0,2N de hidróxido de potássio, 2 mL de solução de micronutrientes para meio de cultura, 4 mL de solução de EDTA de ferro, 1 mL de solução de vitamina para meio de cultura, 4,5 g de hidróxido de potássio, ajustou-se o pH para 4,5 com solução de hidróxido de potássio à 10% e/ou solução ácido sulfúrico à 5%. O ágar foi adicionado nas seguintes quantidades: 1,8 g por litro para meio semi sólido, 15 g por litro para meio sólido, colocando 50 mg de extrato de levedura por litro de meio de cultura. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera de pressão e 120 graus Celsius.

10.6.10. Meio LGIM

Para 1000 mL de água destilada foi agregado 5 g de açúcar cristal, 2 mL de solução de fosfato de potássio dibásico, 6 mL de solução de fosfato de potássio monobásico, 2 mL de solução de sulfato de magnésio heptahidratado, 2 mL de solução de cloreto de cálcio dihidratado, 2 mL de solução de molibdato de sódio dihidratado, 1 mL de solução de cloreto férrico hexhidratado, 5 mL de solução de azul de bromotimol, 1 g de nitrato de potássio, 1 mL de solução de vitamina para meio de cultura, ajustou-se o pH para 4,6 usando ácido sulfúrico à 5% e/ou hidróxido de potássio à 10%. Adicionou-se ágar nas seguintes quantidades: 15 g por litro de meio de cultura sólido, 1,8 g por litro de meio de cultura para meio semi-sólido colocando também 0,02 g de extrato de levedura. A solução foi autoclavada por 20 minutos à 1 atmosfera e 120 graus Celsius.