

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO: ENGENHARIA AGRONÔMICA**

**RAFAEL CHAVES RIBEIRO**

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE TOMATE MEDIADA POR**  
***BACILLUS METHYLOTROPICUS***

SÃO LUIS - MA

2019

**RAFAEL CHAVES RIBEIRO**

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE TOMATE MEDIADA POR  
*BACILLUS METHYLOTROPICUS***

Monografia apresentada à Coordenação do  
Curso de Agronomia do Centro de Ciências  
Agrárias da Universidade Estadual do  
Maranhão para a obtenção do título de  
Engenheiro Agrônomo

**Orientador: Prof. Dra. Antônia Alice  
Costa Rodrigues**

SÃO LUIS - MA

2019

Ribeiro, Rafael Chaves.

Promoção de crescimento de plantas de tomate mediada por *Bacillus methylotrophicus* / Rafael Chaves Ribeiro. – São Luís, 2019.

... 48

Monografia (Graduação) – Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Maranhão, 2019.

Orientador: Profa. Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues.

1.Rizobactérias. 2.Formulações bioativas. 3.*Solanum lycopersicum*.  
4.Estimulante de crescimento vegetal. I.Título

CDU: 635.64-18

RAFAEL CHAVES RIBEIRO

PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE TOMATE MEDIADA POR  
*BACILLUS METHYLOTROPHICUS*

Monografia apresentada à Coordenação do  
Curso de Agronomia do Centro de Ciências  
Agrárias da Universidade Estadual do  
Maranhão para a obtenção do título de  
Engenheiro Agrônomo

São Luís, 12 de Março de 2019

BANCA EXAMINADORA

Antônia Alice Costa Rodrigues

Prof. Antônia Alice Costa Rodrigues Dra em Fitopatologia (Orientadora)

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA.

Leonardo de Jesus Machado Gois de Oliveira

MSc. em Agroecologia Leonardo de Jesus Machado Gois de Oliveira

Erlen Keila Candido e Silva

Dra. em Fitopatologia Erlen Keila Candido e Silva

Dedico,

Aos meus pais e irmão, **Marley do Amparo Sousa Chaves e Ricardo Ribeiro Filho, Ricardo Ribeiro Netto** que são a minha razão de viver e devo a eles toda gratidão.... “ Tudo é do pai, toda honra e toda glória, é dele a vitória alcançada em minha vida.”  
(Padre Fábio de Melo)

Ofereço,

A minha namorada **Risley Christt Belfort Nascimento**, pelo companheirismo, amor, paciência... Por sempre me apoiar, incentivar e me tranquilizar.

“Cada dia a natureza produz o suficiente para nossa carência. Se cada um tomasse o que lhe fosse necessário, não havia pobreza no mundo e ninguém morreria de fome.”

Mahatma Gandh.

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me fortalecer diante de todas as barreiras, pelo dom da vida, por todas as bênçãos derramadas e por estar sempre me abençoando e protegendo.

Aos meus pais, **Marley do Amparo Sousa Chaves e Ricardo Ribeiro Filho**, por simplesmente me apoiarem em todas as decisões e situações, pelo amor, por serem exemplos de pessoas, razão pela qual sempre luto por dias melhores.

Ao meu irmão, **Ricardo Ribeiro Netto**, por me ajudar em todos os momentos e pela união e força, e ser meu companheiro para todas as horas.

A minha orientadora **Antônia Alice Costa Rodrigues**, sou grato por ter me recebido de braços abertos no grupo de pesquisa, pelas conversas, conhecimentos repassados, carinho, atenção, amizade, enfim, educadora que não medem esforços para ajudar o próximo.

Ao Laboratório Fitopatologia 03: **Leo, Francisco, Pedro, Muniz Neto, Diogo, Erley, Gustavo, Larissa, Rayane, Danny**. Cada um com o seu jeitinho diferente, me cativou de forma especial. Jamais esquecerei nossos momentos de alegrias, risos, preocupações, conversas. Agradeço por ter participado dessa família.

A minha namorada, **Risley Christt Belfort Nascimento**, por me apoiar incondicionalmente em todos os momentos, pelas palavras, principalmente nos momentos difíceis, me fortalecendo diante das batalhas. Pelo o amor e carinho, sou grato.

Aos meus amigos, **Claudio Adriano, Bernardino Rafael, Carlos Alberto e Wyayran Fernando**, não existem palavras para demonstrar o meu agradecimento durante a convivência que estivemos juntos. Todas as conversas, momentos tristes e felizes, apoio incondicional, durante toda graduação Jamais esquecerei!

À Universidade Estadual do Maranhão – **UEMA**, a **Fapema e Cnpq**.

Sou grato a todos que ajudaram direto ou indiretamente para a realização deste trabalho!

**Muito Obrigado!**

# PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE TOMATE MEDIADA POR *BACILLUS METHYLOTROPHICUS*

Autor: Rafael Chaves Ribeiro

Orientador: Antônia Alice Costa Rodrigues

## RESUMO

O emprego de microrganismos para fins agrônômicos vem sendo bastante estudado, por ser uma grande alternativa de redução ou eliminação do uso de agroquímicos. O uso de *Bacillus methylophilus* como promotores de crescimento vegetal caracteriza uma medida alternativa na agricultura. Com isso, o presente trabalho objetivou testar pó de mandioca (*Manihot esculenta* L.), e araruta (*Maranta arundinacea* L.), como formulações na veiculação de células de *B. methylophilus*, usadas na promoção de crescimento do tomateiro e testar a capacidade de *B. methylophilus* na produção de Ácido indol-acético. O experimento foi conduzido no delineamento blocos casualizado, consistindo de 10 tratamentos, quatro blocos com quatro repetições de 15 plantas. As sementes de tomate cv. Santa Cruz foram microbiolizadas com suspensão de *B. methylophilus* pela imersão das sementes nas suspensões líquidas e misturas nas formulações em pó na proporção de 20 g/kg de semente. As sementes foram semeadas e mantidas por 30 dias em copos de 1000 L de 7,9 cm de diâmetro superior contendo solo + esterco autoclavados na proporção 3:1, deixando-se uma planta por copo. Foi realizada avaliação da percentagem de germinação aos 14 dias após a semeadura, caracterizada como a porção de sementes germinadas apresentando as duas primeiras folhas visíveis acima do substrato. Avaliou-se, também, os parâmetros de crescimento aos 30 dias de cultivo, incluindo: altura das plantas, número de folhas, comprimento de raiz, diâmetro do caule, volume da raiz, massa seca e fresca de raiz e parte aérea, e o IVP (índice de vigor de planta). A microbiolização das sementes para a veiculação dos isolados de *B. methylophilus* B47 e B12 influenciaram na promoção de crescimento e nos estágios iniciais das plantas de tomate, destacando todos os atributos morfo-fisiológicos avaliados, estimulando maior crescimento em plantas de tomateiro. Obteve-se um efeito significativo das formulações a base de Mandioca e Araruta contendo os isolados B47 e B12: os tratamentos obtiveram um incremento positivo no crescimento das plantas, sendo semelhante e superiores em alguns aspectos ao produto comercial Quartz<sup>®</sup>, e diferindo dos tratamentos controles. O tratamento contendo *B. methylophilus* B47 apresentou valores significativos e superiores a todos os tratamentos em todos os atributos avaliados nos testes de pr. Os tratamentos com a inoculação dos isolados B47 e B12 foram os que apresentaram resultados mais promissores na promoção de crescimento de plantas de tomate, aumentando e acelerando a germinação, obtendo um acúmulo total de biomassa expressivo dessas plantas em casa de vegetação. As suspensões *in natura* e formulações em pó de mandioca e araruta, contendo *B. methylophilus* são eficientes na promoção do crescimento vegetal de plantas de tomateiro. Os dois isolados avaliados ambos apresentaram produção superior à 18.20 a  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de AIA, sendo que o isolado B 47 apresentou em todos os dias avaliados valores superiores aos dos isolados B12.

**Palavras-chave:** Rizobactérias; formulações bioativas; *Solanum lycopersicum*.; estimulante de crescimento vegetal.

# PROMOTION OF GROWTH OF TOMATO PLANTS THROUGH FORMULATIONS BASED ON *BACILLUS METHYLOTROPHICUS*

Autor: Rafael Chaves Ribeiro

Orientador: Antônia Alice Costa Rodrigues

## ABSTRACT

The use of microorganisms for agronomic purposes has been well studied because it is a great alternative to reduce or eliminate the use of agrochemicals. The use of *Bacillus methylotrophicus* as plant growth promoters characterizes an alternative measure in agriculture. The objective of the present work was to test cassava (*Manihot esculenta* L.) and Araruta (*Maranta arundinacea* L.) powder as formulations in *B. methylotrophicus* cells, used to promote tomato growth, and to test *B. methylotrophicus* in the production of indole-acetic acid. The experiment was conducted in a randomized block design, consisting of 10 treatments, four blocks with four replicates of 15 plants. Seeds of tomato cv. Santa Cruz were microbiolized with suspension of *B. methylotrophicus* by immersion of the seeds in the liquid suspensions and mixtures in the powder formulations in the proportion of 20 g / kg of seed. The seeds were sown and maintained for 30 days in 1000 L beakers of 7.9 cm higher diameter containing soil + autoclaved manure in the proportion 3: 1, leaving one plant per cup. The percentage of germination was evaluated at 14 days after sowing, characterized as the portion of germinated seeds presenting the first two leaves visible above the substrate. Growth parameters were also evaluated at 30 days of cultivation, including: plants, number of leaves, root length, stem diameter, root volume, dry mass and root and shoot strawberry, and IVP (plant vigor index). The microbiolization of the seeds for the propagation of *B. methylotrophicus* B47 and B12 isolates influenced the growth promotion and early stages of tomato plants, highlighting all the morpho-physiological attributes evaluated, stimulating greater growth in tomato plants. There was a significant effect of the formulations based on Cassava and Araruta containing the isolates B47 and B12: the treatments obtained a positive increase in the growth of the plants, being similar and superior in some respects to the commercial product Quartz®, and differing from the control treatments. The treatment containing *B. methylotrophicus* B47 presented significant values and superior to all the treatments in all attributes evaluated in pr. The treatments with the inoculation of the isolates B47 and B12 were the ones that presented the most promising results in the promotion of growth of tomato plants, increasing and accelerating the germination, obtaining a total accumulation of expressive biomass of these plants in a greenhouse. The in vitro suspensions and powder formulations of cassava and arrowroot containing *B. methylotrophicus* are efficient in promoting plant growth of tomato plants. The two isolates evaluated had a production above 18.20 a  $\mu\text{g mL}^{-1}$  of AIA, and the isolate B 47 presented values higher than those of isolates B12

**Keywords:** Rhizobacteria; bioactive formulations; *Solanum lycopersicum* .; stimulant of plant growth.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	7
ABSTRACT .....	8
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	11
<b>CAPÍTULO 1- .....</b>	<b>12</b>
INTRODUÇÃO.....	13
REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
O tomateiro.....	15
Histórico, taxonomia e descrição.....	15
Promoção de crescimento.....	16
<i>Bacillus</i> spp. ....	17
OBJETIVOS.....	19
REFERÊNCIAS.....	20
<b>CAPÍTULO 2: PRODUTOS ALTERNATIVOS PARA VEICULAÇÃO DE <i>BACILLUS METHYLOTROPHICUS</i>: EFEITO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO EM TOMATEIRO.....</b>	<b>23</b>
RESUMO.....	24
ABSTRACT .....	25
INTRODUÇÃO.....	26
MATERIAIS E METODOS.....	27
RESULTADOS E DISCUÇÕES.....	30
AGRADECIMENTOS.....	38
REFERÊNCIAS .....	39
ANEXO.....	45
NORMAS DA REVISTA <i>SummaPhytopathologica</i> .....	46

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1.** Efeito das formulações de *Bacillus methylotrophicus* sobre o desenvolvimento das plântulas de tomateiro com base nas variáveis diâmetro de colo (A), Comprimento radicular e dorsel (B), volume da raiz, (C), comprimento total (D) número de folhas (E), matéria fresca raiz e dorsel (F) e matéria seca de raiz e dorsel (G). .....39

**Figura 2:** Concentração de AIA pelos isolados de *Bacillus methylotrophicus* B12 E B47, lida em espectrofotômetro a 520nm.....40

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>PGPR</b> .....	Plant growth-promoting rhizobacteria
<b>AIA</b> .....	ácido indol acético
<b>SUS.B12</b> .....	SUSPENSÃO + <i>Bacillus methylotrophicus</i> 12
<b>SUS.B47</b> .....	SUSPENSÃO + <i>Bacillus methylotrophicus</i> 47
<b>MAND.B12</b> .....	Pó de mandioca + <i>Bacillus methylotrophicus</i> 12
<b>MAND.B47</b> .....	Pó de mandioca + <i>Bacillus methylotrophicus</i> 47
<b>ARA.B12</b> .....	Pó de araruta + <i>Bacillus methylotrophicus</i> 12
<b>ARA.B47</b> .....	Pó de araruta + <i>Bacillus methylotrophicus</i> 47
<b>MAN.CRT</b> .....	Pó de mandioca + Água destilada e autoclavada
<b>ARA.CRT</b> .....	Pó de araruta + Água destilada e autoclavada
<b>DBC</b> .....	Delinhamento em Blocos Casualizados
<b>DIC</b> .....	Delinhamento Inteiramente Casualizado
<b>IVP</b> .....	Índice de Vigor de Planta



## **CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEORICO.**

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais produtores de tomate, com uma produção superior a 4.3 milhões de toneladas. O Nordeste destaca-se como a terceira região produtora deste fruto, produzindo 378.445 toneladas, sendo o Estado do Maranhão o 7<sup>o</sup> entre os produtores do nordeste, com pouco mais de 3.671 toneladas em 189 hectares de área plantada (IBGE, 2016).

O estabelecimento de uma agricultura sustentável, que preserve o meio ambiente e proporcione segurança alimentar futura, é um fator primordial para o desenvolvimento da humanidade, ante as mudanças climáticas e o declínio das reservas energéticas não renováveis. Diante das previsões de crescimento populacional mundial, existe o desafio de criar métodos avançados e eficientes para aumentar a produção de alimentos e energia renovável sem, contudo, esgotar os recursos naturais.

A agricultura moderna tem enfrentado o grande desafio de aumentar a produção das culturas gerando sustentabilidade, baseando-se em enfoque que visa a proteção ambiental. Para atingir esse objetivo, uma das alternativas é a utilização de microrganismos promotores de crescimento. Na literatura, são descritas algumas bactérias que vivem associadas às plantas e têm a habilidade de promover o crescimento vegetal (COMPANT et al., 2010). Espécies do gênero *Bacillus* vêm sendo utilizados para este fim.

O uso de microrganismos que beneficiam o desenvolvimento de determinada cultura seja pela promoção de crescimento seja pelo controle biológico é conhecido há muito tempo, Andrews (1992) cita que as bactérias possuem maior capacidade competitiva de colonizar que outros microrganismos do solo, sendo que a colonização inicia na semente, ou após a emissão da radícula e sua distribuição deve acompanhar o crescimento das raízes, principalmente nas células epidérmicas, onde se encontram as maiores concentrações de exsudatos e de nutrientes, menor oscilação de temperatura e de umidade e dentre os efeitos observados estão o aumento da taxa de germinação, crescimento de raízes, crescimento de caule, aumento de rendimento e bioproteção a patógenos.

Bactérias do gênero *Bacillus* pertencem ao grupo de microrganismos conhecidos como rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-PGPR), são organismos de vida livre que estimulam direta ou indiretamente processos metabólicos e fisiológicos vegetais.

Os efeitos na promoção de crescimento incluem aumentos na altura, na biomassa da parte aérea, do caule e da raiz e na formação de pelos radiculares e foliares da planta e na lignificação de vasos do xilema (PILLAY; NOWAK, 1997; STURTZ, 1995).

Há várias maneiras pelas quais bactérias promotoras de crescimento vegetal podem afetar diretamente o crescimento da planta: através da fixação de nitrogênio atmosférico, da solubilização de minerais, tais como fósforo, produção de sideróforos (moléculas que solubilizam e sequestram ferro), ou pela produção de reguladores de crescimento vegetal (hormônios), que acentuam o crescimento vegetal em vários estágios de desenvolvimento.

A promoção indireta de crescimento ocorre quando a PGPR diminui ou impede os efeitos deletérios de um ou mais organismos fitopatogênicos (GLICK, 1995). Essa atuação conjunta na nutrição e no metabolismo resulta em aprimoramento das defesas naturais do hospedeiro.

O uso das PGPR, como agentes de promoção de crescimento e de aumento de rendimento será, provavelmente, uma das táticas para alta produtividade de maior importância para esse século.

A promoção do crescimento radicular é um dos indicadores pelo qual o efeito benéfico das bactérias promotoras de crescimento é medido. O estabelecimento rápido de raízes por alongamento das raízes primárias ou por proliferação de raízes laterais e adventícias é vantajoso para plantas jovens. Com muitas raízes, essas plantas aumentam a sua habilidade de se ancorar ao solo, e obter água e nutrientes do ambiente, acentuando, assim, as suas chances de sobrevivência.

A promoção do crescimento é desejável quando se considera a maioria dos pontos de vista. Em plantas anuais, por exemplo, o benefício é caracterizado pelo aumento de matéria seca, e pode resultar em encurtamento do ciclo ou em aumento na produção, dependendo da espécie (FREITAS et al., 2003).

Diversas espécies vegetais têm sido beneficiadas com a habilidade que alguns microrganismos possuem de, por meio de mecanismos intrínsecos, promover o crescimento de plantas. Vários ensaios foram realizados comprovando o benefício da interação planta-microrganismo, em culturas perenes (SILVA et al., 2012), anuais (GOPALAKRISHNAN et al., 2014; PEDRO et al., 2012), hortaliças (GUIMARÃES et al., 2013), além de espécies florestais (MOREIRA; ARAÚJO, 2013) e outras culturas de interesse econômico.

Hallmann (2001) relatou que a utilização de rhizobactérias têm sido associada à promoção de crescimento de diversas espécies entre as quais tomate, alface, batata, milho, pepino, arroz e algodão.

Esse efeito combinado de promoção de crescimento e controle de patologias aumenta a importância do estudo e utilização desses microrganismos como decisivos nas estratégias de manejo de culturas agrícolas.

Vários estudos tem demonstrado que espécies de *Bacillus* sp. são promissoras na promoção de crescimento vegetal caracterizando uma medida alternativa, buscando o desenvolvimento sustentável dentro dos princípios agroecológicos proporcionando uma significativa redução dos impactos ambientais que os agroquímicos vêm causando ao longo dos anos.

Neste contexto, avaliar como esse importante gênero bacteriano pode ser veiculado e aplicado nas plantas mostra-se de real importância nas escolhas de estratégias para promoção de crescimento vegetal.

No intuito de fornecer subsídios científicos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade de formulações à base de *Bacillus methylotrophicus* na promoção de crescimento de plantas de tomate, com produtos à base de araruta (*Maranta arundinacea* L.) e mandioca (*Manihot esculenta*) como formulações para conservar e veicular células de *Bacillus methylotrophicus*.

## **2 REFERENCIAL TEORICO**

### **2.1 O tomateiro**

#### **2.1.1 Histórico, taxonomia e descrição**

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

O tomateiro pertence à classe *Dicotyledoneae*, ordem *Tubiflorae* e família *Solanaceae*. Originalmente, de acordo com Linnaeus, o tomateiro foi inicialmente integrado ao gênero *Solanum*, recebendo a denominação *Solanum lycopersicon* L.. Entretanto em 1754, Miller, reclassificou o tomateiro, criando um novo gênero denominado *Lycopersicon*, renomeando o tomateiro cultivado como *Lycopersicon esculentum* Mill. (ALVARENGA, 2004). Até a realização de estudos filogenéticos das solanáceas, demonstrando que os tomates e espécies do gênero *Solanum* são muito próximos filogeneticamente, atribuindo novamente o tomate ao gênero *Solanum*, conforme determinado inicialmente por Linnaeus (PERALTA, SPOONER, 2006).

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

O tomate, fruto do tomateiro () é a primeira hortaliça fruto de importância econômica no Brasil. Esta importância está ligada ao aspecto não só econômico, mas também social e, segundo o levantamento da FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, o tomate é o décimo primeiro alimento mais produzido mundialmente, contando com aproximadamente 161 milhões de toneladas colhidas em 2012. O Brasil destaca-se com uma produção de aproximadamente 3,8 milhões de toneladas, colocando-se na 9º posição da produção mundial no ano de 2012 (FAO, 2015.)

O tomate é uma hortaliça muito popular na gastronomia mundial. Pode ser consumido *in natura* ou em derivados, sendo apreciado em vários países, tanto pela qualidade de sabor, quanto também pela grande concentração de substâncias benéficas ao organismo humano, como por exemplo o licopeno, que está associada à prevenção do câncer de próstata (LOPES, 2005).

A floração e a frutificação ocorrem juntamente com o crescimento vegetativo. As folhas pecioladas são compostas por números ímpares de folíolos. Possui sistema radicular constituído de raiz principal, raízes secundárias e raízes adventícias (ALVARENGA, 2004).

Os frutos são bagas carnosas e suculentas, bi, tri ou plurilocular, que se desenvolve a partir de um ovário com 5-10 mg de peso e alcança, quando maduro, peso final entre 5 e 500 g, dependendo da cultivar e das condições de desenvolvimento (ALVARENGA, 2004). Após amadurecimento, são de um vermelho vivo em razão do acúmulo do carotenóide licopeno. As sementes são pilosas pequenas e o sistema radicular é condicionado pelo tipo de cultura (FILGUEIRA, 2000).

### **2.1.2 Promoção de crescimento**

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

A promoção do crescimento é desejável quando se considera a maioria dos pontos de vista. Em plantas anuais, por exemplo, o benefício é caracterizado pelo aumento de matéria seca, e pode resultar em encurtamento do ciclo ou em aumento na produção, dependendo da espécie (FREITAS et al., 2003).

A utilização de bactérias com características de promoção de crescimento vegetal tem sido uma alternativa promissora para a agricultura sustentável, visto a crescente demanda por insumos químicos, em consequência da necessidade de produzir mais alimentos devido ao aumento populacional.

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

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

Bactérias do gênero *Bacillus* são gram-positivas e podem ser aeróbias, facultativas ou anaeróbias, com formato de bastonetes retos, móveis por flagelos peritríquios, além disso, possuem endósporos com a característica de resistir às condições adversas. São resistentes ao calor e a maioria delas tem exigências nutricionais simples, requerendo no máximo alguns aminoácidos ou vitaminas B como fatores de crescimento (BHANDARI et al., 2013).

Formam endósporos (estruturas de resistência) e apresentam a habilidade de produzir antibióticos (FREITAS; PIZZINATTO, 1997). A formação de endósporos aumenta a resistência aos fatores adversos. Dessa forma, podem ser armazenados como inoculantes por um período mais longo, e possuem maior tempo de permanência no solo (PETRAS; CASIDA, 1985).

Há várias maneiras pelas quais bactérias promotoras de crescimento vegetal podem afetar diretamente o crescimento da planta: através da fixação de nitrogênio atmosférico, da solubilização de minerais, tais como fósforo, produção de sideróforos (moléculas que solubilizam e sequestram ferro), ou pela produção de reguladores de crescimento vegetal (hormônios), que acentuam o crescimento vegetal em vários estágios de desenvolvimento. A promoção indireta de crescimento ocorre quando a PGPR diminui ou impede os efeitos deletérios de um ou mais organismos fitopatogênicos (GLICK, 1995).

Muitas bactérias promotoras do crescimento sintetizam ácido indol acético (AIA), e seu efeito na planta mimetiza o AIA exógeno (PATTEN; GLICK, 1996). O ácido indol acético aparentemente não funciona como um hormônio em células bacterianas e sua produção pelas bactérias pode ter surgido devido à sua importância na relação bactéria-plantas. Este regulador,

quando secretado por bactérias, poderia promover o crescimento da raiz diretamente pela estimulação do alongamento da célula vegetal ou divisão celular (PATTEN; GLICK, 1996). Segundo esses autores, o papel do AIA bacteriano na promoção do crescimento vegetal ainda não está totalmente esclarecido.

Babu et al. (2014) avaliaram a promoção do crescimento do tomateiro quando submetidos a tratamentos com diferentes bactérias, dentre estas estirpes de *B. subtilis* e *B. cereus*, sendo verificado a produção de AIA e solubilização de fosfato.

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

#### 4 REFERÊNCIAS

ALVARENGA, M. A. R. Origem, botânica e descrição da planta. In: ALVARENGA, M. A. R. e AL., E. (Ed.). **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: Editora UFLA, 2004. p.15-18.

ANDREWS, J. H. Biological control in the phyllosphere. **Annual review of phytopathology**, v. 30, n. 1, p. 603-635, 1992.

BABU, Anupama Narendra et al. Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenol oxidase. **Plant Science**, v. 231, p. 62-73, 2014.

BHANDARI, V. et al. Molecular signatures for *Bacillus* species: demarcation of the *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* clades in molecular terms and proposal to limit the placement of new species into the genus *Bacillus*. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 63, n. 7, p. 2712-2726, 2013.

COMPANT, S.; C, C. E; S, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, vol. 42, n. 5, p. 669-678. 2010.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Data base Faostat – Agriculture, 2013. Roma: FAO, 2015. Available in: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Accessed in: 20/December/2015.

FIGUEIREDO, M. V. B. et al. Bactérias promotoras do crescimento de plantas: estratégia para uma agricultura sustentável. **Biotecnologia aplicada à agricultura: textos de apoio e protocolos experimentais**. Embrapa Agrobiologia, Brazil, p. 387-414, 2010.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo Manual de Olericultura: **Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. 421p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2008. 421p.

FREITAS, S. S.; A, V. C. I. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 6, 2004.

FREITAS, S. S.; M, A. M. T.; D, V. P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 61-70, 2003. ISSN 0100-0683. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010006832003000100007&nrm=i](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010006832003000100007&nrm=i)  
so>.

FREITAS, S. S.; P, M. A. Ação de rizobactérias sobre a incidência de *Colletotrichum gossypii* e promoção de crescimento em plântulas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). **Sum. Phytopathol**, v. 23, p. 36-41, 1997.

GIORDANO, L. de B.; R, CS da C. Origem, botânica e composição química do fruto. **Tomate para processamento industrial. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças**, 2000.

GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian journal of microbiology**, v. 41, n. 2, p. 109-117, 1995.

GOPALAKRISHNAN, S. et al. Evaluation of Streptomyces strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in rice. **Microbiological research**, v. 169, n. 1, p. 40-48, 2014.

GUIMARÃES, A. M. et al. 14302-Utilização da rizobactéria *Bacillus amyloliquefaciens* na promoção de crescimento de alface (*Lactuca sativa* L.), em cultivo agroecológico. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, 2013.

HALLMANN, J. Plant interactions with endophytic bacteria. In: JEGER, M.J.; SPENCE, N.J. (Eds.) Biotic interactions in plant-pathogen associations. London. **CAB International**. 2001. pp. 87-119.

IBGE. Tomate: Produtividade de 2016. 2017. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 03 de janeiro 2019.

LANNA, F, R; F. H, M; P; R, S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, 2010.

LOPES, C. Introdução geral. In: L, C. A. e ÁVILA, A. C. (Ed.). **Doenças do Tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005. p.11-15.

MARIM, B. G. et al. Sistemas de tutoramento e condução do tomateiro visando produção de frutos para consumo in natura Tomato plant staking and training systems for fresh fruit production. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 951-955, 2005.

MOREIRA L; A, F.F. 2013, agosto. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Revista Árvore, Viçosa-MG**, v.37, n.5, p.933-943. PATTEN, Cheryl L.; GLICK, Bernard R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian journal of microbiology**, v. 42, n. 3, p. 207-220, 1996.

MOREIRA, L. A. L; A, F. F. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Revista Árvore**, v. 37, n. 5, 2013.

PEDRO; H, R; L, C.M.M; G, S.D. 2012, novembro. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília: 47, n.11, p.1589-1595.

PERALTA, I. E. et al. History, origin and early cultivation of tomato (*Solanaceae*). **Genetic improvement of solanaceous crops**, v. 2, p. 1-27, 2006.

PETRAS, S. F.; C, L. E. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 50, n. 6, p. 1496-1501, 1985.

PII, Y. al. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 4, p. 403-415, 2015.

PILLAY, V. K.; N, Jerzy. Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 354-361, 1997.

REIS, F. F. A. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. **Viçosa, MG: Editora UFV**, 2008.

SILVA, H .N.S.A et al. Endophytic microorganisms from coffee tissues as plant growth promoters and biocontrol agents of coffee leaf rust. **Biological Control**, v. 63, n. 1, p. 62-67, 2012.

SILVA; F. P.C.R; M, E.S.G; P, M.C. 2007. Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: PAULA JÚNIOR de TJ; VENZON M. *101 CULTURAS: Manual de tecnologias agrícolas*. Belo Horizonte: EPAMIG. p. 735– 750.

SOUZA P. E. Aparecida et al. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 11, p. 1589-1595, 2012.

STURZ, A. V. The role of endophytic bacteria during seed piece decay and potato tuberization. **Plant and Soil**, v. 175, n. 2, p. 257-263, 1995.

YASEEN, Y. N. et al. Influence of promoters on the production of fengycin in *Bacillus* spp. **Research in microbiology**, v. 167, n. 4, p. 272-281, 2016.



**CAPITULO 2: PRODUTOS ALTERNATIVOS PARA VEICULAÇÃO DE BACILLUS**

***METHYLOTROPHICUS*: EFEITO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÁCIDO**

**INDOL ACÉTICO EM TOMATEIRO**

**PRODUTOS ALTERNATIVOS PARA VEICULAÇÃO DE *BACILLUS*  
*METHYLOTROPHICUS*: EFEITO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E  
PRODUÇÃO DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO EM TOMATEIRO**

Rafael Chaves Ribeiro<sup>1</sup>, José Ribamar Muniz Campos Neto<sup>2</sup> Antônia Alice Costa Rodrigues<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil, Bolsista CNPq/PIBIC, <sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Caxias, Maranhão, Brasil,

<sup>3</sup> Universidade Estadual do Maranhão/Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, São Luís, Maranhão, Brasil.

Autor para correspondência: Rafael Chaves Ribeiro ([rafaelcribeiro@hotmail.com](mailto:rafaelcribeiro@hotmail.com)).

**RESUMO**

A tendência da agricultura moderna é conduzir suas práticas de manejo que permitam um bom desempenho produtivo mesmo que as plantas estejam submetidas a condições adversas. Com isso, o presente trabalho , objetivou testar pó de mandioca (*Manihot esculenta* L.), e araruta (*Maranta arundinacea* L.), como formulações na veiculação de células de *B. methylotrophicus*, usadas na promoção de crescimento de plantas de tomate por isolados bacterianos, bem como elucidar os mecanismos de ação destes microrganismos por meio da verificação da síntese de ácido indol acético (AIA). Os ensaios foram realizados em duas etapas. A primeira etapa foi em condição de casa-de-vegetação, onde os isolados bacterianos foram avaliados quanto à habilidade de promover o crescimento de plantas de tomate. Avaliou-se parâmetros de crescimento aos 30 dias de cultivo, incluindo: altura das plantas, numero de folhas, comprimento de raiz, diâmetro do caule volume da raiz, massa seca e fresa de raiz e parte aérea , e o IVP(índice de vigor de planta). Obteve-se um efeito significativo das formulações a base de mandioca e araruta contendo os isolados B47 e B12: os tratamentos obtiveram um incremento positivos no crescimento das plantas, sendo semelhante e

superiores em alguns aspectos ao produto comercial Quartz<sup>®</sup>, e diferindo dos tratamentos controles. As duas linhagens de *Bacillus* utilizadas produziram AIA nos três períodos avaliados.

**Palavras-chave:** Rizobactérias; Formulações Bioativas; *Solanum lycopersicum.*; Estimulante de crescimento vegetal.

### **ABSTRACT**

The trend of modern agriculture is to conduct its management practices that allow a good productive performance even if the plants are subjected to adverse conditions. The objective of the present work was to test manihot (*Manihot esculenta* L.) and Araruta (*Maranta arundinacea* L.) powder as formulations in the propagation of *B. methylotrophicus* cells used to promote growth of tomato plants by isolates as well as to elucidate the mechanisms of action of these microorganisms through the verification of the synthesis of indole acetic acid (AIA). The tests were performed in two steps. The first stage was in a greenhouse condition, where the bacterial isolates were evaluated for the ability to promote the growth of tomato plants. Growth parameters were evaluated at 30 days of cultivation, including: plant height, leaf number, root length, stem diameter, root volume, dry mass and root and shoot shoots, and IVP of plant). A significant effect of the cassava and arrowroot formulations containing the B47 and B12 isolates was obtained: the treatments obtained a positive increase in the growth of the plants, being similar and superior in some respects to the commercial product Quartz and differing from the control treatments. The two *Bacillus* strains used produced EIA in the three evaluated periods

**Keywords:** Rhizobacteria; Bioactive Formulations; *Solanum lycopersicum.*; Plant Growth Stimulant.

## INTRODUÇÃO

A agricultura moderna tem enfrentado o grande desafio de aumentar a produção das culturas gerando sustentabilidade, baseando-se em enfoque que visa a proteção ambiental. Para atingir esse objetivo, uma das alternativas é a utilização de microrganismos promotores de crescimento. Na literatura, são descritas algumas bactérias que vivem associadas às plantas e têm a habilidade de promover o crescimento vegetal (1). Espécies do gênero *Bacillus* vêm sendo utilizados para este fim.

Conforme (2) cita que as bactérias possuem maior capacidade competitiva de colonizar que outros microrganismos do solo, sendo que a colonização inicia na semente, ou após a emissão da radícula e sua distribuição deve acompanhar o crescimento das raízes.

Bactérias do gênero *Bacillus* pertencem ao grupo de microrganismos conhecidos como rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, são organismos de vida livre que estimulam direta ou indiretamente processos metabólicos e fisiológicos vegetais.

Os efeitos na promoção de crescimento incluem aumentos na altura, na biomassa da parte aérea, do caule e da raiz e na formação de pelos radiculares e foliares da planta, na lignificação de vasos do xilema (3); (4).

Há várias maneiras pelas quais bactérias promotoras de crescimento vegetal podem afetar diretamente o crescimento da planta: através da fixação de nitrogênio atmosférico, da solubilização de minerais, tais como fósforo, produção de sideróforos (moléculas que solubilizam e sequestram ferro), ou pela produção de reguladores de crescimento vegetal (hormônios), que acentuam o crescimento vegetal em vários estágios de desenvolvimento. A promoção indireta de crescimento ocorre quando a PGPR diminui ou impede os efeitos deletérios de um ou mais organismos fitopatogênicos (5). Essa atuação conjunta na nutrição e no metabolismo resulta em aprimoramento das defesas naturais do hospedeiro.

O ácido indol acético é considerado o fitohormônio mais importante entre as auxinas (6). Segundo (7), ele funciona dentro das células dos vegetais, como uma importante molécula sinal, responsável, pela expansão das células, divisão e diferenciação, e regulação de genes, melhorando a arquitetura da raiz, estimulando o crescimento radicular e o número de pelos radiculares, conferindo à planta, melhor capacidade de absorção de nutrientes e água do solo.

O uso das PGPR, como agentes de promoção de crescimento e de aumento de rendimento será, provavelmente, uma das táticas para alta produtividade de maior importância para esse século.

Vários estudos tem demonstrado que espécies de *Bacillus* spp. são promissoras na promoção de crescimento vegetal caracterizando uma medida alternativa, buscando o desenvolvimento sustentável dentro dos princípios agroecológicos proporcionando uma significativa redução dos impactos ambientais que os agroquímicos vêm causando ao longo dos anos.

Com isso o presente trabalho visou avaliar a viabilidade de formulações de pó de mandioca e araruta à base de *Bacillus methylotrophicus* na promoção de crescimento de plantas de tomate e a capacidade da mesma na produção de ácido indol acético.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Localização do Experimento e Obtenção dos Isolados**

Os ensaios foram realizados no Laboratório de, e em Casa de vegetação do Núcleo de Biotecnologia, localizados na Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, campus Paulo VI em São Luís, MA, cujas coordenadas são 2° 59' 19" S, 44° 21' 20" W, no período de 20 de novembro/2018 à 21 de dezembro/2018) . Os isolados de *Bacillus methylotrophicus* foram obtidos da Coleção de Fitopatógenos “Prof. Gilson Soares da Silva”/UEMA, sob registros MGSS- 274 B (47), MGSS 276 (B12), conservados em óleo mineral.

### **Caracterização dos tratamentos e Cultivo das plantas**

Foram consideradas as seguintes fontes de variação: Suspensões de *Bacillus* B12 e B47 (SUS.B12 e SUS.B47), pó de mandioca + *Bacillus* B12 e B47 (MAND.B12 e MAND.B47), pó araruta + *Bacillus* B12 e B47 (ARA.B12 e ARA.B47), QUARTZ® (fungicida à base de *B. methylotrophicus*); além de tratamentos controle constituídos pela aplicação de pó de mandioca + H<sub>2</sub>O DD (MAN.CRT), pó de araruta + H<sub>2</sub>O DD (ARA.CRT), e H<sub>2</sub>O Destilada e Deionizada (CONTROLE)..

As sementes de tomate cv. Santa Cruz foram microbiolizadas com suspensão de *B. methylotrophicus* pela imersão das sementes nas suspensões líquidas e misturas nas formulações em pó na proporção de 20 g/kg de semente. As sementes foram semeadas e mantidas por 30 dias em copos de 1000 L de 7,9 cm de diâmetro superior contendo solo + esterco autoclavados na proporção 3:1, deixando-se uma planta por copo. O delineamento experimental para promoção de crescimento foi em blocos casualizado -DBC, consistindo de 10 tratamentos com quatro repetições de 15 plantas.

### **Avaliação das formulações como promotoras de crescimento vegetal**

A coleta de dados ocorreu inicialmente aos 14 dias após a semeadura, onde foi avaliada a percentagem de germinação, caracterizada como a porção de sementes germinadas

apresentando seus dois cotilédones visíveis acima do substrato. Aos 30 dias de cultivos as plantas foram coletadas e parâmetros de crescimento foram mensurados, incluindo:

a) *altura de planta*, expressa em cm, medida com régua milimetrada, a partir do coleto até a gema apical; b) *número de folhas*; c) *diâmetro do caule*, expresso em mm, medido na base do coleto, utilizando-se um paquímetro digital, com precisão de 0,01 mm; d) *comprimento da maior raiz*, expresso em cm, medida com régua milimetrada, a partir do coleto até a extremidade da maior raiz; e) *volume de raiz*, expresso em cm<sup>3</sup>, realizado por meio de medição do deslocamento da coluna de água em proveta graduada, ou seja, colocando-se as raízes, após lavagem, em proveta contendo um volume conhecido de água (100 mL) – pela diferença, obteve-se a resposta direta do volume de raízes, pela equivalência de unidades (1 mL = 1 cm<sup>3</sup>), segundo metodologia descrita por (8); f) *massa fresca e massa seca da parte aérea e da raiz*, expressa em grama, pesada em balança com precisão de 0,001g.

Para determinação da massa seca, o material vegetal foi conduzido à estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 65°C até atingir peso constante; g) *massa seca total*, expressa em gramas, obtida pela soma das massas secas da parte aérea e da raiz; h) *índice de vigor de plântulas (IVP)*, calculado usando a seguinte fórmula, descrita por (9): IVP = Comprimento de plântulas (cm) x percentual de germinação.

#### **Avaliação da produção de ácido indol-acético em formulações contendo *Bacillus methylophilus*.**

Para quantificar o ácido indol acético produzidas pelos isolados em meio de cultura NFB, alíquotas de 500 µL de solução de cada um dos isolados bacterianos ajustadas para DO 0,5 serão inoculadas para crescimento em 20 mL de meio por 0, 2 e 5 dias a 30°C. Após este período, 15 mL de cada uma das culturas homogeneizadas serão transferidas para tubos e centrifugadas. Do sobrenadante obtido, 3 mL serão vertidos em frascos, aos quais foram adicionados 2 mL de Reagente de Salkowski (1,0mL de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,5M em 50mL de HClO<sub>4</sub>35% ), (10). Os frascos contendo o sobrenadante e o Reagente de Salkowski foram mantidos por 30 minutos em ambiente escuro para desenvolvimento de cor, que se manifesta em cor rósea, mais intensa quando há maior quantidade de ácido indolacético. A intensidade da cor foi determinada em espectrofotômetro a 535 nm segundo (11). A concentração dos compostos indólicos foi estimada utilizando uma curva padrão previamente preparada com meio de cultura esterilizado não inoculado e quantidades conhecidas de ácido indol acético de 0, 10, 20, 40, 80 e 100 µg mL<sup>-1</sup> de acordo com a equação  $y = 23,0188x + 0,422$  ( $R^2 = 0,9565$ ). Para à análise da produção de ácido indol acético usou o delineamento inteiramente

casualizado com arranjo fatorial com 2 isolados x 3 tratamentos temporais (0=24h), (2=48) e (5=120h) x 5 repetições.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Teste de promoção do crescimento em plantas de tomate pela aplicação de formulações à base de *Bacillus methylotrophicus*.**

O efeito dos isolados *B. methylotrophicus* B47 e B12 na promoção de crescimento variou em função das variáveis avaliadas e formulações utilizadas (Tabela 1). Estes isolados foram estatisticamente superiores à testemunha, durante o ensaio de promoção de crescimento.

Observou-se, que a microbiolização das sementes para a veiculação dos isolados influenciaram na promoção de crescimento e nos estágios iniciais das plantas de tomate, destacando todos os atributos morfo-fisiológicos avaliados, como: (altura de plantas, número de folhas, comprimento de raiz, volume da raiz, diâmetro do caule, índice de vigor de plântulas, matéria seca de parte raiz e parte aérea e matéria seca total), estimulando maior crescimento em plantas de tomateiro.

A inoculação com bactérias promotoras de crescimento pode beneficiar as plantas no estágio vegetativo potencializando a emergência, vigor, altura, peso da planta, disponibilização de nutrientes e aumento na clorofila. (12).

Diversos autores (13) encontraram resultados promissores em sementes de tomates inoculadas com *B. subtilis* e *Thichoderma harzianum* com incremento significativo em todos os parâmetros de crescimento de plântulas. Comprimento da raiz, comprimento de parte aérea, área foliar, peso fresco dos brotos e raízes de 38,53 %, 32,04 %, 62,68 %, 28,87 % e 36,21 %, respectivamente, em comparação com as plântulas controle. Observa-se que todos os tratamentos contendo *B. methylotrophicus* obtiveram uma promoção de crescimento vegetal, em destaque à formulação MAND +B47 destacando-se dos demais tratamentos, onde todos os tratamentos contendo as rizobactérias, diferindo dos controles, indicando o grande potencial dos isolados.

Ao avaliar diâmetro de caule, a formulação + isolado bacteriano (MAND+B47) proporcionou efeito positivo, com cerca de 0,5 cm de diâmetro, comparado ao controle (0,2 cm) aos 30 dias de cultivo. No entanto o isolado de B12 variou conforme a formulação utilizada, diferenciando assim dos tratamentos com B.47, mais sendo superior que todas as testemunhas. (Figura 1A).

A altura das plantas de tomate e o comprimento radicular foram influenciados pela presença dos isolados *B. methylotrophicus* (B12 e B47) obtendo assim uma alteração significativa comparado aos tratamentos controles (Figura 1B).

Resultados encontrados por (14) corroboram com os resultados apresentados nesse trabalho, observando um maior crescimento da parte aérea de tomateiros tratado com *B. subtilis*.

Conforme (15) verificou em plantas de tomate tratadas com o isolado UFV-E13 crescimento maior em relação às plantas não tratadas com a bactéria endofítica. De forma semelhante, (16) observou que a altura de plantas de tomateiro foi afetada pela introdução de algumas bactérias endofíticas, sendo que *Acinetobacter johnsonii* e *Bacillus pumilus* promoveram a maior altura das plantas em 9,5 % e 20,2 %, respectivamente.

Contudo, os isolados dois isolados bacterianos foram mais responsivos para as variáveis comprimento e volume da raiz, sendo que atingiram em média 300 mm, equivalente a 30 % maior em relação ao controle, e matéria seca de raiz, destacando o efeito significativo dos isolados avaliados (Figura 1B e 1D). Todavia, as produções de matéria fresca da parte aérea e da raiz do tomate foram incrementadas pelos tratamentos com a utilização dos *B. methylotrophicus* (Fig 1F).

Ao se avaliar o comprimento total do dorsel e raiz verificou-se uma influência positiva dos tratamentos contendo os isolados B12 e B47 nas plantas de tomate, atingindo aos 30 dias um comprimento (dorsel) maior que 700mm (MAND + B47) sendo superior ao aos tratamentos controles que chegaram no máximo à 300mm.

Vários mecanismos estão envolvidos na promoção de crescimento das plantas por bactérias endofíticas. Estes, porém, podem ser divididos em diretos e indiretos. Quando o estímulo do crescimento das plantas é direto, o antagonista produz fitormônios ou substâncias análogas destes reguladores de crescimento capazes de estimular o desenvolvimento das plantas (17).

Com o estímulo ao crescimento radicular, a planta consegue aumentar sua capacidade de absorção, melhorando o aproveitamento dos nutrientes do solo, sua nutrição e diminuindo as perdas de nutrientes por lixiviação, como, por exemplo, no caso do nitrogênio, ou por adsorção, como no caso do fósforo.

Os resultados obtidos no nosso experimento vão de acordo com Pesquisa feita por (18) que utilizando rizobactérias através da microbiolização de sementes de tomateiro cultivada em solo estéril e conduzida nas condições de casa-de-vegetação, observaram um incremento de peso seco de 44,1% na parte aérea e 36,8% de raízes. Constatou-se um efeito significativo das

formulações a base de mandioca e araruta contendo os isolados B47 e B12: os tratamentos obtiveram um incremento positivos no crescimento das plantas, sendo semelhante e superior em alguns aspectos avaliados como numero de folhas (Figura 1E) ao produto comercial Quartz<sup>®</sup>. Ressaltando o potencial biológico dos isolados testados, bem como os efeitos positivos dos produtos e sua adaptabilidade destes quando armazenados em formulações de baixo custo econômico e ambiental.

Conciliados à excelente taxa de germinação para todas as sementes (superior a 95 %), o valor de IVP médio demonstra que todas as plantas tratadas com *B. methylotrophicus* tiveram rápido desenvolvimento vegetativo, sendo superiores aos tratamentos controle (Tukey,  $p < 0,05$ ) o que lhes conferem alta capacidade de sobrevivência, vigor e estabilidade de produção.

Os tratamentos contendo somente as formulações de pó de mandioca + isolado B47 apresentaram valores superiores aos demais tratamentos, já a araruta + a presença do isolado *B. methylotrophicus* apresentaram IVP menores que as formulações e isolados B47 e se diferenciando estatisticamente das testemunhas, que foram semelhantes estatisticamente entre si, apresentando os menores valores para todos os parâmetros de crescimento avaliados.

Os valores analisados de matéria seca corroboram com os de promoção de crescimento apresentados anteriormente (Figura 1B). Todos os tratamentos contendo *B. methylotrophicus* apresentaram valores significativos de massa seca de raiz, parte aérea e total, se comparados com os tratamentos controles.

Contudo sabe-se da importância de identificar isolados com potencial para induzir o desenvolvimento das raízes, uma vez que a expansão radicular favorece maior absorção de água e nutrientes, além de melhorar a eficiência do uso da água de plantas sob condição de estresse hídrico (19).

(20) Observaram que em ensaio conduzido com tomate cultivar Santa Clara, o tratamento com *Bacillus subtilis* influenciou o crescimento das plantas em variáveis como produção de biomassa da parte aérea, quando comparado com a testemunha, o mesmo foi observado neste trabalho.

Os tratamentos com a inoculação dos isolados B47 e B12 foram os que apresentaram resultados mais promissores na promoção de crescimento de plantas de tomate, aumentando e acelerando a germinação, obtendo um acumulo total de biomassa expressivo dessas plantas em casa de vegetação, entretanto isso significa um avanço na busca de tecnologias para formulações bioativas.

Também obtiveram resultados semelhantes (21), com os isolados de *B. subtilis* e *Pseudomonas* sp., que constataram que melhorou a porcentagem da emergência de plântulas de tomate.

De maneira geral, os maiores incrementos foram proporcionados pela formulação + *B. methylotrophicus* B47, cujos aumentos na altura das plantas, número de folhas, diâmetro do caule, peso de matéria fresca e seca, e volume radicular foram superiores a todos os demais tratamentos, assim se apresentou como melhor meio de veiculação e conservação para a promoção de crescimento de plantas de tomateiro.

Esse trabalho aponta a possibilidade dos agricultores menos capitalizados utilizarem a prática da inoculação com rizobactérias para a produção de tomates, aumentando, assim, a sua biomassa e seu crescimento, com mais independência em relação à aquisição de fertilizantes minerais. Entretanto, novos trabalhos devem ser realizados com variedades de plantas de tomateiro em condições de diferentes níveis de fertilidade de solo e associados com fertilizantes orgânicos.

#### **Avaliação da produção de ácido indol-acético em formulações contendo *Bacillus methylotrophicus*.**

Os dois isolados avaliados ambos apresentaram produção superior à 18.20 a  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de AIA, sendo que o isolado B 47 apresentou em todos os dias avaliados valores superiores aos dos isolados B12 (Figura 2A). O isolado B47 se destacou pela maior produção de ácido indol acético, apresentando quantidades superiores à 18,23  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , seguido do isolado, B12, que produziu seu pico máximo respectivamente, 18,10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Quanto à produção de AIA pelos isolados, estes reagiram com a solução de Salkowisk apresentando coloração rosada após 30 minutos no escuro confirmando assim a produção de AIA (Figura 2A).

A leitura em espectrofotômetro com onda de 530 nm estimou a quantidade de AIA produzida pelas bactérias quando comparado à curva padrão, ajustados de acordo com a equação:  $y = 23,0188x + 0,422$  ( $R^2 = 0,9565$ ).

Ao comparar a produção de AIA com a promoção de crescimento pelos isolados, nota-se que os isolados bacterianos B47 e B12 apresentaram resultados satisfatórios com característica de promoção de crescimento.

O isolado B47, que mais produziu o fitormônio (18.40  $\mu\text{gmL}$ ), implicou positivamente no desenvolvimento das plantas, para a variável diâmetro de colo, número de folhas, comprimento e volume da raiz e matéria fresca e seca da parte aérea e raiz. Enquanto que o isolado B12, embora tenha tido uma diferença estatística do isolado B47 na produção de AIA (7  $\mu\text{M}$ ), incrementou vários aspectos analisados, diferindo dos tratamentos controles.

Resultados promissores obtidos por meio da inoculação com bactérias produtoras de AIA foram observados em mudas de tomate (22).

Os dois isolados analisados (B47 e B12) proporcionaram maior crescimento de raiz, produziram entre 18.00 e 18.40  $\mu\text{g/mL}$  de AIA. O efeito da inoculação com PGPR no desenvolvimento de raízes é decorrente do aumento da superfície radicular, ou seja, as raízes laterais e pelos radiculares aumentam, todavia ocorre um alongamento da raiz principal (23).

(24) Verificou que espécies de *Bacillus* contribuem para melhoria de diferentes parâmetros de raiz (enraizamento, comprimento de raízes e teor de matéria seca), sendo que a inoculação com isolados produtores de AIA, aumentou a absorção de N, P, K, Ca e Mg, promovendo o crescimento de batata doce, e o enraizamento e matéria seca de mudas de eucalipto, parâmetros semelhantes observados nas nossas avaliações.

Além disso, o efeito positivo no desenvolvimento de plantas pelo isolado que sintetizaram maiores quantidades de AIA pode ser decorrente de um equilíbrio hormonal que alguns microrganismos produtores de auxinas causam, uma vez que a resposta fisiológica de hormônios vegetais é alcançada em certas concentrações (25); (26).

Porém, não existe uma faixa de concentração benéfica ou tóxica comum a todas as espécies vegetais. Desta forma, as concentrações de AIA sintetizadas foram bastante variáveis entre as estirpes avaliadas, o que pode beneficiar culturas com diferentes exigências.

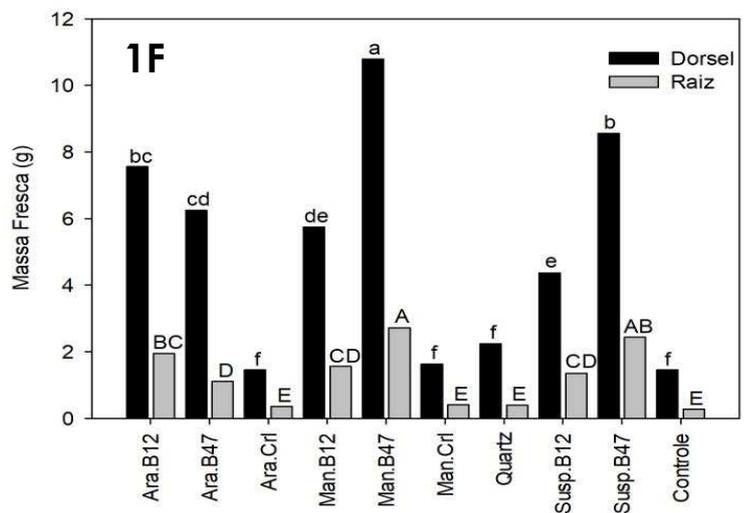
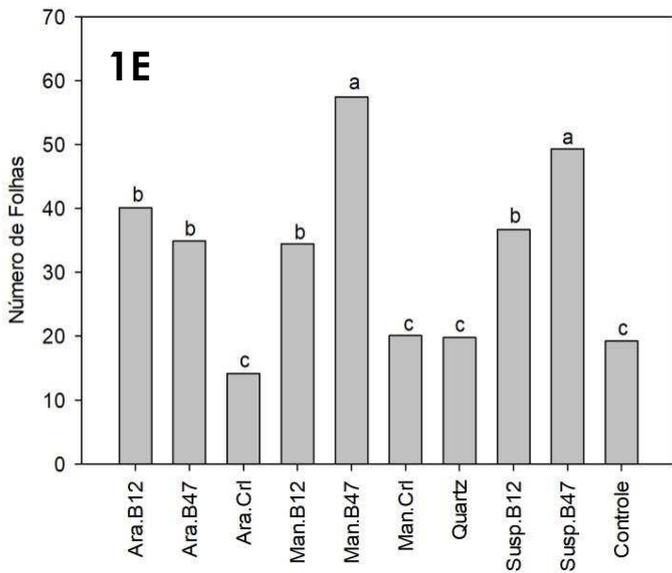
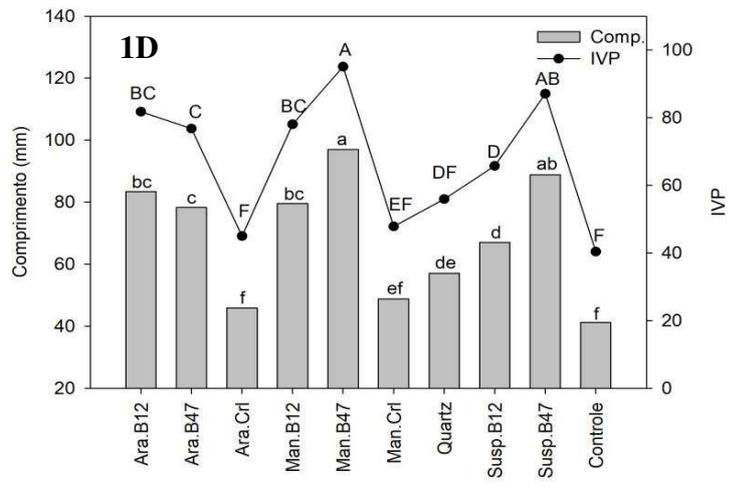
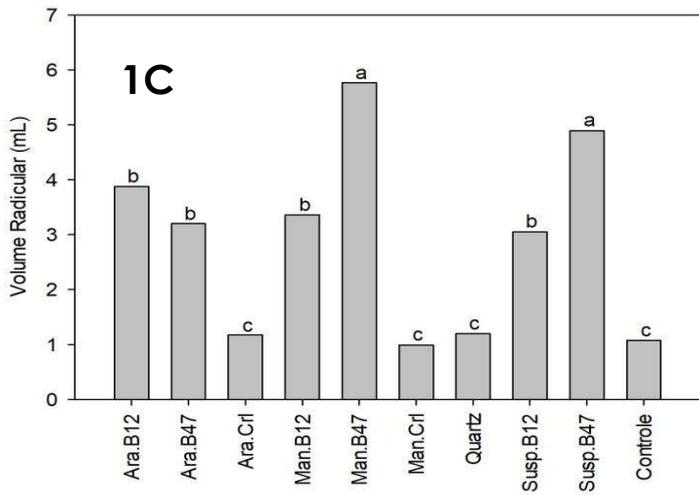
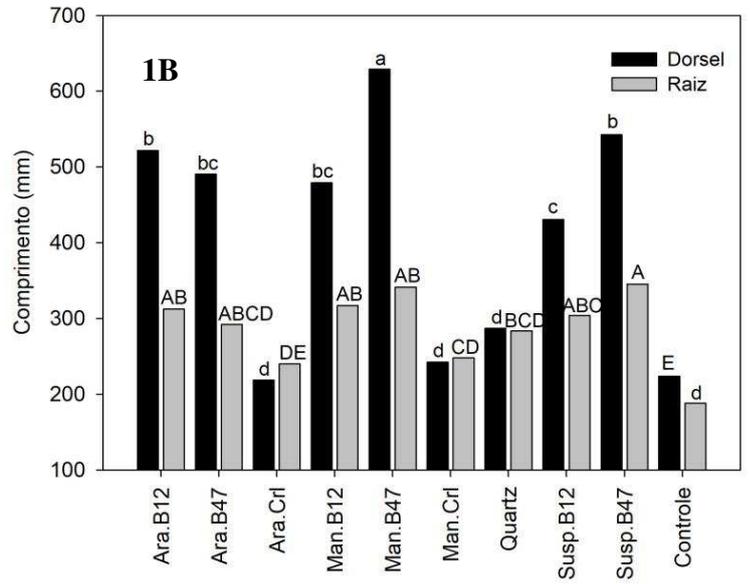
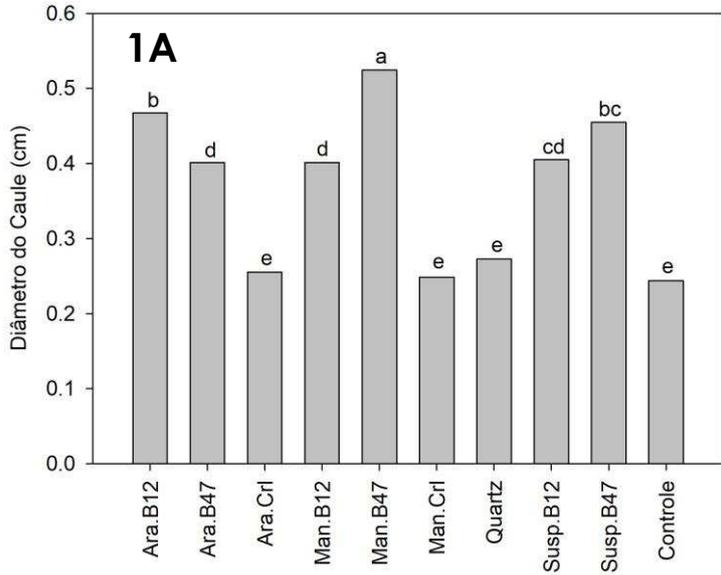
Neste trabalho, foi verificada uma relação direta entre o crescimento de plantas e a síntese de AIA. Sabendo-se que as PGPR possuem diversos mecanismos que promovem o crescimento vegetal, os quais podem agir individualmente ou em sinergia (27), ou seja, alguns mecanismos não respondem de forma independente (28).

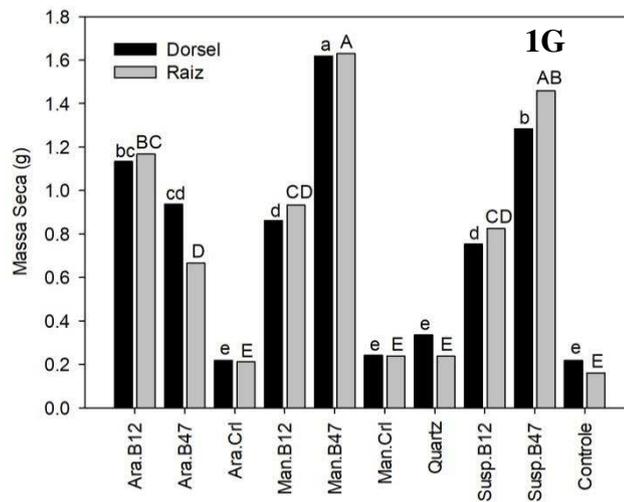
Assim, o sucesso desses isolados pode ser devido ao seu meio de veiculação utilizados, juntos com as formulações em pó. Desse modo, para compreender melhor a ação desses microrganismos no crescimento do tomateiro é necessário abranger os estudos, avaliando outros mecanismos que envolvem o crescimento de plantas por ação microbiana. Os dois isolados bacterianos B47 e B12 são promissores, apresentando desempenho positivo para a maioria das variáveis avaliadas.

Os valores de AIA obtidos estão de acordo com os encontrados em outros estudos, nos quais, observaram-se também alta variabilidade na capacidade de produzir este fitormônio por espécies de *Bacillus* (29); (30).

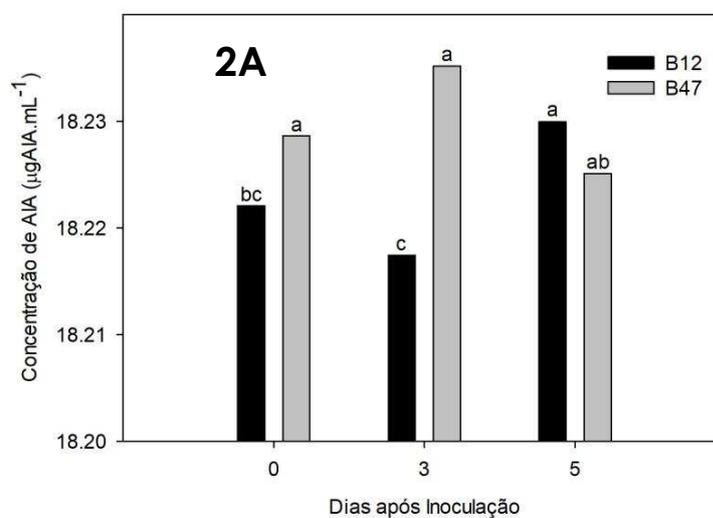
De acordo com (31), vários fatores, como concentração de triptofano, pH e fontes de nutrientes, podem interferir tanto na capacidade de síntese, como na quantidade de AIA produzido em meio de cultura. Assim, é importante a utilização de meios de cultura com

diferentes composições para se obter informações mais concretas sobre a capacidade de síntese do AIA.





**Figura 1.** Efeito das formulações de *Bacillus methylotrophicus* sobre o desenvolvimento das plântulas de tomateiro com base nas variáveis: diâmetro de colo (A), Comprimento radicular e dorsel (B), volume da raiz, (C), comprimento total (D) número de folhas (E), matéria fresca raiz e dorsel (F) e matéria seca de raiz e dorsel (G). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.



**Figura 2:** Concentração de AIA pelos isolados de *Bacillus methylotrophicus* B12 E B47, a 520 nm.

### Agradecimentos

À Deus, À UEMA, Cnpq e Programa de Pós-Graduação em Agroecologia e FAPEMA.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (9) ABDUL-BAKI, A. A.; A, J. D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria 1. **Crop science**, v. 13, n. 6, p. 630-633, 1973.
- (2) ANDREWS, J. H. Biological control in the phyllosphere. **Annual review of phytopathology**, v. 30, n. 1, p. 603-635, 1992.
- (20) ARAÚJO, F. F.; C, M. H. M. Growth of tomato after treatment of plants with *Bacillus subtilis* and carbofuran. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 59-64, 2009.
- (14) ARAUJO, F.F; et al. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.21, p.1639-1645, 2005. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/y8n378648625737w/>>. doi: 10.1007/s11274-005-3621-x.
- (11) ARSHAD, M., & F, W. T. Jr. (2002). Ethylene: **Agricultural sources and applications**. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- (29) BALDOTTO, L.E.B., M.A.. O, A.P. V. e R. Bressan-Smith. 2010. **Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar vitória duran-te a aclimatização**. Rev. Bras. Ciênc. Solo 34 (2), 349-360. Doi:10.1590/S0100-06832010000200008.
- (15) BARRETTI, P. B. **Isolamento e seleção de bactérias endofíticas com potencialidade para o biocontrole de enfermidades do tomateiro**. 2001. 38 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- (17) BASHAN, Y; H. Gina. Azospirillum–plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.

(8) BASSO, S. M. S. **Caracterização morfológica e fixação biológica de nitrogênio de espécies de Adesmia DC. E Lotus L.** 1999. 268 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

(30) CHAVES, V.A., S.G. Santos, N. Schultz, W. Pereira, J.S. Sousa, R.C. Monteiro e V.M. Reis. 2015. **Desenvolvimento inicial de duas variedades de Cana-de-Açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas.** Rev. Bras. Ciênc. Solo 39(6), 1595-1602. Doi: 10.1590/01000683rbc20151144.

(13) CHOWDAPPA, P. et al. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biological Control**, v. 65, n. 1, p. 109-117, 2013.

(1) COMPANT, S; C. C; S, Angela. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.

(5) GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian journal of microbiology**, v. 41, n. 2, p. 109-117, 1995.

(19) JAIN, S. et al. Plant growth-promoting bacteria elicited induced systemic resistance and tolerance in plants. In: **Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance**. Academic Press, 2014. p. 109-132.

(21) MAJI, S.; C, P.K. Biocontrol of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* by isolates of plant growth promoting rhizobacteria. **Australian Journal of Crop Science**, v. 8, n. 2, p. 208-214, 2014.

(18) MANTOVANELLO, C. M.; M, I. S. Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathologica**, v. 20, n. 2, p. 123-126, 1994.

(6) MARCHIORO, L. E. T. Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio. 2005.

- (31) PATIL, N. B. et al. Optimization of Indole 3-acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolated from Sugarcane. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 2, n. 1, p. 295, 2011.
- (27) PII, Y. et al. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 4, p. 403-415, 2015.
- (3) PILLAY, V. K.; N, J. Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 354-361, 1997.
- (24) SAHARAN, B. S.; N, V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **Life Sci Med Res**, v. 21, n. 1, p. 30, 2011.
- (10) SARWAR, M.; K, R. J. Enhanced suppression of plant growth through production of L-tryptophan derived compounds by deleterious rhizobacteria. **Plant and Soil**, v.172, p.261-269, 1995.
- (16) SILVA, J. R. C. **Bactérias endofíticas no controle da mancha (*Xanthomonas vesicatoria*) e da pinta bacterianas do tomateiro**. 2004. 160 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- (23)(26)(28) SPAEPEN S; V J. 2011. Auxin and Plant-Microbe Interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*.
- (4) STURZ, A. V. The role of endophytic bacteria during seed piece decay and potato tuberization. **Plant and Soil**, v. 175, n. 2, p. 257-263, 1995.
- (22) SZILAGYI-ZECCHIN, V. 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.
- (25) TAIZ, L. e. Zeiger. 2004. Fisiologia vegetal. 3. ed. Artmed, Porto Alegre, Brasil.

(7) YANG, Jungwook; KLOEPPER, Joseph W.; RYU, Choong-Min. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in plant science**, v. 14, n. 1, p. 1-4, 2009.

## **NORMAS PARA PUBLICAÇÃO**



## MODALIDADES DE PUBLICAÇÃO

**Todos os trabalhos deverão ser enviados através da plataforma de submissão on-line de trabalhos SciELO (link: <http://submission.scielo.br/index.php/sp/index>), no formato de word, com todos os nomes de autores e instituições, sem abreviações e no corpo do documento.**

**1. Artigos científicos:** trabalhos de pesquisa científica inédita e conclusiva. Poderão ser feitos em português, inglês ou espanhol. Deverá ter, no máximo, vinte páginas digitadas em word em espaço duplo. Não deverá ultrapassar trinta referências bibliográficas. O texto deverá conter os seguintes itens: Resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, agradecimentos e referências bibliográficas.

**2. Revisões:** texto sobre assunto específico o qual enfoca novos conceitos, hipóteses, discussões ou que promova a integração da Fitopatologia com outras ciências, atendendo, preferencialmente, a solicitação da Comissão Editorial. Deverá ter no máximo vinte páginas digitadas em espaço duplo e não ultrapassar sessenta referências. O texto deverá conter os seguintes itens: Resumo, abstract, texto e referências bibliográficas.

**3. Notas científicas:** trabalhos de pesquisa científica inédita, que seja recente e de interesse para uma rápida divulgação. Deverá ter no máximo seis páginas digitadas em espaço duplo, uma tabela e uma figura. Não deverá ultrapassar dez referências bibliográficas. O texto deverá conter os seguintes itens: Resumo, abstract, texto, agradecimentos e referências bibliográficas.

**4. Notas técnicas:** técnicas novas, produtos e patentes. Deverá apresentar resumo, abstract, texto sem divisão de tópicos, referências bibliográficas. Deverá ter no máximo seis páginas digitadas em espaço duplo, uma tabela e uma figura. Não deverá ultrapassar dez referências bibliográficas. Resumo, abstract, texto, agradecimentos e referências bibliográficas.

**5. Comunicações:** a) constatação de uma nova doença ou de novo patógeno. Caso trate da primeira detecção no país, deve constar o parecer técnico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, autorizando a divulgação. b) resultados dos testes de controle de doenças (químico ou biológico) desde que não efetuados “in vitro”. Sem resumo, abstract ou divisão em tópicos, contendo no máximo duas páginas, digitados e uma figura ou tabela, com citação bibliográfica inseridas no corpo do texto entre parênteses.

**6. Serviços:** a) divulgação de notícias, que tenham interesse para os fitopatologistas; b) resenha de livros; c) abstracts de teses e dissertações defendidas por sócios da APF; d) notícias dos congressos e resoluções das assembleias.

**7. Cartas ao editor:** documento encaminhado para publicação, sobre tema de relevância para apresentar sugestões ou incitar discussões. Podem ser publicadas a réplica e a tréplica.

### **TRAMITAÇÃO DO MANUSCRITO**

**Em todas as modalidades**, o trabalho deverá conter o nome completo dos autores, sem abreviação, bem como referência de instituição pertencente. Um dos autores deverá ser nomeado para se responsabilizar pelas correspondências e troca de informações com a Comissão Editorial (**CE**) e Conselho Editorial (**CO**), cujo nome e endereço completo da instituição constarão no cabeçalho do trabalho publicado.

No caso de algum dos autores pertencerem, à Associação Paulista de Fitopatologia (**APF**), e não estarem quite com a anuidade deverá ser recolhido uma taxa correspondente a cento e cinquenta reais (R\$ 150,00), para a tramitação do manuscrito, o pagamento da Submissão do trabalho poderá ser realizado através de depósito no Banco Santander, agência N°0039, C/C 13.003351-4 em nome da Associação Paulista de Fitopatologia CNPJ- 047.934.211/0001-65 e enviar o comprovante para o e-mail [summa@fca.unesp.br](mailto:summa@fca.unesp.br).

Os artigos para publicação poderão ser submetidos à Comissão Editorial da *Summa Phytopathologica* (**SP**), de forma eletrônica, através da plataforma de envios on-line do SciELO, juntamente com uma declaração de exclusividade do trabalho à **SP** e a anuência de todos os autores. Após o recebimento e exame do manuscrito, pela **CE**, quanto à adequação do tema ao periódico, às normas propostas e inovação, também receberá um número de controle interno do SciELO, e que será o número do trabalho também usado para controle de indexação no DOI.

Os autores serão notificados através do sistema sobre a aceitação ou da necessidade de readequação do texto, ou mesmo de alterações na modalidade de publicação, para nova submissão. Após o aceite para tramitação, cópias do trabalho apócrifas, ou seja, com os nomes dos autores e suas instituições ocultadas, serão encaminhadas para até três assessores *ad hoc* (**AH**), especialistas da área, previamente selecionados pela Comissão Editorial (**CE**) e Conselho Editorial (**CO**). Estes **AHs** preencherão uma ficha de avaliação, encaminhada junto com o trabalho, aceitando ou negando a publicação e fazendo sugestões para a melhoria do texto quanto a forma, estrutura, atualização metodológica e bibliográfica, enviando tudo para a **CE** e **CO**, com o prazo de até 30 dias. Após o recebimento dos três pareceres e o trabalho ter sido aceito, por pelo menos dois assessores, uma das cópias será submetida à correção do “abstract” e adequação às normas de citação bibliográfica. Após todas as correções, o autor receberá esse material e os pareceres dos assessores, também sem o nome dos mesmos, - para conhecimento e tomada de providências na readequação do texto e novo encaminhamento.

Este deverá ser feito no prazo de 10 dias, e devolvido à Comissão Editorial (CE) e Comissão Editorial (CO), que após averiguação quanto às correções, propostas pelos assessores, e análise das justificativas dos autores, encaminharão o trabalho para as revisões bibliográficas e de idioma, caso o trabalho seja em idiomas estrangeiros, editoração e o mesmo será considerado aceito para publicação. Caso contrário o trabalho será devolvido, mais uma vez, aos autores para as devidas correções.

No caso de haver conflitos de interesse, os autores devem se manifestar por carta, através do autor responsável pela correspondência, a qual será analisada pela Comissão Editorial (CE) e se necessário submetida ao Conselho Editorial (CO).

### **PROVA TIPOGRÁFICA**

Após a editoração e primeira impressão, uma cópia do trabalho será encaminhada aos autores, para a prova tipográfica, ou revisão do texto, que assinalarão as correções em tinta vermelha e devolverão em no máximo cinco dias úteis à Comissão Editorial (CE). No caso de ultrapassar este prazo, o trabalho será arquivado para ser publicado em números posteriores do periódico. (Tal encaminhamento deverá ser feito eletronicamente através do e-mail do autor para correspondência, que será informado de sua publicação e estará a disposição e auxílio para ajustes de correção do texto).

### **NORMAS DE REDAÇÃO**

Todos os trabalhos deverão ser digitados em Microsoft Word em folha tamanho A4 (210 x 297 mm), espaço duplo, com margens de 3 cm, numerando-se as linhas e páginas. As letras devem seguir padrão “Times New Roman” tamanho 12, Não deverão ter espaços extras entre parágrafos, cabeçalhos ou qualquer formatação especial. O trabalho deverá conter o nome completo dos autores, sem abreviação, bem como referência de instituição.

No abstract deverá constar o título em inglês ou quando o idioma for a inglês e espanhol o título do trabalho traduzido em português nos resumos.

Ao final do resumo e do abstract deverão conter, no idioma correspondente, palavras chaves adicionais (não mais que cinco e diferentes do título).

Tabelas, figuras, desenhos, fotografias e gráficos, deverão ser apresentados separadamente no final do manuscrito. O local de inserção no texto deverá conter a chamada: Inserir Figura 1; inserir Tabela 1, etc.

O título de identificação da tabela constará na parte superior e o da figura na parte inferior, ambos ocupando toda a largura das mesmas. As palavras Figura e Tabela, conjuntamente com o número correspondente devem ser escritas em negrito. As notações (números, letras e

símbolos) constantes nas tabelas e figuras, deverão ter tamanho não inferior a 10. As figuras, na forma de gráficos, deverão ter fundo branco e com bordas.

Fotos e montagens fotográficas deverão ser fornecidas em papel brilhante no tamanho A4 (210 x 297 mm), ou digitalmente em JPEG, 300 dpi.

As citações bibliográficas no corpo do texto deverão ser:

a) expressas na forma numérica. Uma vez os autores fazendo parte de contexto da frase devem ser grafados com somente as iniciais em maiúsculas, seguindo-se o número da citação entre parênteses. **Exemplo:** Figueiredo (6).

b) quando o trabalho tiver mais de dois autores citar o primeiro seguido de et al.; quando forem dois autores utilizar o & (e comercial). **Exemplo:** Figueiredo & Coutinho (7).

c) comunicação pessoal deve constar como nota de rodapé, contendo dados sobre o informante e a data (mês e ano) da informação.

d) quando tiver mais de uma citação, colocar no texto em ordem numérica crescente (6, 7, 18).

e) na numeração da citação não utilizar zero antes da unidade.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

As referências bibliográficas no fim do texto deverão ser apresentadas em ordem alfabética e numeradas, mantendo-se os negritos e itálicos, quando necessários nos seguintes formatos:

### **ARTIGO DE PERIÓDICO**

FORMATO: Autor(es). Título do artigo. **Título do periódico**, cidade, volume, número, paginação inicial-final, ano.

#### **Exemplos:**

1. Costa, A.S. História da fitopatologia no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Campinas, v.1, n.3, p.155-163, 1975.

2. Leite, R.M.V.B.C.; Amorim, L. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.28, n.1, p.14-19, 2002.

3. Micheref, S.J.; Mariano, R.L.R.; Padovan, I.; Menezes, M. Observações ultraestruturais das interações entre *Colletotrichum graminicola* e agentes biocontroladores no filoplano de sorgo. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.19, n.2, p.99-101, 1993.

### **ARTIGO DE PERIÓDICO EM MEIO ELETRÔNICO**

FORMATO: Autor(es). Título do artigo. **Título do periódico**, cidade, volume, número, paginação inicial-final, data. Disponível em: <http: endereço eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado). ano.

### **Exemplos:**

1. Lamari, L. **Assess:** Image analysis software for plant disease quantification. St. Paul: APS Press, 2002. 1CD-ROM.
2. São Paulo. (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: **Entendendo o meio ambiente**. São Paulo, 1999. v.1 Disponível em: <<http://www.dbt.org.br/sma/entendendo/atual.htm>>. Acesso em: 8 mar. 1999.

### **LIVRO**

FORMATO: Autor(es). **Título:** sub-título. Edição. Local de publicação: Editora, ano de publicação. nº do volume e/ou total de páginas (nota de série). **Exemplos:**

1. Kimati, H.; Gimenes-Fernandes, N.; Soave, J.; Kurozawa, C.; Brignani Neto, F.; Bettioli, W. **Guia de fungicidas agrícolas:** recomendações por cultura. 2.ed. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997. v.1, 224p.
2. Lucas, J.A. **Plant pathology and plant pathogens**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 1998. 274p.

### **CAPÍTULO DE LIVRO**

FORMATO: Autor(es) do capítulo. Título do capítulo ou parte referenciada. In: Autor ou Editor. **Título da publicação no todo**. Edição. Local de publicação: Editora, ano de publicação. volume, nº do capítulo e/ou página inicial-final da parte referenciada.

### **Exemplo:**

1. Reis, E.M.; Casa, R.T. Cereais de inverno. In: Vale, F.X.R.; Zambolim, L. **Controle de doenças de plantas:** grandes culturas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. v.1, cap.5, p.231-287.

### **LIVRO EM MEIO ELETRÔNICO**

FORMATO: Autor(es). **Título:** subtítulo. Edição. Local de publicação: Editora, ano de publicação. nº do volume e/ou total de páginas. (nota de série). Número de CD-ROM.

### **Exemplo:**

1. Lamari, L. **Assess:** Image analysis software for plant disease quantification. St. Paul: APS Press, 2002. 1 CD-ROM.

FORMATO: Autor(es). **Título:** subtítulo. Edição. Local de publicação: Editora, ano de publicação. nº do volume e/ou total de páginas. (nota de série). Disponível em:<endereço eletrônico>. Acesso em: dia. mês abreviado. Ano.

### **Exemplo:**

2. São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. **Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente**. São Paulo, 1999. v. 1: Entendendo o meio ambiente. Disponível em: <<http://www.bdt.fat.org.br/sma/entendendo/indic1>>. Acesso em: 26 abr. 2006.

## DISSERTAÇÃO E TESE

FORMATO: Autor. **Título**. Data. Número de folhas ou volumes. Categoria da Tese (Grau e Área de Concentração) – Nome da Faculdade, Universidade, cidade.

### Exemplo:

1. Izioka, E.E.K. **Caracterização morfológica, patogênica e molecular de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc., agente causal da podridão floral do citros**. 1995. 138f. Tese (Doutorado em Genética) – Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

## PARTE DE EVENTOS EM ANAIS

FORMATO: Autor(es) do trabalho. Título do trabalho. In: Nome do evento, número., ano, cidade de realização. **Título**. Cidade de publicação: Editora, ano. página inicial-final do trabalho.

### Exemplo:

1. Melo, I.S. de. Controle biológico de doenças de raiz. In: Reunião sobre controle biológico de doenças de plantas, 1., 1986, Piracicaba. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.7-12.

## PARTE DE EVENTOS EM MEIO ELETRÔNICO

FORMATO: Autor. Título do trabalho. In: Nome do evento, número do evento, ano, cidade de realização. Título. Cidade de publicação: Editora, ano. número de CDs.

### Exemplo:

1. Jerba, V.F.; Rodella, R.A.; Furtado, E.L. Análise pré-infeccional do desenvolvimento de *Glomerella cingulata* na superfície foliar de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). In: Reunion Latinoamericana de Fisiologia Vegetal, 11., 2002, Punta del Este. Actas. Córdoba: Ediciones del Copista, 2002. 1 CD-ROM.

## PARTE DE EVENTO EM PERIÓDICO

FORMATO: Autor(es). Título do artigo. **Título do periódico**, cidade, volume, número, paginação inicial-final, ano. (Resumo). **Exemplo:**

1. Kitajima, E.W.; Coletta Filho, H.D.; Machado, M.A.; Novas, Q.S. Escaldadura das folhas em *Hibiscos schizopetalus* associada à infecção por *Xylella fastidiosa* em Brasília, DF. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, supl., p.323-323, 2000. (Resumo).

## ABSTRACTS

FORMATO: Autor(es) do artigo. Título do artigo. **Título do Periódico**, cidade, volume, número do fascículo, página inicial-final do artigo, ano. In: **Título do Abstract**, cidade, volume, número, ano. (Abstract número de referência).

**Exemplo:**

1. Katis, N.; Gibson, R.W. Transmission of potato virus y by cereal aphids. **Potato Research**, Wageningen, v.28, n.1, p.65-70, 1985. In: **Review of Plant Pathology**, London, v.65, n.8, p.445, 1986. (Abstract 4038).

**DESCRITORES**

Nos nomes científicos utilizar a nomenclatura binomial latina, com o nome genérico e específico por extenso. Acrescentar a autoridade, ou descritor, na primeira vez que for feita a citação no corpo do trabalho. Nas vezes subseqüentes em que for escrito no texto, poderá fazê-lo na forma abreviada para o gênero. **Exemplo:** *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., na primeira vez e *C. gloeosporioides*, nas subseqüentes.

Os *Vírus* devem ser designados pelo nome das respectivas espécies (normas do ICTV) em inglês, itálico e primeira letra maiúscula para espécies reconhecidas pelo ICTV, seguido das siglas. Nas vezes subseqüentes usar apenas a sigla correspondente. **Exemplo:** *Cucumber mosaic virus*, CMV.

**ABREVIACÕES**

Peso molecular expresso em Daltons (Da) ou Kilo Dalton (KDa). Sistema métrico: usar L (litro), mL (mililitro),  $\mu$ L (microlitro), não usar ppm (parte por milhão) e  $\mu$ g/mL, não usar ton. (toneladas) e sim megagramas.

Unidades de tempo: segundos (s), minutos (min) e horas (h).

Unidades de temperatura expressos em graus Celsius. **Exemplo:** 25 °C.

Produtos químicos: utilizar nomes técnicos (princípio ativo) com iniciais minúsculas.

**CASOS OMISSOS**

Orientações não previstas nestas normas serão dadas pela Comissão Editorial (CE), após ouvido o Conselho Editorial (COE) e assessores “ad-hoc”(AHs).