

SEÇÃO IV - FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS

AUMENTO DA EFICIÊNCIA NUTRICIONAL DE TOMATEIROS INOCULADOS COM BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO⁽¹⁾

Patrícia Baston Barretti⁽²⁾, Ricardo Magela de Souza⁽³⁾, Adélia Aziz
Alexandre Pozza⁽⁴⁾, Edson Ampélio Pozza⁽³⁾, Janice Guedes de
Carvalho⁽⁵⁾ & Jorge Teodoro de Souza⁽⁶⁾

RESUMO

Bactérias endofíticas promotoras de crescimento podem aumentar a eficiência nutricional das plantas, favorecendo sua produção. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de 10 isolados de bactérias endofíticas, previamente selecionados como agentes promotores do crescimento de plantas, sobre a eficiência de absorção, utilização e translocação de nutrientes em plantas de tomateiros em casa de vegetação. Para a introdução das bactérias endofíticas em plântulas de tomateiro cv. Santa Clara, utilizou-se o corte do hipocótilo. Cinquenta e cinco dias após o transplante das seções de parte aérea, as plantas foram coletadas para a determinação da matéria seca da parte aérea e dos teores de macro e micronutrientes. Os teores de N, P, K, Ca, Mg, Cu e Zn na parte aérea e os de N, P, Mg e Mn nas raízes das plantas inoculadas diferiram da testemunha sem inoculação. As bactérias endofíticas *Micrococcus* sp. (UFLA 11-LS) e *Brevundimonas* sp. (UFV-E49), identificadas por meio do seqüenciamento do gene 16S do DNA ribossômico, propiciaram a maior eficiência de absorção de P em relação à testemunha. A bactéria endofítica *Micrococcus* sp. apresentou maior eficiência na utilização de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe e Zn. Os maiores teores de N, P, K, Mg e Zn foram encontrados na parte aérea das plantas inoculadas com *Brevundimonas* sp. Os resultados deste trabalho indicam que estes isolados de bactérias endofíticas podem aumentar a eficiência nutricional de plantas de tomate.

Termos de indexação: *Solanum lycopersicum*, endófitas, nutrição mineral, eficiência de absorção, eficiência de translocação, eficiência de utilização.

⁽¹⁾ Parte da Tese de Doutorado apresentada pela primeira autora à Universidade Federal de Lavras – UFLA. Recebido para publicação em janeiro de 2007 e aprovado em maio de 2008.

⁽²⁾ Pós-Doutorado PRODOC/DCR, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - CCAAB/UFRB, CEP 44380-000 Cruz das Almas (BA). Bolsista FAPESB. E-mail: patriciabaston@hotmail.com

⁽³⁾ Professores Associados, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras – DFP/UFLA. Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras (MG). E-mails: rmagelas@ufla.br; eapozza@ufla.br

⁽⁴⁾ Pós-Doutorado, Departamento de Ciência do Solo, DCS/UFLA. Bolsista PDJ CNPq. E-mail: alana@ufla.br

⁽⁵⁾ Professora Titular, Departamento de Ciência do Solo DCS/UFLA. E-mail: jgcarvalho@ufla.br

⁽⁶⁾ Professor Adjunto, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – CCAAB/UFRB. CEP 44380-000 Cruz das Almas (BA). E-mail: jorgetdes@yahoo.com.br

SUMMARY: INCREASED NUTRITIONAL EFFICIENCY OF TOMATO PLANTS INOCULATED WITH GROWTH-PROMOTING ENDOPHYTIC BACTERIA

*Plant growth-promoting endophytic bacteria can increase plant nutritional efficiency thus favouring its yield. With the purpose of evaluating the influence of 10 previously selected isolates of growth-promoting endophytic bacteria on the uptake, utilization and transport of nutrients by tomato plants, greenhouse experiments were installed. The hypocotyl was cut in order to apply the endophytic bacteria to tomato seedlings cultivar Santa Clara. Fifty five days after transplanting the upper portion of the cut seedlings, the plants were collected to determine the dry matter of the aerial parts and concentration of macro and micro nutrients. The concentration of N, P, K, Ca, Mg, Cu and Zn in the shoot and N, P, Mg and Mn in roots of inoculated plants differed from non-inoculated controls. Endophytic bacteria *Micrococcus* sp. (UFLA 11-LS) and *Brevundimonas* sp. (UFV-E49) were identified by sequencing of the 16S ribosomal DNA. The P uptake in plants inoculated with these isolates was higher than in the non-inoculated controls. Plants treated with the first isolate were more efficient in the use of N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, and Zn. The highest concentration of N, P, K, Mg, and Zn were found in the shoot of plants inoculated with *Brevundimonas* sp. The results of this study indicate that these endophytic bacteria isolates may be employed to increase the nutritional efficiency of tomato plants.*

Index terms: Solanum lycopersicum, endophytes, mineral nutrition, absorption efficiency, translocation efficiency, use efficiency.

INTRODUÇÃO

Os mecanismos envolvidos na promoção do crescimento de plantas por bactérias endofíticas podem ser divididos em diretos e indiretos. Quando o estímulo do crescimento das plantas é direto, o microrganismo produz fitormônios ou substâncias análogas destes reguladores de crescimento capazes de estimular o crescimento e desenvolvimento da planta (Bashan & Holguin, 1997). Quando o efeito é indireto, o crescimento é estimulado pela redução da população de microrganismos deletérios ou patogênicos às plantas, ou seja, pelo controle biológico de fitopatógenos (Hallmann et al., 1997). Outro fator que contribui para o crescimento das plantas é a capacidade de algumas bactérias endofíticas de aumentar a absorção de nutrientes minerais e água e melhorar a disponibilização destes nutrientes (Hallmann et al., 1997; Lazarovits & Nowak, 1997). Como exemplo, cita-se o gênero *Azospirillum*, que, além de ser diazotrófico, isto é, capaz de fixar o N₂ atmosférico, também secreta fitormônios, principalmente auxinas, e promove o aumento da absorção de nutrientes e água, com conseqüente crescimento da planta (Schloter & Hartmann, 1998).

O conceito de eficiência na utilização de um nutriente inclui processos nos quais as plantas absorvem, translocam, acumulam e utilizam melhor esse nutriente para a produção de matéria seca ou grãos, em condições normais ou adversas (Martinez et al., 1993; Pozza, 2004). Vários mecanismos relacionados às características morfológicas e fisiológicas das plantas contribuem para o uso eficiente

de nutrientes, como sistema radicular extensivo, alta relação entre raízes e parte aérea, maior eficiência de absorção ou de utilização de nutrientes e capacidade de manter o metabolismo normal mesmo com baixo teor de nutrientes nos tecidos (Fageria & Baligar, 1993).

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é considerado a mais importante hortaliça produzida no Brasil, sendo utilizada na dieta alimentar como fonte de vitaminas e minerais. Entretanto, é também uma das plantas mais exigentes em termos nutricionais.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de 10 isolados de bactérias endofíticas, previamente selecionados como agentes promotores do crescimento de plantas, na eficiência de absorção, utilização e translocação de nutrientes em plantas de tomateiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem, cultivo e preservação dos isolados de bactérias endofíticas

Parte dos isolados de bactérias endofíticas foi obtida no Laboratório de Bacteriologia de Plantas e Controle Biológico da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e parte no Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Os isolados de bactérias endofíticas UFV-E17, UFV-E22, UFV-E25, UFV-E26, UFV-E27, UFV-E29, UFV-E49, UFLA 06-LS, UFLA 08-LS e UFLA 11-LS,

previamente selecionados como potenciais promotores de crescimento de plantas (Barretti et al., 2008), foram obtidos de plantas de tomateiro sadias provenientes de diferentes localidades dos municípios de Viçosa e Lavras, no Estado de Minas Gerais, e preservados em peptona-glicerol a -80 °C. Para o uso experimental, esses isolados foram transferidos para placas de Petri contendo meio 523 citado por Kado & Heskett (1970) e incubados a 28 °C em câmara de crescimento. Após 48 h, foram preparadas as suspensões bacterianas, adicionando-se água de torneira e homogeneizando-se com a alça de Drigalsky.

Introdução das bactérias endofíticas em plantas de tomateiro

Utilizou-se a técnica descrita por Kijima et al. (1995), na qual plântulas de tomateiro da cultivar Santa Clara, produzidas em bandejas de isopor que continham o substrato comercial (Plantmax®), foram seccionadas na região do hipocótilo quando apresentavam o segundo par de folhas definitivas. Logo depois, o sistema radicular foi descartado e o restante da planta foi imerso por 6 h em suspensão de células de cada bactéria endofítica ajustada ao espectrofotômetro para $A_{540} = 0,2$ (aproximadamente 10^9 ufc mL⁻¹). As secções de parte aérea foram plantadas em vasos com capacidade para 3 kg de substrato, contendo a mistura na proporção 2:1:1 de solo (retirado do subsolo de um Latossolo Vermelho distroférrico), areia e esterco curtido, previamente fumigada com brometo de metila, até o enraizamento. Utilizou-se o mesmo procedimento para as plantas-testemunha; no entanto, a parte aérea foi imersa em água destilada esterilizada. As plantas permaneceram em casa de vegetação por 55 dias.

O experimento foi instalado em blocos casualizados, com quatro blocos de duas parcelas. Cada parcela foi constituída pela média de duas plantas/vaso, sendo considerada uma repetição. Os tratamentos consistiram, portanto, de 10 isolados de bactérias endofíticas mais a testemunha não inoculada, totalizando 88 vasos (11 tratamentos x 4 blocos x 2 repetições) e 176 plantas de tomateiro.

Análise nutricional das plantas de tomateiro

A parte aérea e as raízes das plantas de tomateiro foram cuidadosamente lavadas em água corrente e em água destilada, acondicionadas separadamente em sacos de papel e secas em estufa (70 °C) até atingirem peso constante. Em seguida, procedeu-se à pesagem e à moagem do material, tanto da parte aérea quanto das raízes, separadamente. Os teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn foram determinados segundo método descrito por Malavolta et al. (1997).

O teor de N foi determinado pelo método Kjeldahl. As amostras foram submetidas à digestão nitroperclórica em bloco digestor, para determinar os teores de macro e micronutrientes. Nesse extrato, os

teores de Ca, Mg, Cu, Fe e Zn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, o de K, por fotometria de chama, e o de S, por turbidimetria.

Para o estudo da eficiência nutricional dos isolados endofíticos, as eficiências de absorção, translocação e utilização dos macro e micronutrientes foram calculadas conforme os modelos propostos por Siddiqi & Glass (1981), Swiader et al. (1994) e Li et al. (1991), respectivamente.

Identificação dos isolados mais eficientes

Os isolados foram identificados pelo seqüenciamento do gene 16S do DNA ribossômico. O DNA genômico foi extraído pelo método do CTAB modificado, como descrito por Souza et al. (2003). O gene 16S rDNA foi amplificado via PCR, utilizando-se os *primers* 8fn (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') e 1429r (5'-ACG GCT ACC DTT GTT ACG ACT T-3') (Esikova et al., 2002). As reações de PCR foram feitas como descrito por Souza et al. (2003). Os produtos amplificados foram separados em géis de agarose, de acordo com métodos descritos por Sambrook & Russel (2001). O seqüenciamento direto foi efetuado com um kit que continha terminadores marcados com fluorescência em um seqüenciador de DNA automático modelo ABI 3100, de acordo com as recomendações do fabricante (*Applied Biosystems* do Brasil, São Paulo, SP). As seqüências foram montadas no programa *Sequencing Analysis* versão 5.1.1 (*Applied Biosystems* do Brasil). Alinhamentos das seqüências obtidas foram feitos com o programa CLUSTAL W versão 1.8 (Thompson et al., 1994). Buscas com o programa BLASTN foram efetuadas nos bancos de dados públicos (Altschul et al., 1997). As seqüências dos genes foram depositadas no GenBank e receberam os seguintes números de acesso: EF114345 (UFV-E25), EF114346 (UFV-E26), EF194087 (UFV-E29), EF194089 (UFV-E49) e EF194088 (UFLA 11-LS).

Análise estatística

Os dados dos teores de nutrientes, tanto da parte aérea quanto da raiz das plantas, e os valores das eficiências de absorção, de translocação e de utilização dos macro e micronutrientes foram submetidos à análise de variância pelo teste F, no programa SISVAR. As variáveis cujas médias foram significativas a 5 % foram comparadas pelo teste de Scott-Knott.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificação dos isolados mais eficientes

Para identificação dos isolados selecionados, as seqüências obtidas foram comparadas com seqüências dos bancos de dados públicos.

Um fragmento de 1.297 pb foi seqüenciado para o isolado UFV-E25, que foi mais próximo e apresentou 99,9 % de identidade, quando comparado com seqüências do gene 16S rDNA dos isolados HI-B13, J1 e BK1 de *Sinorhizobium* sp., encontradas nos bancos de dados sob os números de acesso DQ196475, DQ294628 e AJ012210, respectivamente. Para o isolado UFV-E26, foi seqüenciado um fragmento de 1.455 pb, que foi mais próximo e apresentou 99,9 % de identidade, quando comparado com seqüências do mesmo gene dos isolados 2-37-4-1 (DQ267829), AC46B1 (AJ717381), MO31 (AY553118) e MPF-906 (DQ660362) de *Bacillus megaterium*. O fragmento de 1.420 pb seqüenciado para o isolado UFV-E29 apresentou 99,9 % de identidade, quando comparado com as seqüências dos isolados TAI (AB284820) e ch2 (DQ122123) de *Bacillus cereus*. O fragmento de 1.435 pb obtido para o isolado UFLA 11-LS apresentou 99,9 % de identidade, quando comparado com os isolados Ballarat (AJ409096) e CV44 (AJ717369) de *Micrococcus* sp. Para o isolado UFV-E49, o fragmento de 1.368 pb apresentou 100 e 99,9 % de identidade, quando comparado com *Brevundimonas* sp. LSH-3 (DQ825665) e *B. diminuta* KACC 10306 (DQ979376), respectivamente.

Considerando-se a semelhança entre as seqüências dos isolados estudados e as seqüências encontradas nos bancos de dados, o isolado UFV-E25 foi classificado como *Sinorhizobium* sp., o UFV-E26 como *Bacillus megaterium*, o UFV-E29 como *B. cereus*, UFV-E49 como *Brevundimonas* sp. e o UFLA 11-LS como *Micrococcus* sp.

Teores de nutrientes nas plantas de tomateiro

Pelo resultado da análise química do solo utilizado como substrato de plantio, os teores dos nutrientes

exigidos para a cultura do tomateiro foram considerados baixos para Ca ($0,8 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), Mg ($0,2 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), S ($5,8 \text{ mg dm}^{-3}$), K ($11,0 \text{ mg dm}^{-3}$) e Cu ($0,5 \text{ mg dm}^{-3}$), e muito baixos para P ($0,4 \text{ mg dm}^{-3}$), Zn ($0,2 \text{ mg dm}^{-3}$) e Mn ($2,0 \text{ mg dm}^{-3}$), de acordo com Ribeiro et al. (1999). Somente o Fe ($34,4 \text{ mg dm}^{-3}$) encontrava-se em teor considerado adequado para a cultura, segundo esses autores. Embora esse fato tenha sido observado, não houve complemento da adubação desse solo durante a condução do experimento, para evitar que os efeitos provenientes do crescimento induzido pelas bactérias endofíticas fossem mascarados pelo efeito do adubo.

Ao analisar o teor de nutrientes na parte aérea e nas raízes das plantas de tomateiro, observou-se que muitos foram influenciados positivamente pelos isolados endofíticos avaliados. Assim, as concentrações de N, P, K, Ca, Mg, Cu e Zn na parte aérea (Quadro 1) e de N, P, Mg e Mn nas raízes (Quadro 2) das plantas de tomateiro tratadas com bactérias endofíticas diferiram da testemunha. Observa-se que os teores de Fe no tecido foliar, justamente o elemento presente no substrato em quantidade considerada suficiente para o tomateiro, e os teores de Ca e Zn nas raízes não apresentaram diferenças entre os tratamentos. As plantas tratadas com *Sinorhizobium* sp., *B. megaterium*, *B. cereus*, *Brevundimonas* sp., *Micrococcus* sp. e com os isolados UFV-E22, UFV-E27, UFLA 06-LS e UFLA 08-LS apresentaram teores de S e Mn na parte aérea (Quadro 1) e de K, S, Cu e Fe nas raízes (Quadro 2) inferiores aos da testemunha.

A concentração dos nutrientes no tecido foliar encontrou-se abaixo do valor considerado ideal por Martinez et al. (1999), exceto Cu, Fe, Mn e Zn. No entanto, os valores propostos por esses autores referem-se às folhas, e os valores obtidos neste trabalho referem-

Quadro 1. Teores de nutrientes da parte aérea de plantas de tomateiro inoculadas com bactérias endofíticas e testemunha sem inoculação

Isolado	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
UFV -E17	14,8c ⁽¹⁾	1,4b	15,0b	10,0d	2,2b	4,9a	49,4a	1.544,3a	461,5a	317,7a
UFV -E22	13,5c	1,4b	16,0b	9,8d	2,4a	4,7a	35,3b	1.367,8a	423,8b	252,2b
<i>Sinorhizobium</i> sp.	13,9c	1,5b	15,6b	9,9d	2,0b	3,8b	43,7a	1.467,5a	479,1a	282,6a
<i>Bacillus megaterium</i>	15,7b	1,6a	13,0a	11,8b	2,2a	5,0a	43,6a	1.494,5a	406,7b	304,6a
UFV -E27	14,1c	1,8a	19,1a	13,5a	2,3a	5,2a	49,0a	1.448,1a	422,8b	252,3b
<i>B. cereus</i>	15,2b	1,8a	16,9b	10,9c	2,0b	4,8a	45,4a	1.285,5a	371,8b	282,2a
<i>Brevundimonas</i> sp.	16,9a	1,7a	17,9a	11,8b	2,3a	4,3b	38,3b	1.338,8a	411,7b	287,1a
UFLA 06-LS	13,3c	1,8a	18,9a	12,5b	2,1b	5,1a	45,4a	1.370,9a	489,5a	262,0b
UFLA 08-LS	14,5c	1,5b	15,8b	11,0c	2,1b	4,0b	38,2b	1.545,0a	441,6b	233,9b
<i>Micrococcus</i> sp.	13,9c	1,6b	15,6b	12,1b	2,1b	4,5a	45,9a	1.419,4a	499,5a	242,9b
Testemunha	13,9c	1,5b	15,2b	12,3b	2,0b	4,9a	37,5b	1.521,9a	465,5a	227,7b

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 %.

Quadro 2. Teores de nutrientes das raízes de plantas de tomateiro inoculadas com bactérias endofíticas e testemunha sem inoculação

Isolado	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
UFV-E17	15,3a ⁽¹⁾	1,8b	18,1a	4,5a	1,4b	2,2a	78,1a	27.686,7a	325, 2b	286,7a
UFV-E22	16,2a	1,9b	18,2a	4,8a	1,6a	2,0a	89,6a	31.989,8a	523,4a	444,4a
<i>Sinorhizobium</i> sp.	16,7a	1,7c	16,9a	4,6a	1,4b	1,7b	74,4b	30.871,4a	370,6b	321,2a
<i>Bacillus megaterium</i>	13,5c	1,8b	16,2b	4,2a	1,7a	2,3a	84,7a	25.467,2b	405,3b	344,9a
UFV-E27	16,3a	2,0a	15,4b	4,1a	1,5a	2,3a	76,9b	21.712,5b	413,7b	373,4a
<i>B. cereus</i>	16,2a	1,9a	15,7b	4,7a	1,6a	2,1a	76,1b	25.875,9b	380,7b	345,2a
<i>Brevundimonas</i> sp.	14,8b	1,8b	18,0a	4,3a	1,3b	1,9b	82,6a	20.228,9b	430,1b	361,0a
UFLA 06-LS	14,4b	1,7c	15,9b	4,5a	1,3b	2,0 a	70,0b	20.276,7b	333,7b	341,1a
UFLA 08-LS	12,5c	1,6c	15,2b	4,6a	1,4b	1,8b	79,3a	24.616,4b	403,7b	362,4a
<i>Micrococcus</i> sp.	16,1a	1,5c	17,1a	4,5a	1,5a	1,8b	66,7b	23.718,8b	369,2b	340,7a
Testemunha	14,9b	1,7c	17,9a	4,7a	1,4b	2,2a	79,9a	30.417,7a	394,1b	402, 5a

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 %.

se às folhas e caules, explicando um possível efeito de diluição da concentração final. Em sorgo, a introdução da endofítica diazotrófica *Gluconacetobacter diazotrophicus* proporcionou aumento do teor de N nas plantas e interferiu no tamanho das raízes, tornando-as mais longas e ramificadas (Isopi et al., 1995), porém, em trigo, essa bactéria influenciou negativamente o teor de N (Sala, 2002). Assim, tanto o microrganismo envolvido quanto o hospedeiro podem influenciar os teores dos nutrientes.

Eficiência nutricional de plantas de tomateiro inoculadas com bactérias endofíticas

Foram observadas diferenças significativas entre as plantas tratadas com os vários isolados de bactérias endofíticas quanto à matéria seca da parte aérea (MSPA), eficiência de utilização (EU), absorção (EA) e translocação (ET) de macro e micronutrientes (Quadro 3).

A endófito *Brevundimonas* sp. possibilitou maior aumento (61,6 %) no peso da matéria seca da parte aérea, seguida de *Micrococcus* sp. (40,9 %), comparadas à testemunha sem inoculação de bactérias promotoras de crescimento. *Micrococcus* sp. propiciou maior EU de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe e Zn, não diferindo de *Brevundimonas* sp. quanto aos nutrientes Ca, S, Cu e Fe, indicando maior capacidade de produzir matéria seca total por unidade absorvida desses nutrientes. As maiores EU de Mn foram obtidas com as endófitas *Brevundimonas* sp. e *Bacillus cereus*. Embora a EU de Mn nas plantas inoculadas com *Micrococcus* sp. (0,15 mg² µg⁻¹) tenha sido menor do que a propiciada por *Brevundimonas* sp. e por *B. cereus* (0,16 e 0,17 mg² µg⁻¹, respectivamente), foi maior do que na testemunha (0,10 mg² µg⁻¹). Em plantas

de trigo, a introdução de bactérias endofíticas diazotróficas por Sala (2002) reduziu tanto o teor de N quanto a EU desse nutriente e não teve efeito significativo sobre o teor nem sobre a EU do P, comparada à testemunha sem inoculação.

A bactéria *Micrococcus* sp., responsável pelas maiores EU de N e P, proporcionou aumento na área foliar e no peso de matéria seca da parte aérea de plantas de tomateiro no trabalho desenvolvido por Barretti et al. (2008). Nesse trabalho, apesar de esse isolado não ter proporcionado aumento no crescimento das plantas, ele apresentou diferenças significativas quando comparado à testemunha. Em outros estudos, as maiores produções de matéria seca da parte aérea de plantas de arroz e trigo também foram associadas às maiores EU de N e P (Furlani et al., 1986; Abichequer & Bohnen, 1998). Segundo Epstein & Bloom (2006), o desempenho da planta, seja sua aptidão, produção, eficiência nutricional ou suscetibilidade a estresse biológico ou ambiental, geralmente depende de sua habilidade em obter NH₄⁺ ou NO₃⁻.

É provável que o comportamento dos nutrientes nas plantas tratadas com *Brevundimonas* sp. se deva ao efeito de diluição (Malavolta, 2006), uma vez que as plantas responderam com incremento na produção de matéria seca. Quando se realiza a análise química da parte aérea, a mesma quantidade de material seco é pesada em todas as amostras e dela extraem-se os nutrientes. Em plantas de maior porte, os nutrientes encontram-se menos concentrados devido à maior área, por isso podem ocorrer menores teores de nutrientes em plantas maiores.

Em cafeeiro, a maior EU de S foi associada ao maior crescimento do sistema radicular das plantas (Souza, 1999). No entanto, essa informação contrapõe-se

Quadro 3. Produção de matéria seca de parte aérea (MSPA), eficiência de utilização (EU), de absorção (EA) e de translocação (ET) de macro e micronutrientes de plantas de tomateiro inoculadas com bactérias endofíticas e testemunha sem inoculação

Matéria seca e eficiência	UFV-E17	UFV-E22	<i>Sinorhizobium</i> sp.	<i>Bacillus megaterium</i>	UFV-E27	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Brevundimonas</i> sp.	UFLA 06-LS	UFLA 08-LS	<i>Micrococcus</i> sp.	Test.
MSPA	54,9d ⁽¹⁾	53,9d	59,9c	58,0c	62,4b	61,7b	76,9a	58,0c	63,2b	67,0b	47,6d
EU ⁽²⁾ de N	3,73c	4,08b	4,41b	3,73c	4,44b	4,10b	4,00b	4,40b	4,38b	5,63a	3,41c
EA ⁽³⁾ de N	163,86a	85,37a	139,55a	119,59a	185,46a	190,15a	127,71a	139,91a	135,51a	145,24a	151,33a
ET ⁽⁴⁾ de N	99,65a	98,56b	99,56a	99,58a	99,69a	99,70a	99,65a	99,63a	99,72a	99,67a	99,54a
EU de P	4,69b	38,57b	40,69b	35,73c	35,18c	36,22c	40,17b	32,32c	41,22b	49,25a	31,23c
EA de P	17,31b	10,02b	14,39b	14,14b	13,63b	15,11b	21,63a	17,52b	15,71b	24,57a	17,15b
ET de P	99,56a	99,47b	99,59a	99,48a	99,69a	99,69a	99,59a	99,69a	99,67a	99,73a	99,54a
EU de K	3,70b	3,44c	3,86b	3,11c	3,29c	3,67b	3,78b	3,08c	4,02b	4,96a	3,11c
EA de K	180,85a	104,64a	148,95a	145,80a	192,13a	216,16a	143,74a	175,73a	155,68a	160,03a	175,96a
ET de K	99,59a	98,65b	99,60a	99,59a	99,78a	99,74a	99,60a	9,71a	99,69a	99,69a	99,50a
EU de Ca	5,51a	5,63a	6,15a	4,99b	4,63b	5,71a	5,72a	4,68b	5,75a	6,38a	3,87c
EA de Ca	79,30a	42,42b	65,71b	65,49b	92,21a	111,14a	64,22b	85,58a	78,35a	80,42a	89,95a
ET de Ca	99,85a	99,40b	99,83a	99,83a	99,92a	99,88a	99,85a	99,88a	99,87a	99,90a	99,84a
EU de Mg	25,64c	23,20c	30,78b	26,21c	27,41c	30,40b	29,48b	27,77c	30,86b	37,03a	23,89c
EA de Mg	19,35a	11,83a	15,24a	16,25a	21,21a	24,44a	14,28a	16,95a	17,46a	17,34a	17,59a
ET de Mg	99,78a	99,17b	99,74a	99,65a	99,82a	99,79a	99,78a	99,80a	99,78a	99,80a	99,71a
EU de S	11,40b	12,02b	16,09a	11,64b	12,30b	13,10b	15,68a	11,41b	16,19a	17,18a	9,97b
EA de S	38,55a	18,75b	25,51b	30,10b	41,04a	48,55a	24,75b	36,24a	29,25b	30,69b	38,03a
ET de S	99,85a	99,48b	99,84a	99,79a	99,88a	99,88a	99,83a	99,86a	99,86a	99,89a	99,81a
EU ⁽⁵⁾ de Cu	1,15b ⁽¹⁾	1,54a	1,58a	1,33b	1,29b	1,37b	1,68a	1,29b	1,66a	1,75a	1,26b
EA de Cu	697,78a	357,57a	549,05a	525,87a	795,75a	716,22a	482,03a	582,53a	591,03a	548,23a	625,19a
ET de Cu	99,46a	96,79b	99,27a	99,02a	99,57a	99,53a	99,15a	99,47a	99,33a	99,59a	99,12a
EU de Fe	0,034b	0,034b	0,038b	0,036b	0,042b	0,047a	0,048a	0,041b	0,039b	0,052a	0,030b
EA de Fe	160079,6a	96394,5b	148104,7a	114862,4b	146338,2a	161420,9a	78078,9b	109447,8b	130944,4a	120739,7b	171327,2a
ET de Fe	94,22a	80,17b	92,75a	92,91a	96,18a	94,68a	93,96a	95,17a	95,20a	95,54a	92,28a
EU de Mn	0,12c	0,13c	0,13c	0,14b	0,15b	0,17a	0,16a	0,12c	0,14b	0,15b	0,10c
EA de Mn	4276,41a	2706,72a	3866,38a	3427,58a	5227,23a	4435,40a	3343,30a	4158,72a	4237,11a	4190,05a	4545,50a
ET de Mn	99,76a	98,43b	99,71a	99,56a	99,73a	99,71a	99,59a	99,78a	99,70a	99,79a	99,64a
EU de Zn	0,17c	0,22c	0,21c	0,19c	0,25c	0,22c	0,23c	0,22c	0,27b	0,32a	0,21c
EA de Zn	3289,28a	1949,65a	2741,29a	2712,38a	936,35a	3700,02a	2589,45a	3043,94a	2985,74a	2815,84a	3336,28a
ET de Zn	99,70a	97,48b	99,58a	99,48a	99,61a	99,66a	99,51a	99,55a	99,58a	99,60a	99,29a

(¹) Médias seguidas por letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%. (²) g² mg⁻¹. (³) µg g⁻¹. (⁴) %. (⁵) mg² µg⁻¹.

aos resultados verificados por Barretti et al. (2008), pois o sistema radicular de plantas tratadas com a endófito *Micrococcus* sp., responsável pela maior eficiência de utilização do mineral, não diferiu significativamente do sistema radicular da testemunha. A endófito *Brevundimonas* sp. promoveu aumentos de 100 e 225 % no peso de matéria fresca e seca de raízes de tomateiro, respectivamente.

As endófitas *Micrococcus* sp. e *Brevundimonas* sp. destacaram-se das demais com as maiores EA de P, um nutriente pouco móvel no solo. Não houve diferença na EA para N, K, Mg, Cu, Mn e Zn entre os isolados de bactérias endofíticas e a testemunha. A eficiência de absorção de algumas bactérias endofíticas foi menor que a da testemunha para o Ca, S e Fe (Quadro 3). Provavelmente, o maior crescimento do sistema radicular de tomateiro promovido por *Brevundimonas* sp. proporcionou melhor absorção do P.

A forte afinidade entre P, Fe e Mn faz com que a combinação desses nutrientes resulte em uma forma inativa do P, diminuindo sua absorção pelas plantas

(Malavolta, 1980). Outra hipótese para explicar a maior EA de P das endófitas *Micrococcus* sp. e *Brevundimonas* sp. é atribuir a esses procarionotas melhorias na relação entre esses minerais, o que favoreceria a absorção do P pelas plantas.

Não houve diferença entre os isolados endofíticos e a testemunha para eficiência de translocação (ET), exceto para o isolado UFLA-E22, que apresentou a menor ET de todos os nutrientes (Quadro 3). Observaram-se maiores valores de ET quando comparados aos da literatura. Esse fato deve-se ao método de introdução dos isolados endofíticos, em que o corte na região do hipocótilo, destituindo as plântulas de suas raízes e aguardando novo enraizamento, formou raízes mais finas, que foram responsáveis por altos valores de ET.

Relação do acúmulo de nutrientes entre a parte aérea e as raízes

A relação do acúmulo de nutrientes entre a parte aérea (PA) e as raízes (R) das plantas de tomateiro tratadas com isolados de bactérias endofíticas variou de acordo com o nutriente analisado (Quadro 4).

Quadro 4. Relação de acúmulo de nutrientes na parte aérea/raízes (PA/R) de plantas de tomateiro tratadas com bactérias endofíticas e testemunha sem inoculação

Isolado	Relação PA/R									
	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
UFV -E17	0,97b ⁽¹⁾	0,77c	0,84c	2,21c	1,57b	2,26a	0,63b	0,06a	1,43a	1,12a
UFV -E22	0,84b	0,76c	0,88c	2,05c	1,50b	2,32a	0,40b	0,04a	0,82b	0,61b
<i>Sino rhizobium</i> sp.	0,84b	0,91b	0,93c	2,16c	1,44b	2,35a	0,59a	0,05a	1,32a	0,89a
<i>Bacillus megaterium</i>	1,19a	0,91b	1,18a	2,93b	1,33b	2,23a	0,52b	0,06a	1,02b	0,94a
UFV -E27	0,87b	0,89b	1,25a	3,36a	1,52b	2,26a	0,64a	0,07a	1,02b	0,69b
<i>B. cereus</i>	0,97b	0,91b	1,08b	2,37c	1,32b	2,34a	0,60a	0,05a	0,98b	0,83a
<i>Brevundimonas</i> sp.	1,15a	0,95b	1,00c	2,74b	1,80a	2,30a	0,46b	0,12a	0,97b	0,82a
UFLA 06 -LS	0,93b	1,10a	1,19a	2,79b	1,68a	2,23a	0,65a	0,07a	1,47a	0,77b
UFLA 08 -LS	1,16a	0,98b	1,05b	2,42c	1,51b	2,29a	0,48b	0,06a	1,09b	0,67b
<i>Micrococcus</i> sp.	0,87b	1,03a	0,91c	2,68b	1,39b	2,57a	0,70a	0,06a	1,36a	0,72b
Testemunha	0,93b	0,92b	0,85c	2,62b	1,47b	2,26a	0,47b	0,05a	1,18b	0,60b

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 %.

O isolado UFLA 06-LS destacou-se dos demais, apresentando a maior relação PA/R para o P, K, Mg, Cu e Mn. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a relação PA/R de S e Fe.

Vários mecanismos relacionados às características morfológicas e fisiológicas das plantas contribuem para o uso eficiente de nutrientes, entre eles a alta relação entre a parte aérea e as raízes. Dessa forma, pode-se ter correlação direta para este atributo, ou seja, quanto maior a relação parte aérea/raízes, maior a eficiência de translocação das plantas (Pozza, 2004). Geralmente, plantas mais aptas a translocar nutrientes para a parte aérea podem sobressair em termos de produção e crescimento.

Analisando-se a relação entre o teor de Si na parte aérea e na raiz de eucalipto, Carvalho et al. (2003) observaram a retenção desse elemento nas raízes, pois a relação PA/R começou a reduzir-se a partir de 60 dias após o sua transplante, indicando diminuição da eficiência de sua translocação com o aumento da idade das plantas. De maneira semelhante, Pozza (2004) verificou que a cultivar de café Mundo Novo apresentou maior relação PA/R para N, P, K, Ca, Mg, S, B, Mn e Si, justificando a maior capacidade de translocar esses nutrientes das raízes para a parte aérea.

Dentro desse contexto, observou-se que a endófito *Micrococcus* sp., responsável pela maior eficiência de absorção e utilização de P, não foi eficiente em translocar este mineral (Quadro 3). No entanto, a alta relação PA/R explicou a sua distribuição das raízes para a parte aérea das plantas (Quadro 4).

CONCLUSÕES

1. As bactérias endofíticas promotoras de crescimento aumentaram a eficiência nutricional do tomateiro.
2. A endófito *Micrococcus* sp. promoveu o crescimento das plantas pela melhoria da eficiência de utilização dos nutrientes.
3. Os teores de N, P, K, Ca, Mg, Cu e Zn na parte aérea e de N, P, Mg e Mn nas raízes das plantas de tomateiro foram influenciados pelas bactérias endofíticas *Brevundimonas* sp. e *Micrococcus* sp.
4. A maior eficiência de absorção de P foi obtida por *Micrococcus* sp. e *Brevundimonas* sp.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

LITERATURA CITADA

- ABICHEQUER, A.D. & BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. R. Bras. Ci. Solo, 22:21-26, 1998.
- ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T.L.; SCHAFFER, A.A.; ZHANG, J.; MILLER, W. & LIPMAN, D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res., 25:3389-3402, 1997.

- BASHAN, Y. & HOLGUIN, G. *Azospirillum*-plant relationships: Environmental and physiological advances. *Can. J. Microbiol.*, 43:103-121, 1997.
- BARRETTI, P.B.; SOUZA, R.M. & POZZA, E.A. Bactérias endofíticas como agentes promotores do crescimento de plantas de tomateiro e de inibição *in vitro* de *Ralstonia solanacearum*. *Ci. Agrotec.*, 32:731-739, 2008.
- CARVALHO, R.; FURTINI NETO, A.E.; CURI, N. & RESENDE, A.V. Absorção e translocação de silício em mudas de eucalipto cultivadas em Latossolo e Cambissolo. *Ci. Agrotec.*, 27:491-500, 2003.
- EPSTEIN, E. & BLOOM, A. Nutrição mineral de plantas: Princípios e perspectivas. 2.ed. Londrina, Planta, 2006. 403p.
- ESIKOVA, T.Z.; TEMIROV, Y.V.; SOKOLOV, S.L. & ALAKHOV, Y.B. Secondary antimicrobial metabolites produced by the thermophilic *Bacillus* strains VK2 and VK21. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 38:226-231, 2002.
- FAGERIA, N.K. & BALIGAR, V.C. Screening crop genotypes for mineral stresses. In: WORKSHOP ON ADAPTATION OF PLANTS TO SOIL STRESSES, Lincoln, 1993. Proceedings. Lincoln, University of Nebraska, 1993. p.142-159.
- FURLANI, A.M.C.; BATAGLIA, O.C. & AZZINI, L.E. Comportamento diferencial de linhagens de arroz na absorção e utilização de nitrogênio em solução nutritiva. *R. Bras. Ci. Solo*, 10:51-59, 1986.
- HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W.F. & KLOPPER, J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.*, 43:895-914, 1997.
- ISOPI, R.; FABRI, P.; DELGALLO, M. & PUPPI, G. Dual inoculation of *Sorghum bicolor* (L.) Moebch ssp. bicolor with VAM and *A. diazotrophicus*. *Symbiosis*, 18:43-55, 1995.
- KADO, C.I. & HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60:969-976, 1970.
- KIJIMA, T.; YONAI, S.; OOHASHI, K. & AMAGAI, M. Process for biologically preventing dicotyledonous plant diseases using symbiotical bacteria. 1995. 12p. USA Patent. No. 5.401.655 (03-28-1995).
- LAZAROVITS, G. & NOWAK, J. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *Hortic. Sci.*, 32:188-192, 1997.
- LI, B.; MCKEAN, S.E. & ALLEN, H.L. Genetic variation in nitrogen use efficiency of loblolly pine seedlings. *For. Sci.*, 37:613-626, 1991.
- MALAVOLTA, E. Elementos da nutrição mineral de plantas. São Paulo, Agronômica Ceres, 1980. 251p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba, POTAFOS, 1997. 319p.
- MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo, Agronômica Ceres, 2006. 638p.
- MARTINEZ, H.E.P.; NOVAIS, R.F.; SACRAMENTO, L.V.S. & RODRIGUES, L.A. Comportamento de variedades de soja cultivadas sob diferentes níveis de fósforo: II. Translocação do fósforo absorvido e eficiência nutricional. *R. Bras. Ci. Solo*, 17:239-244, 1993.
- MARTINEZ, H.E.P.; CARVALHO, J.G. & SOUZA, R.B. Diagnose foliar. In: RIBEIRO A.C.; GUIMARÃES, P.T.G. & ALVAREZ V., H.V., eds. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais, 5ª aproximação. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 1999. p.143-168.
- POZZA, A.A.A. Silício em mudas de cafeeiro: efeito na nutrição mineral e na suscetibilidade à cercosporiose em três variedades. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2004. 89p. (Tese de Doutorado)
- RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G. & ALVAREZ V., H.V. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais, 5ª aproximação. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 1999. 359p.
- SALA, V.M.R. Atividade microbiana do solo e a interação de diazotróficos endofíticos e fungos micorrízicos arbusculares na cultura do trigo. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002. 124p. (Tese de Mestrado)
- SAMBROOK, J. & RUSSELL, D.W. Molecular cloning: A laboratory manual. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 540p.
- SCHLOTTER, M. & HARTMANN, A. Endophytic and surface colonization of wheat roots (*Triticum aestivum*) by different *Azospirillum brasilense* strains studied with strain-specific monoclonal antibodies. *Symbiosis*, 25:159-179, 1998.
- SIDDIQI, M.Y. & GLASS, A.D.M. Utilization index: A modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. *J. Plant Nutr.*, 4:289-302, 1981.
- SOUZA, R.B. Níveis críticos de enxofre em solos e em folhas de cultivares de café. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 1999. 88p. (Tese de Doutorado)
- SOUZA, J.T.; MAZZOLA, M. & RAAIJMAKERS, J.M. Conservation of the response regulator gene *gacA* in *Pseudomonas* species. *Environ. Microbiol.*, 5:1328-1340, 2003.
- SWIADER, J.M.; CHYAN, Y. & FREIJI, G.G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. *Plant Nutr.*, 17:1687-1699, 1994.
- THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G. & GIBSON, T.J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*, 22:4673-4680, 1994.