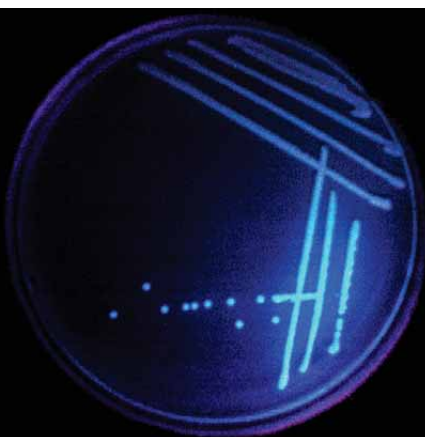


Levantamento e caracterização morfo cultural e bioquímica de bactérias fluorescentes isoladas a partir de solo após o cultivo de hortaliças em sistema orgânico de produção



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agrobiologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos 288

Levantamento e caracterização morfo cultural e bioquímico de bactérias fluorescentes isoladas a partir de solo após o cultivo de hortaliças em sistema orgânico de produção

*Anelise Dias
Jaqueline Fernandes Carvalho
Vinicius Gomes da Silva Vasconcelos
Silvana Gomes dos Santos
Gustavo Ribeiro Xavier
Norma Gouvêa Rumjanek
Raul de Lucena Duarte Ribeiro*

Embrapa Agrobiologia
Seropédica, RJ
2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agrobiologia

BR 465, km 7, CEP 23.851-970, Seropédica, RJ

Caixa Postal 74505

Fone: (21) 3441-1500

Fax: (21) 2682-1230

Home page: www.cnpab.embrapa.br

E-mail: sac@cnpab.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: Norma Gouvêa Rumjanek

Secretária-Executivo: Carmelita do Espírito Santo

Membros: Bruno José Alves, Ednaldo da Silva Araújo,

Guilherme Montandon Chaer, José Ivo Baldani,

Luis Henrique de Barros Soares

Supervisora editorial: Norma Gouvêa Rumjanek

Normalização bibliográfica: Carmelita do Espírito Santo

Tratamento de ilustrações: Maria Christine Saraiva Barbosa

Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia

Fotos da capa: Anelise Dias

1ª edição

1ª impressão (2011): 50 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agrobiologia

LEVANTAMENTO e caracterização morfocultural e bioquímico de bactérias fluorescentes isoladas a partir de solo após o cultivo de hortaliças em sistema orgânico de produção / Anelise Dias et al. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2011. 26 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 288)

ISSN: 1517-8498

1. *Pseudomonas* spp. 2. Morfologia. 3. Propriedade Bioquímica. I. Carvalho, Jaqueline F. II. Vanconcelos, Vinícius G. da Silva. III. Santos, Silvana G. dos. IV. Xavier, Gustavo R. V. Rumjanek, Norma G. VI. Ribeiro, Raul de L. Duarte. VII. Embrapa Agrobiologia. VIII. Série.

632.32 CDD 23.ed

© Embrapa 2011

Autores

Anelise Dias

Bolsista de pós-doutorado, Embrapa Agrobiologia.
E-mail: anelisedias@gmail.com.

Gustavo Ribeiro Xavier

Norma Gouvêa Rumjanek

Pesquisadores da Embrapa Agrobiologia. BR 467,
km 7, Seropédica, RJ, CEP 23891-000. E-mails:
gustavo.xavier@embrapa.br; norma.rumjanek@embrapa.br.

Jaqueline Fernandes Carvalho

MSc. Produção Vegetal pela UENF.

Vinicius Gomes da Silva Vasconcelos

Engenheiro agrônomo graduado pela UFRRJ.

Silvana Gomes dos Santos

Doutoranda em Ciências do Solo.

Raul de Lucena Duarte Ribeiro

Professor emérito do Departamento de Fitotecnia
da UFRRJ.

Apresentação

As atitudes de usar com responsabilidade os recursos naturais (solo, água, ar, flora, fauna, energia), de preservar e conservar a natureza são cada vez mais necessárias para a sociedade moderna acarretando em uma busca constante por sistemas de produção agropecuários apoiados em princípios ecológicos e naturais.

Dentro desse cenário, a Embrapa Agrobiologia construiu o seu atual plano diretor de pesquisa, desenvolvimento e inovação com a seguinte missão “gerar conhecimentos e viabilizar tecnologias e inovação apoiados nos processos agrobiológicos, em benefício de uma agricultura sustentável para a sociedade brasileira”.

A série documentos se constitui em uma linha de publicações que visa disponibilizar informações relevantes das mais diversas etapas dos processos de pesquisa científica e tecnológica. Podem disponibilizar revisões de literatura sobre temas relevantes, relatórios técnicos, um determinado procedimento metodológico, levantamentos de campo, entre outros tipos de conteúdo.

A presente publicação intitulada “Levantamento e caracterização morfocultural de bactérias fluorescentes isoladas a partir de solo após o

cultivo de hortaliças em sistema orgânico de produção” tem indicação para todos aqueles interessados em conhecer mais sobre o assunto, portanto, boa leitura.

Eduardo Francia Carneiro Campello
Chefe Geral da Embrapa Agrobiologia

Sumário

Introdução	9
Área de estudo	10
Amostragem	12
Isolamento das bactérias do solo	12
Caracterização morfocultural e bioquímica dos isolados ..	12
Caracterização da coleção	13
Considerações finais	17
Referências bibliográficas	19
Anexo 1	21
Anexo 2	24

Levantamento e caracterização morfo cultural de bactérias fluorescentes isoladas a partir de solo após o cultivo de hortaliças em sistema orgânico de produção

Anelise Dias, Jaqueline Fernandes Carvalho, Vinicius Gomes da Silva Vasconcelos, Silvana Gomes dos Santos, Gustavo Ribeiro Xavier, Norma Gouvêa Rumjanek, Raul de Lucena Duarte Ribeiro

Introdução

No Brasil, embora o consumo de hortaliças ainda esteja abaixo do que recomenda a Organização Mundial da Saúde, o faturamento da cadeia de produção representa 12,4% do Produto Interno Bruto do agronegócio, que é de R\$ 163,5 bilhões o que tem levado a um crescente interesse em desenvolver tecnologias para incrementar a produção e diminuir as perdas após a colheita (ANUÁRIO..., 2010).

Uma das estratégias que vem sendo propostas é o enriquecimento da rizosfera dessas plantas com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) que podem favorecer a produção de mudas mais vigorosas. Dentre as BPCPs, destacam-se *Pseudomonas* spp. fluorescentes que se estabelecem nas sementes e raízes das hortaliças e as protegem do ataque de fitopatógenos habitantes do solo, produzem reguladores de crescimento, solubilizam fosfatos e induzem tolerância a estresses ambientais (COMPANT et al. 2005, GLICK, 2010; YANG et al. 2008; YAO et al. 2010).

Para obtenção de populações de pseudomonas preconiza-se o isolamento a partir de sistemas diversificados, como o que ocorre na Fazendinha Agroecológica Km 47, onde as diversas práticas de manejo

adotadas, tais como os policultivos, o uso de plantas de cobertura do solo e a incorporação de insumos de origem biológica, estimulam a diversidade microbiana do solo (ALTIERI, 1999; NEVES et al., 2005). Além disso, nesse agroecossistema, tem se observado redução na frequência de fitomoléstias causadas por fungos e bactérias habitantes do solo, o que possivelmente se relaciona ao estabelecimento de grupos de microrganismos antagonistas como as pseudomonas fluorescentes.

Assim, o objetivo do presente estudo foi realizar um levantamento de bactérias do grupo de pseudomonas fluorescentes a partir de solo de canteiro após o cultivo com cinco hortaliças no Sistema Integrado de Produção Agroecológica (Fazendinha Agroecológica Km 47), caracterizá-las quanto às propriedades morfoculturais e perfis bioquímicos. Indicar isolados representantes dos grupos morfoculturais e bioquímicos em função da espécie olerícola para depósito na Coleção de Bactérias Diazotróficas e Multifuncionais da Embrapa Agrobiologia visando à preservação da biodiversidade *ex-situ*, disponibilizando o germoplasma para estudos futuros.

Área de estudo

Foram realizadas coletas de solo em canteiros após o cultivo de hortaliças no Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) no município de Seropédica (coordenadas 22°46'59" S, 43°40'45" W e 33m). O SIPA é um projeto de cooperação técnica entre a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Agrobiologia e Embrapa Solos), a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (Pesagro-Rio/ Estação Experimental de Seropédica) (ALMEIDA, GUERRA e RIBEIRO, 2003).

As coletas foram realizadas na Gleba X onde predomina o solo da classe Argissolo vermelho amarelo (Fig. 1). O histórico de cultivo da

Foto: Ricardo Eiras Moreira da Rocha. (Escala 1:2.000)



Fig. 1. Imagem aérea da área do SIPA e em detalhe o localização dos canteiros de hortaliças a partir dos quais foram obtidos os isolados bacterianos fluorescentes.

área apresenta o plantio de diversas culturas olericulturas. Em junho de 1993 quando foi implantada a primeira horta foi feita a calagem de acordo com a recomendação pela análise de solo. O calcário foi misturado ao gesso e como fonte de fósforo foi utilizado termofosfato. Até o momento, o manejo adotado prioriza o controle à erosão, a preservação da biota no sistema solo/ planta, uso de plantas de cobertura, adubação verde, compostagens e outros insumos de origem orgânica. Olerícolas são cultivadas em sistema orgânico, em rotação, consórcio, sem aplicação de agrotóxicos e sem adição de nitrogênio industrializado. As principais culturas conduzidas são alface, couve, rúcula, salsa, cebolinha, brócolis, chicória, abóbora, berinjela, feijão-de-vagem, cenoura, inhame, cará, dentre outras (NEVES et al., 2005).

Amostragem

Foram obtidas três amostras de solo compostas a partir de três tradagens (0-20 cm de profundidade) em um canteiro de cada hortaliça, 15 dias após o cultivo de couve-de-folha (*Brassica oleracea* cv. acephala), alface (*Lactuca sativa*), salsa (*Petroselinum sativum*), rúcula (*Eruca sativa*) e cebolinha (*Allium fistulosum*).

Isolamento das bactérias do solo

Retirou-se uma alíquota de 10 g de solo, transferiu-se para 100 ml de solução de cloreto de sódio (0,85% m v⁻¹) e agitou-se por 30 minutos a 200 rpm em “shaker orbital”. A partir dessa suspensão, foram preparadas diluições seriadas até 10⁻⁶, e de cada diluição retirou-se 100 µl e espalhou-se na superfície de placas de Petri contendo o meio King B (KING et al., 1954) adicionado de ampicilina (50 µg ml⁻¹), cloranfenicol (12,5 µg ml⁻¹) e ciclohexitida (100 µg ml⁻¹). Todas as diluições foram plaqueadas em triplicata e incubadas a 29°C por 48 h. As colônias que fluoresceram sob luz UV (STANIER et al., 1966) foram armazenadas em microtubos contendo King B líquido com 50% de glicerol a -20°C e a -80°C.

Caracterização morfocultural e bioquímica dos isolados

Para caracterização bioquímica foi utilizado o sistema API 20NE (Analytab Profile Index, BioMerieux Vitek Inc., Hazelwood, MO) de acordo com as instruções do fabricante. Após inoculação dos isolados, os sistemas foram incubados por 24 e 48 h a 30°C. As leituras dos testes de redução de nitrato, degradação do triptofano e fermentação da glicose foram efetuadas após 24 h e as demais após 48 h.

Todos os isolados foram caracterizadas de acordo com metodologia adaptada de Ferreira et al. (2009). Adotaram-se os seguintes

parâmetros morfoculturais: tamanho (diâmetro entre 1 a 2 mm, > 2 a 3 e > 3 mm), forma (circular ou irregular), bordo (liso ou recortado), aspecto (homogêneo ou heterogêneo), cor (amarelo, creme ou branco), elevação (presente ou ausente), produção de muco (pouca, média ou muita), elasticidade do muco (pouca, média ou muita), aderência ao meio de cultura (presente ou ausente) e intensidade da fluorescência (baixa, média ou alta). Os dados referentes à caracterização morfocultural e bioquímica foram submetidos a cálculos de similaridade com o coeficiente Jaccard por meio do programa NTSYSpc versão 2.10 (Applied Biostatistics Inc. New York).

Caracterização da coleção

Um total de 52 isolados foi obtido a partir do solo de canteiros após o cultivo de alface, couve, rúcula, salsa e cebolinha. Destes, 9 foram obtidos de alface, 7 de cebolinha, 12 de couve, 20 de rúcula e 4 de salsa.

De acordo com os testes bioquímicos, o conjunto de isolados foi dividido em 13 grupos com perfil idêntico à *P. putida* (25 isolados), *Acinetobacter baumannii* (10 isolados), *Burkholderia cepacia* (três isolados), *P. luteola* (um isolado), *Stenotrophomonas maltophilia* (dois isolados) e perfil inconclusivo (11 isolados) (Fig. 2).

Os isolados com perfil idêntico a *P. putida* se dividiram em três subgrupos (designados como a, b e c) e os isolados com perfil inconclusivo em cinco. A Tab. 1 mostra o número de isolados com perfil idêntico a cada grupo bioquímico de acordo com o canteiro de origem.

No presente estudo, os isolados que apresentaram perfil idêntico aos do gênero *Pseudomonas* apresentaram reação negativa para degradação do triptofano, fermentação anaeróbica da glicose e utilização do manitol. A maioria desses isolados usou arabinose, caprato, adipato, malato, citrato, ácido fenilacético e gluconato de potássio para o crescimento.

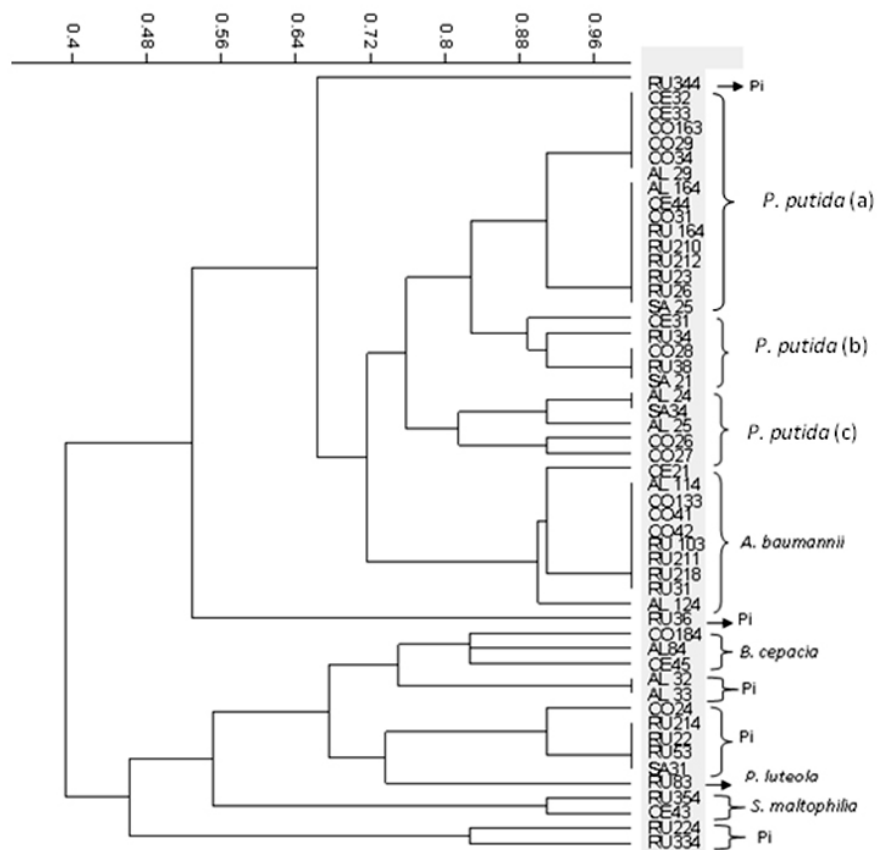


Fig. 2. Dendrograma dos isolados bacterianos obtidos de solo de canteiro após o cultivo de hortaliças sob cultivo orgânico, formado a partir de características bioquímicas (Sistema API 20 NE); Pi: perfil inconclusivo.

O isolado caracterizado como *P. luteola* diferiu dos isolados com perfil idêntico a *P. putida* devido à capacidade de utilizar nitrato como aceptor de elétrons na ausência de oxigênio, hidrolizar esculina e gelatina, produzir β -galactopiranosidase, e usar manose, n-acetil glucosamina e maltose. A incapacidade de liquefazer a gelatina, não produzir pigmentos fenazínicos e não reduzir nitrato por *P. putida* são características que classicamente separam essa espécie de *P. fluorescens* e *P. aeruginosa*.

Tabela 1. Caracterização bioquímica (Sistema API 20NE) de bactérias fluorescentes isoladas de canteiros após o cultivo de hortaliças sob cultivo orgânico.

Grupo	Taxon	Alface	Cebolinha	Couve	Rúcula	Salsa	Total
A	<i>P. putida (a)</i>	2	3	4	5	1	15
B	<i>P. putida (b)</i>	0	1	1	2	1	5
C	<i>P. putida (c)</i>	2	0	2	0	1	5
D	<i>A. baumannii</i>	2	1	3	4	0	10
E	<i>B. cepacia</i>	1	1	1	0	0	3
F	<i>P. luteola</i>	0	0	0	1	0	1
G	<i>S. maltophilia</i>	0	1	0	1	0	2
H	Pi ¹	2	0	1	7	1	11
TOTAL		9	7	12	20	4	52

¹ Perfil inconclusivo

O perfil bioquímico dos isolados do grupo *Acinetobacter* foi semelhante aos isolados do grupo das pseudomonas - foram incapazes de utilizar triptofano, manitol e fermentar a glicose, mas usaram glicose, arabinose, caprato, malato, citrato e ácido fenilacético como fontes de carbono. Esse grupo de isolados diferiu de *P. luteola* devido à incapacidade de desnitrificar nitrato e produzir gelatinase. Diferiu dos isolados com perfil idêntico a *P. putida* por não produzirem arginina diidrolase e pela incapacidade de usar gluconato de potássio.

O grupo dos isolados com perfil inconclusivo apresentou um conjunto de reações semelhante ao grupo das *Burkholderia cepacia* que se distinguiram devido à capacidade de degradar o triptofano, presença de metabolismo fermentativo anaeróbico e uso do manitol.

O grupo das *Stenotrophomonas* se diferenciou de *P. putida* devido à incapacidade do primeiro em utilizar arabinose, gluconato de potássio e ácido fenilacético.

O perfil bioquímico de cada isolado com os resultados de 20 reações bioquímicas diferentes encontra-se descrito no Anexo 1.

Os isolados foram caracterizados utilizando-se atributos da colônia e do muco e a maioria apresentou colônias com forma circular e ausência de aderência ao meio de cultivo. De acordo com as características das colônias os isolados foram distribuídos em oito grupos de tipos morfoculturais (TMC). Os isolados com TMC I apresentaram colônias com bordo recortado e muita produção de muco em contraste com os isolados com TMC II, com colônias de bordo liso, heterogêneas e pouca produção de muco. Com TMC III prevaleceram colônias com elevação, enquanto que no TMC IV as colônias foram planas. Os isolados com colônias amarelas prevaleceram no TMC V em contraste, no TMC VI todos apresentaram colônias creme. No TMC VII todos os isolados apresentaram colônias homogêneas, média produção de muco e média a alta elasticidade, enquanto que no TMC VIII os isolados também apresentaram colônias homogêneas e se distinguiram do grupo anterior em função da pouca elasticidade. A Tab. 2 mostra a distribuição dos isolados e respectivos TMC de acordo com o canteiro de origem.

O perfil morfocultural de cada isolado encontra-se descrito no Anexo 2.

Tabela 2. Caracterização morfocultural e agrupamento de bactérias fluorescentes obtidas de solo de canteiro após o cultivo de hortaliças.

TMC ¹	Alface	Cebolinha	Couve	Rúcula	Salsa	Total
I	2	0	2	3	0	7
II	1	1	0	3	2	7
III	2	2	6	5	0	15
IV	0	1	1	1	0	3
V	2	0	1	0	0	3
VI	1	1	1	3	1	7
VII	1	2	1	4	0	8
VIII	0	0	0	1	1	2
TOTAL	9	7	12	20	4	52

¹ TMC = Tipo morfocultural

Considerações finais

Do total de 52 isolados, 43 apresentaram perfis semelhantes aos depositados na base de dados do Sistema API 20 NE. Destes, 37 serão depositados na Coleção de Culturas de Bactérias Diazotróficas e Multifuncionais com fins de preservar a diversidade de bactérias fluorescentes presentes no solo de cultivos de cinco hortaliças em sistema orgânico de produção (Tab. 3).

Tabela 3. Agrupamento de bactérias fluorescentes obtidas de canteiros de hortaliças de acordo com a caracterização bioquímica (Sistema API 20 NE) e tipos morfoculturais (TMC).

Isolado	API 20NE	TMC	Origem	Depósito na coleção
CO41	<i>A. baumannii</i>	I	Couve	Sim
RU211	<i>A. baumannii</i>	II	Rúcula	Sim
AL 124	<i>A. baumannii</i>	III	Alface	Sim
CE21	<i>A. baumannii</i>	III	Cebolinha	Sim
CO133	<i>A. baumannii</i>	III	Couve	Sim
CO42	<i>A. baumannii</i>	III	Couve	Não
RU218	<i>A. baumannii</i>	III	Rúcula	Sim
RU 103	<i>A. baumannii</i>	IV	Rúcula	Sim
AL 114	<i>A. baumannii</i>	V	Alface	Sim
RU31	<i>A. baumannii</i>	VI	Rúcula	Sim
AL84	<i>B. cepacia</i>	I	Alface	Sim
CO184	<i>B. cepacia</i>	V	Couve	Sim
CE45	<i>B. cepacia</i>	VII	Cebolinha	Sim
RU83	<i>P. luteola</i>	VIII	Rúcula	Sim
RU23	<i>P. putida</i> (a)	I	Rúcula	Sim
AL 29	<i>P. putida</i> (a)	II	Alface	Sim
CE33	<i>P. putida</i> (a)	II	Cebolinha	Sim
RU26	<i>P. putida</i> (a)	II	Rúcula	Sim
AL 164	<i>P. putida</i> (a)	III	Alface	Sim
CE44	<i>P. putida</i> (a)	III	Cebolinha	Sim
CO163	<i>P. putida</i> (a)	III	Couve	Não
CO29	<i>P. putida</i> (a)	III	Couve	Não
CO34	<i>P. putida</i> (a)	III	Couve	Sim
RU210	<i>P. putida</i> (a)	III	Rúcula	Não
RU212	<i>P. putida</i> (a)	III	Rúcula	Sim
CO31	<i>P. putida</i> (a)	IV	Couve	Sim

Pi = perfil inconclusivo

Tabela 3. Agrupamento de bactérias fluorescentes obtidas de canteiros de hortaliças de acordo com a caracterização bioquímica (Sistema API 20 NE) e tipos morfoculturais (TMC). (cont.)

Isolado	API 20NE	TMC	Origem	Depósito na coleção
CE32	<i>P. putida</i> (a)	VI	Cebolinha	Sim
RU 164	<i>P. putida</i> (a)	VI	Rúcula	Sim
SA 25	<i>P. putida</i> (a)	VIII	Salsa	Sim
RU38	<i>P. putida</i> (b)	I	Rúcula	Sim
RU34	<i>P. putida</i> (b)	II	Rúcula	Sim
SA 21	<i>P. putida</i> (b)	II	Salsa	Sim
CO28	<i>P. putida</i> (b)	III	Couve	Sim
CE31	<i>P. putida</i> (b)	IV	Cebolinha	Sim
AL 25	<i>P. putida</i> (c)	I	Alface	Sim
CO27	<i>P. putida</i> (c)	I	Couve	Sim
AL 24	<i>P. putida</i> (c)	VI	Alface	Sim
SA34	<i>P. putida</i> (c)	VI	Salsa	Sim
CO26	<i>P. putida</i> (c)	VII	Couve	Sim
RU36	Pi	I	Rúcula	Não
SA31	Pi	II	Salsa	Não
RU22	Pi	III	Rúcula	Não
RU224	Pi	III	Rúcula	Não
AL 33	Pi	V	Alface	Não
CO24	Pi	VI	Couve	Não
RU214	Pi	VI	Rúcula	Não
AL 32	Pi	VII	Alface	Não
RU344	Pi	VII	Rúcula	Não
RU53	Pi	VII	Rúcula	Não
RU334	Pi	VII	Rúcula	Não
CE43	<i>S. maltophilia</i>	VII	Cebolinha	Sim
RU354	<i>S. maltophilia</i>	VII	Rúcula	Sim

Pi = perfil inconclusivo

Referências bibliográficas

ALMEIDA, D. L. de; GUERRA, J. G. M.; RIBEIRO, R. L. D. **Sistema integrado de produção agroecológica: uma experiência de pesquisa em agricultura orgânica**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 39 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 169).

ALTIERI, M. A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 74, p. 19-31, 1999.

ANUÁRIO Brasileiro de Hortaliças. Disponível em: <http://www.anuarios.com.br/port/assinatura.php?ref=/port/anuario_capa.php?idEdicao=95&idAnuario=48>. Acesso em: 21 de janeiro de 2011.

AQUINO, A. M. de; ASSIS, R. L. de. Fazendinha Agroecológica do Km 47. In: AQUINO, A. M. de; ASSIS, R. L. de (Ed.). **Agroecologia: princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p 147-169.

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

FERREIRA, E. P. B.; VOSS, M.; SANTOS, H. P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N. G. Diversidade de *Pseudomonas fluorescentes* em diferentes sistemas de manejo do solo e rotação de culturas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, p. 140-148, 2009.

GLICK, B. R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 367-374, 2010.

KING, E. O.; WARD, M. K.; RANEY, D. E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **Journal of Laboratorial Clinical Medical**, v. 44, p. 301-307, 1954.

NEVES, M. C. P.; GUERRA, J. G. M.; CARVALHO, S. R.; ALMEIDA, D. L. de; RIBEIRO, R. de L. D. **Sistema integrado de produção agroecológica**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005.

STANIER, R.Y.; PALLERONI, N. J.; DOUDOROFF, M. The aerobic pseudomonads: a taxonomic study. **Journal of General Microbiology**, v. 43, p. 159-271, 1966.

YANG, J.; KLOEPPER, J. W.; RYU, C. M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 1-42, 2009.

YAO, L.; WU, Z.; Y.; KALEEM, I.; LI, C. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. **European Journal of Soil Biology**, v. p. 49-54, 2010.

Anexo 1. Origem e caracterização bioquímica de isolados fluorescentes obtidos a partir de solo de canteiro pós-cultivo de hortaliças sob sistema orgânico.

Isolado	API 20 NE	NIT	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
CO41	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
RU211	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
AL 124	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
CE21	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
CO133	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
CO42	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
RU218	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
RU 103	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
AL 114	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
RU31	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
AL84	<i>B. cepacia</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CO184	<i>B. cepacia</i>	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
CE45	<i>B. cepacia</i>	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RU83	<i>P. luteola</i>	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+
AL 29	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
CE33	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
CO163	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
CO29	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
CO34	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Testes: NIT = redução de nitrato a nitrito ou azoto; TRP = degradação do triptofano; GLU = fermentação da glicose; ADH = produção de arginina dihidrolase; URE = produção de urease; ESC = hidrólise da esculina; GEL = hidrólise da gelatina; PNPG = p-nitrofenil-b-galactopiranosidase; GLU = utilização da D-glicose; ARA = utilização da arabinose; MNE = utilização da manose; MAN = utilização do manitol; NAG = utilização da n-acetil-glicosamina; MAL = utilização da maltose; GNT = utilização do gluconato de potássio; CAP = utilização do caprato; ADI = utilização do adipato; MLT = utilização do malato; CIT = utilização do citrato de trisódio; PAC = utilização do ácido fenil-acético. Pi = Perfil inconclusivo.

Anexo 1. Origem e caracterização bioquímica de isolados fluorescentes obtidos a partir de solo de canteiro pós-cultivo de hortaliças sob sistema orgânico. (cont.).

Isolado	API 20 NE	NIT	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
CE32	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
RU23	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
RU26	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
AL 164	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
CE44	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
RU210	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
RU212	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
CO31	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
RU 164	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
SA 25	<i>P. putida (a)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
RU38	<i>P. putida (b)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
RU34	<i>P. putida (b)</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
SA 21	<i>P. putida (b)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
CO28	<i>P. putida (b)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
CE31	<i>P. putida (b)</i>	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
AL 25	<i>P. putida (c)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
CO27	<i>P. putida (c)</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
AL 24	<i>P. putida (c)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
SA34	<i>P. putida (c)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+

Testes: NIT = redução de nitrato a nitrito ou azoto; TRP = degradação do triptofano; GLU = fermentação da glicose; ADH = produção de arginina dihidrolase; URE = produção de urease; ESC = hidrólise da esculina; GEL = hidrólise da gelatina; PNPG = p-nitrofenil-b-galactopiranosidase; GLU = utilização da D-glicose; ARA = utilização da arabinose; MNE = utilização da manose; MAN = utilização do manitol; NAG = utilização da n-acetil-glicosamina; MAL = utilização da maltose; GNT = utilização do gluconato de potássio; CAP = utilização do caprato; ADI = utilização do adipato; MLT = utilização do malato; CIT = utilização do citrato de trisódio; PAC = utilização do ácido fenil-acético. Pi = Perfil inconclusivo.

Anexo 1. Origem e caracterização bioquímica de isolados fluorescentes obtidos a partir de solo de canteiro pós-cultivo de hortaliças sob sistema orgânico. (cont.)

Isolado	API 20 NE	NIT	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
CO26	<i>P. putida (c)</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
RU36	Pi	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
RU224	Pi	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RU334	Pi	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
RU344	Pi	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
AL 33	Pi	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
AL 32	Pi	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
SA31	Pi	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
RU22	Pi	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
CO24	Pi	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
RU214	Pi	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
RU53	Pi	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
CE43	<i>S. maltophilia</i>	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-
RU354	<i>S. maltophilia</i>	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-

Testes: NIT = redução de nitrato a nitrito ou azoto; TRP = degradação do triptofano; GLU = fermentação da glicose; ADH = produção de arginina dihidrolase; URE = produção de urease; ESC = hidrólise da esculina; GEL = hidrólise da gelatina; PNPNG = p-nitrofenil-b-galactopiranosidase; GLU = utilização da D-glicose; ARA = utilização da arabinose; MNE = utilização da manose; MAN = utilização do manitol; NAG = utilização da n-acetil-glicosamina; MAL = utilização da maltose; GNT = utilização do gluconato de potássio; CAP = utilização do caprato; ADI = utilização do adipato; MLT = utilização do malato; CIT = utilização do citrato de trisódio; PAC = utilização do ácido fenil-acético. Pi = Perfil inconclusivo.

Anexo 2. Caracterização e agrupamento de isolados fluorescentes obtidos a partir de solo de canteiros após o cultivo de hortaliças cultivadas sob sistema orgânico.

TMC	Origem	Isolado	Cor	Forma	Bordo	Muco	Tamanho (mm)	Aspecto	Elevação	Aderência	Elasticidade	Fluorescência
I	Alface	AL 25	Creme	Irregular	Recortado	Média	> 3	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Alta
I	Alface	AL84	Amarelo	Irregular	Recortado	Muita	> 3	Heterogêneo	Ausente	Ausente	Muita	Média
I	Couve	CO27	Amarelo	Irregular	Recortado	Muita	> 3	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Alta
I	Couve	CO41	Amarelo	Circular	Recortado	Muita	> 3	Heterogêneo	Ausente	Ausente	Muita	Baixa
I	Rúcula	RU23	Branco	Circular	Recortado	Média	> 2a3	Heterogêneo	Ausente	Ausente	Média	Média
I	Rúcula	RU36	Amarelo	Circular	Recortado	Muita	1a2	Heterogêneo	Ausente	Ausente	Muita	Baixa
I	Rúcula	RU38	Amarelo	Circular	Recortado	Muita	1a2	Heterogêneo	Ausente	Ausente	Muita	Baixa
II	Alface	AL 29	Amarelo	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Heterogêneo	Presente	Ausente	Muita	Alta
II	Cebolinha	CE33	Amarelo	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Heterogêneo	Presente	Ausente	Muita	Alta
II	Rúcula	RU211	Creme	Circular	Recortado	Pouca	1a2	Heterogêneo	Ausente	Ausente	Média	Média
II	Rúcula	RU26	Branco	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Heterogêneo	Presente	Ausente	Muita	Média
II	Rúcula	RU34	Amarelo	Circular	Liso	Pouca	1a2	Heterogêneo	Presente	Ausente	Média	Média
II	Salsa	SA 21	Amarelo	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Heterogêneo	Presente	Ausente	Muita	Alta
II	Salsa	SA31	Creme	Circular	Recortado	Pouca	1a2	Heterogêneo	Presente	Ausente	Média	Média
III	Alface	AL 124	Branco	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Presente	Ausente	Muita	Média
III	Alface	AL 164	Branco	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Baixa
III	Cebolinha	CE21	Branco	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Heterogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Baixa
III	Cebolinha	CE44	Branco	Circular	Liso	Pouca	1a2	Heterogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Média

Parâmetros: tamanho entre 1 a 2 mm, > 2 a 3 e > 3 mm.), forma (circular ou irregular), bordo (liso ou recortado), aspecto (homogêneo ou heterogêneo), cor (amarelo, branco ou creme), transparência (transparente ou opaca), elevação (presente ou ausente), produção de muco (pouca, média ou muita), elasticidade do muco (alta, média ou baixa), aderência ao meio de cultura (presente ou ausente) e intensidade de fluorescência (baixa, média ou alta). Na = Não agrupado; Nj = não identificado.

Anexo 2. Caracterização e agrupamento de isolados fluorescentes obtidos a partir de solo de canteiros após o cultivo de hortaliças cultivadas sob sistema orgânico. (cont.).

TMC	Origem	Isolado	Cor	Forma	Bordo	Muco	Tamanho (mm)	Aspecto	Elevação	Adesência	Elasticidade	Fluorescência
III	Couve	CO133	Creme	Circular	Liso	Pouca	> 3	Homogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Baixa
III	Couve	CO163	Creme	Circular	Liso	Pouca	1a2	Heterogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Baixa
III	Couve	CO28	Branco	Circular	Liso	Pouca	1a2	Heterogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Baixa
III	Couve	CO29	Branco	Circular	Liso	Pouca	> 3	Homogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Baixa
III	Couve	CO34	Creme	Circular	Liso	Média	> 2a3	Homogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Média
III	Couve	CO42	Creme	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Heterogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Baixa
III	Rúcula	RU210	Creme	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Baixa
III	Rúcula	RU212	Creme	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Homogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Média
III	Rúcula	RU218	Branco	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Média
III	Rúcula	RU22	Branco	Circular	Recortado	Média	> 2a3	Homogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Baixa
III	Rúcula	RU224	Branco	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Presente	Ausente	Pouca	Média
IV	Cebolinha	CE31	Creme	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Homogêneo	Ausente	Ausente	Média	Alta
IV	Couve	CO31	Amarelo	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Homogêneo	Ausente	Ausente	Média	Baixa
IV	Rúcula	RU 103	Creme	Circular	Liso	Pouca	> 2a3	Homogêneo	Ausente	Ausente	Média	Média
V	Alface	AL 114	Amarelo	Circular	Liso	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Baixa
V	Alface	AL 33	Amarelo	Circular	Liso	Muita	1a2	Heterogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Média
V	Couve	CO184	Amarelo	Circular	Liso	Média	> 2a3	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Média

Parâmetros: tamanho entre 1 a 2 mm, > 2 a 3 e > 3 mm.), forma (circular ou irregular), bordo (liso ou recortado), aspecto (homogêneo ou heterogêneo), cor (amarelo, branco ou creme), transparência (transparente ou opaca), elevação (presente ou ausente), produção de muco (pouca, média ou muita), elasticidade do muco (alta, média ou baixa), aderência ao meio de cultura (presente ou ausente) e intensidade de fluorescência (baixa, média ou alta). Na = Não agrupado; Ni = não identificado.

Anexo 2. Caracterização e agrupamento de isolados fluorescentes obtidos a partir de solo de canteiros após o cultivo de hortaliças cultivadas sob sistema orgânico. (cont.)

TMC	Origem	Isolado	Cor	Forma	Bordo	Muco	Tamanho (mm)	Aspecto	Elevação	Aderência	Elasticidade	Fluorescência
VI	Alface	AL 24	Creme	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Baixa
VI	Cebolinha	CE32	Creme	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Média	Média
VI	Couve	CO24	Creme	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Média
VI	Rúcula	RU 164	Creme	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Média	Baixa
VI	Rúcula	RU214	Creme	Circular	Liso	Muita	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Média
VI	Rúcula	RU31	Creme	Circular	Liso	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Média
VI	Salsa	SA34	Creme	Circular	Liso	Pouca	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Baixa
VII	Alface	AL 32	Branco	Circular	Liso	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Muita	Baixa
VII	Cebolinha	CE43	Branco	Circular	Liso	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Muita	Média
VII	Cebolinha	CE45	Creme	Circular	Liso	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Muita	Baixa
VII	Couve	CO26	Creme	Circular	Liso	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Muita	Alta
VII	Rúcula	RU334	Creme	Circular	Liso	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Média	Baixa
VII	Rúcula	RU344	Creme	Circular	Liso	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Média	Baixa
VII	Rúcula	RU354	Creme	Circular	Liso	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Média	Baixa
VII	Rúcula	RU53	Creme	Circular	Recortado	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Média	Baixa
VIII	Rúcula	RU83	Creme	Circular	Recortado	Média	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Baixa
VIII	Salsa	SA 25	Creme	Circular	Recortado	Muita	1a2	Homogêneo	Ausente	Ausente	Pouca	Baixa

Parâmetros: tamanho entre 1 a 2 mm, > 2 a 3 e > 3 mm.), forma (circular ou irregular), bordo (liso ou recortado), aspecto (homogêneo ou heterogêneo), cor (amarelo, branco ou creme), transparência (transparente ou opaca), elevação (presente ou ausente), produção de muco (pouca, média ou muita), elasticidade do muco (alta, média ou baixa), aderência ao meio de cultura (presente ou ausente) e intensidade de fluorescência (baixa, média ou alta). Na = Não agrupado; Ni = não identificado.



Agrobiologia

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

