

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO

DISSERTAÇÃO

Diversidade Microbiana de Solos sob Cultivo de Tomateiro
(*Solanum lycopersicum*) com Murcha Bacteriana e
Bioprospecção de Microrganismos Promotores de
Crescimento Vegetal

Gustavo Rodrigues Saldanha

2025



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

**DIVERSIDADE MICROBIANA EM SOLOS SOB CULTIVO DE
TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum*) COM MURCHA BACTERIANA E
BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE
CRESCIMENTO VEGETAL**

GUSTAVO RODRIGUES SALDANHA

Sob a Orientação da Professora
Irene da Silva Coelho

e Coorientação da Professora
Margarida Gorete Ferreira do Carmo

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

Seropédica, RJ
Agosto de 2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

S162d	<p>Saldanha, Gustavo Rodrigues, 1999- Diversidade Microbiana de Solos sob Cultivo de Tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) com murcha Bacteriana e Bioprospecção de Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal / Gustavo Rodrigues Saldanha. - Seropédica - RJ, 2025. 62 f.: il.</p> <p>Orientadora: Irene da Silva Coelho. Coorientadora: Margarida Gorete Ferreira do Carmo. Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo / Mestrado, 2025.</p> <p>1. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>. 2. Diversidade microbiana. 3. <i>Ralstonia solanacearum</i>. I. Coelho, Irene da Silva, 1979-, orient. II. Carmo, Margarida Gorete Ferreira do, 1963-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo / Mestrado. IV. Título.</p>
-------	--

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.



HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 44 / 2025 - CPGACS
(12.28.01.00.00.00.27)

Nº do Protocolo: 23083.050450/2025-32

Seropédica-RJ, 02 de setembro de 2025.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO

GUSTAVO RODRIGUES SALDANHA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 29/08/2025.

Irene da Silva Coelho. Dra. UFRRJ
(Orientadora)

Marcia Soares Vidal. Dra. Embrapa Agrobiologia

José Ivo Baldani. Dr. Embrapa Agrobiologia

(Assinado digitalmente em 03/09/2025 12:25)

IRENE DA SILVA COELHO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.54)
Matrícula: 1815763

(Assinado digitalmente em 02/09/2025 09:53)

JOSÉ IVO BALDANI
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 538.864.458-87

(Assinado digitalmente em 02/09/2025 09:51)

MARCIA SOARES VIDAL
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 026.210.947-67

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp>
informando seu número: **44**, ano: **2025**, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, data de emissão: **02/09/2025** e o código de verificação: **9f8cdb18dd**

Aos meus pais, Marilza Rodrigues e Antônio Saldanha
Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por guiar meus passos, conceder forças nos momentos de dificuldade e iluminar meu caminho com amor e sabedoria.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por proporcionar um ambiente de ensino de excelência, onde a busca pelo conhecimento é incentivada e valorizada. Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Ciência do Solo, pela oportunidade de crescimento acadêmico e pelas experiências enriquecedoras que marcaram minha formação.

À CAPES, pelo apoio financeiro que tornou possível minha dedicação integral à pesquisa, permitindo que este trabalho fosse desenvolvido com foco e empenho.

Aos meus pais, Antônio Teixeira Saldanha e Marilza Rodrigues Saldanha, agradeço o amor, dedicação e apoio incondicional, e por serem meus exemplos de vida e fonte constante de inspiração. Sua confiança em meu potencial e os valores que transmitiram me motivaram a enfrentar todos os desafios acadêmicos e pessoais.

À minha querida orientadora, professora Irene da Silva Coelho, sou profundamente grato por sua orientação atenta e dedicada, por todos os ensinamentos compartilhados, pela paciência e confiança, e, acima de tudo, pelo carinho e inspiração que sempre transmitiu ao longo desta jornada.

À professora Margarida Gorete Ferreira do Carmo, minha coorientadora, por todo apoio, ajuda, conselhos e esforços dedicados ao projeto, tornando possível cada etapa desta pesquisa.

Aos colegas de laboratório Rennan, Bruno, Carolina Rufino, Nataly, Fernanda e Gisele, pelo companheirismo, ajuda, incentivo e momentos compartilhados que tornaram a rotina do laboratório mais leve e produtiva.

Aos alunos estagiários Leandro Amaya, Letícia Batista, Ricardo Araújo e Pablo Henrique, envolvidos diretamente no meu projeto de pesquisa, sou imensamente grato pelo comprometimento, esforço, dedicação, e amizade, que foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos colegas de pós-graduação Júlia Xavier, Juliana, Érico, Hosana, Gustavo Santana, Natália e Lislane, meu grande agradecimento por toda ajuda, apoio e troca de conhecimentos ao longo desta jornada.

Em especial, agradeço à Maura Reis, por ter dado tanto apoio na realização do meu projeto, por ter se dedicado até os últimos momentos, por sua amizade, conversas, críticas construtivas e apoio nos momentos difíceis.

Também, em especial, à Paula Ferreira, a quem sou eternamente grato por todo ensinamento, incentivo, ótimos conselhos e ajuda ao longo desta trajetória.

À Laura Karine, agradeço, pois, sempre estive à disposição para ajudar, além de proporcionar grandes trocas de conhecimento.

Aos meus colegas e amigos de alojamento, Marllon Borges, João, Matheus e Raphael Ferreira, agradeço o acolhimento, ajuda, brincadeiras e momentos de descontração que tornaram os desafios da rotina acadêmica mais leves e divertidos.

Aos meus grandes amigos de vida, Aroldo Junior e Wendel Souza, agradeço por décadas de amizade, cujo valor é inestimável, e por todo incentivo ao longo desses anos, especialmente durante este período de grandes desafios.

E a todas as outras pessoas que, mesmo sem estarem nomeadas aqui, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Gustavo Rodrigues Saldanha, filho de Antônio Teixeira Saldanha e Marilza Rodrigues Saldanha, nasceu em Vassouras, Rio de Janeiro, no dia 1 de outubro de 1999. Concluiu o ensino médio na Escola Estadual Ministro Raul Fernandes no ano de 2017 em Vassouras, Rio de Janeiro. Em 2018, ingressou no Curso de Engenharia Agrônômica na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Durante a graduação, atuou como estagiário na Embrapa Agroecologia de 2019 a 2020 e, posteriormente, foi bolsista de Iniciação Científica na área de Microbiologia do Solo no Laboratório de Bacteriologia e Genética Molecular da UFRRJ (LabacGem), de 2020 a 2023. Graduiu-se em 2023. No mesmo ano, ingressou no Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, na área de Biologia do Solo, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RESUMO GERAL

SALDANHA, Gustavo Rodrigues Saldanha. **Diversidade microbiana de solos sob cultivo de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) com murcha bacteriana e bioprospecção de microrganismos promotores de crescimento vegetal**. 2025. 62f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2025.

A murcha do tomateiro, que pode ter como agentes causais a bactéria *Ralstonia solanacearum* ou o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, representa um dos principais desafios para o manejo da cultura, devido à persistência desses patógenos no solo e o limitado uso eficiência dos métodos químicos disponíveis. No primeiro capítulo, investigou-se a composição da comunidade bacteriana da rizosfera de plantas de tomate com e sem sintomas de murcha bacteriana em duas unidades de produção protegida em Vassouras-RJ. A análise da diversidade alfa e beta, abundância diferencial e redes de coocorrência bacteriana indicou diferenças na rizosfera de plantas sintomáticas e assintomáticas. Famílias como *Bacillaceae*, *Fictibacillaceae*, *Nocardiaceae*, *Chitinophagaceae* e *Streptomyetaceae* predominaram na rizosfera de plantas sem sintomas, possivelmente associadas à supressão natural do patógeno, enquanto *Pseudomonadaceae*, *Microbacteriaceae* e *Rhizobiaceae* foram mais abundantes na rizosfera de plantas com murcha. As redes microbianas indicaram maior conectividade e predominância de interações negativas na presença de doença, com centralidade de *Beijerinckiaceae* nas plantas sintomáticas e de *Mycobacteriales* e *Burkholderiaceae* nas assintomáticas. O segundo capítulo concentrou-se na caracterização de 22 isolados de *Pseudomonas* previamente identificados por MALDI-TOF. A identificação foi confirmada por sequenciamento do gene *rrs*, e foi avaliado o potencial de biocontrole contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* e atributos de promoção de crescimento vegetal. Foi observada a predominância espécies de *P. aeruginosa*, *P. putida* e *P. plecoglossicida*. Nos testes de antagonismo direto, isolados de *P. aeruginosa* apresentaram maior capacidade de inibir o patógeno. Isolados do grupo *putida* destacaram-se na solubilização de fosfato e produção de ácido indolacético, indicando potencial como promotor de crescimento vegetal. Em conjunto, os resultados demonstram que houve alteração na composição microbiana na rizosfera de plantas com murcha bacteriana e destacam cepas de *Pseudomonas* como promissoras para a formulação de bioinsumos voltados para o controle de *Fusarium* e à promoção de crescimento vegetal. Essas informações reforçam a importância do desenvolvimento de estratégias baseadas na manipulação da microbiota do solo e da utilização de consórcios microbianos, favorecendo o avanço de práticas agrícolas mais eficientes e ambientalmente sustentáveis.

Palavras-chave: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Murcha bacteriana. *Ralstonia solanacearum*.

GENERAL ABSTRACT

SALDANHA, Gustavo Rodrigues Saldanha. **Soil microbial diversity under tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivation with bacterial wilt and bioprospecting of plant growth-promoting microorganisms.** 2025. 62p. Dissertation (Master in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2025.

Tomato wilt, caused by either the bacterium *Ralstonia solanacearum* or the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, represents one of the main challenges for tomato crop management due to the persistence of these pathogens in the soil and the limited efficiency of available chemical control methods. In the first chapter, the composition of the bacterial community in the rhizosphere of tomato plants with and without bacterial wilt symptoms was investigated in two protected production units located in Vassouras, Rio de Janeiro, Brazil. Analyses of alpha and beta diversity, differential abundance, and bacterial co-occurrence networks revealed differences between the rhizospheres of symptomatic and asymptomatic plants. Families such as *Bacillaceae*, *Fictibacillaceae*, *Nocardiaceae*, *Chitinophagaceae*, and *Streptomycetaceae* predominated in the rhizosphere of asymptomatic plants, possibly associated with natural suppression of the pathogen, whereas *Pseudomonadaceae*, *Microbacteriaceae*, and *Rhizobiaceae* were more abundant in plants showing wilt symptoms. Microbial network analyses indicated higher connectivity and a predominance of negative interactions in the presence of disease, with *Beijerinckiaceae* showing centrality in symptomatic plants, and *Mycobacteriales* and *Burkholderiaceae* in asymptomatic ones. The second chapter focused on the characterization of 22 *Pseudomonas* isolates previously identified by MALDI-TOF. Identification was confirmed by sequencing of the *rrs* gene, and the potential for biocontrol against *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* as well as plant growth-promoting traits were evaluated. The predominant species were *P. aeruginosa*, *P. putida*, and *P. plecoglossicida*. In direct antagonism assays, *P. aeruginosa* isolates exhibited greater ability to inhibit the pathogen. Isolates belonging to the *P. putida* group stood out for their phosphate solubilization and indole-3-acetic acid production, indicating potential as plant growth promoters. Overall, the results demonstrate that the microbial composition of the rhizosphere is altered in plants affected by bacterial wilt and highlight *Pseudomonas* strains as promising candidates for the development of bioinputs aimed at *Fusarium* control and plant growth promotion. These findings reinforce the importance of developing strategies based on soil microbiome manipulation and the use of microbial consortia to advance more efficient and environmentally sustainable agricultural practices.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Bacterial wilt. *Ralstonia solanacearum*.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – DIVERSIDADE BACTERIANA EM SOLOS SOB CULTIVO DE TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum*) COM E SEM INCIDÊNCIA DE MURCHA BACTERIANA

Tabela 1. Tabela de atributos químicos da rizosfera de plantas com e sem sintomas de murcha bacteriana.....	18
--	-----------

CAPÍTULO II – BIOPROSPECÇÃO DE *Pseudomonas* PARA O BIOCONTROLE DE *Fusarium* E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE VEGETAL

Tabela 1. Origem e identificação dos isolados de <i>Pseudomonas</i>	33
Tabela 2. Identificação dos isolados bacterianos com base no MALDI-TOF e sequenciamento parcial do gene <i>rrs</i>	39

ANEXO 1

Tabela 1. Percentual de inibição do crescimento de <i>Fusarium</i> spp. por diferentes isolados bacterianos, obtidos a partir de ensaios de confronto direto de culturas, aplicação de extratos bacterianos e avaliação de compostos voláteis.....	62
---	-----------

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – DIVERSIDADE BACTERIANA EM SOLOS SOB CULTIVO DE TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum*) COM E SEM INCIDÊNCIA DE MURCHA BACTERIANA

- Figura 1.** Mapa georreferenciado do município de Vassouras, no estado do Rio de Janeiro, com destaque para a localização exata da Unidade de Produção Protegida de tomate 1 (Amarelo) e 2 (Azul) onde foram coletadas as amostras de solo utilizadas neste estudo..... 13
- Figura 2.** Área de coleta das amostras de solos. (A) Unidade de produção protegida 1, com plantas de tomateiro, sem sintomas de murcha bacteriana; (B) Unidade de produção protegida 2, com plantas apresentando sintomas característicos de murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*..... 14
- Figura 3.** Croqui das unidades de produção com suas respectivas dimensões e a divisão interna em blocos utilizada para a coleta de amostras de solo rizosférico 15
- Figura 4.** Análise de Componentes Canônicos (CAP) baseada em variáveis químicas da rizosfera de plantas com (*disease*, Azul) e sem (*healthy*, Verde) sintomas de murcha bacteriana..... 18
- Figura 5.** Curvas de rarefação mostrando o número de SVAs observados em função da profundidade de sequenciamento (número de leituras) da rizosfera de plantas com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana..... 19
- Figura 6.** Comparação dos índices de diversidade alfa da comunidade bacteriana na rizosfera de tomateiros com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana. As caixas representam o intervalo interquartil, as linhas horizontais os valores medianos e os pontos os valores individuais por amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Wilcoxon rank-sum para comparar dois grupos. 19
- Figura 7.** Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância de Bray-Curtis, representando a dissimilaridade na composição da comunidade bacteriana entre a rizosfera de tomateiros com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana..... 20
- Figura 8.** Diagrama de Venn representando o número de Amplicon Sequence Variants (SVAs) compartilhadas e únicas entre a rizosfera de plantas de tomateiro com e sem sintomas de murcha bacteriana..... 20
- Figura 9.** (A) Abundância relativa e (B) análise de abundância diferencial (Log2 Fold Change) das famílias bacterianas na rizosfera de plantas com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana..... 21
- Figura 10.** Abundância relativa dos gêneros pertencentes à família Burkholderiaceae na rizosfera de plantas de tomateiro com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana..... 22
- Figura 11.** Redes de coocorrência microbiana da rizosfera de plantas com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana. Cada nó representa um ASV, colorido de acordo com o filo taxonômico. As

conexões indicam interações entre os microrganismos, sendo linhas vermelhas representando correlações negativas e linhas azuis correlações positivas 23

CAPÍTULO 2 – BIOPROSPECÇÃO DE *Pseudomonas* PARA O BIOCONTROLE DE *Fusarium* E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE VEGETAL

- Figura 1.** Árvore filogenética baseada em sequências parciais do gene *rrs* (695 pb), construída pelo método Neighbor-Joining com distâncias evolutivas calculadas pelo modelo Kimura 2 parâmetros. Valores nos nós representam porcentagens de bootstrap (1000 repetições) 40
- Figura 2.** Percentual de inibição de *Fusarium oxysporum* promovido por isolados bacterianos por meio de confronto direto, aplicação de extratos bacterianos e liberação de compostos voláteis. As barras representam os valores individuais de inibição para cada isolado, enquanto as linhas tracejadas indicam os limites estabelecidos para classificação da inibição (baixa, média e alta). A Tabela 1, apresentada no Apêndice 1, mostra os percentuais de inibição obtidos nos diferentes ensaios..... 41
- Figura 3.** Atividade antagonista de isolados bacterianos contra *Fusarium oxysporum* por diferentes mecanismos. (A) Confrontamento direto, isolado 168; (B) Extratos bacterianos, isolado 146; (C) Compostos voláteis, isolado 176, (D) Placas controle, contendo apenas inóculo fúngico, indicando crescimento normal do fungo 41
- Figura 4.** Solubilização de fósforo (mg/kg) a partir de fosfato de alumínio (A) e fosfato de cálcio (B) por isolados de *Pseudomonas*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) 42
- Figura 5.** Redução do pH do meio de cultura promovida por cada isolado de *Pseudomonas* ao final do experimento (15 dias) de solubilização de fósforo inorgânico, utilizando duas fontes distintas: fosfato de cálcio e fosfato de alumínio..... 43
- Figura 6.** Correlação entre pH final do meio e solubilização de fósforo a partir das fontes fosfato de alumínio e fosfato de cálcio..... 43
- Figura 7.** Produção de AIA ($\mu\text{g/mL}$) pelos isolados de *Pseudomonas*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) 44

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1	Aspectos Gerais da Cultura do Tomateiro.....	03
2.2	Murcha do Tomateiro e Medidas de Controle.....	04
2.3	Relações entre Fitossanidade, Saúde do Solo, Supressividade e Diversidade Microbiana.....	05
2.4	Biocontrole Microbiano.....	06
2.5	<i>Pseudomonas</i> no Controle Biológico e Promoção de Crescimento Vegetal.....	07
3.	CAPÍTULO I – DIVERSIDADE BACTERIANA EM SOLOS SOB CULTIVO DE TOMATEIRO (<i>Solanum lycopersicum</i>) COM E SEM INCIDÊNCIA DE MURCHA BACTERIANA.....	09
3.1	RESUMO.....	10
3.2	ABSTRACT.....	11
3.3	INTRODUÇÃO.....	12
3.4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
3.4.1	Caracterização da Área de Estudo.....	13
3.4.2	Amostragem do Solo.....	14
3.4.3	Caracterização Química do Solo.....	15
3.4.4	Estudo de Diversidade Bacteriana.....	15
3.5	RESULTADOS.....	18
3.6	DISCUSSÃO.....	24
3.7	CONCLUSÃO.....	28
4.	CAPÍTULO II – BIOPROSPECÇÃO DE <i>Pseudomonas</i> PARA O BIOCONTROLE DE <i>Fusarium</i> E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE VEGETAL.....	29
4.1	RESUMO.....	30
4.2	ABSTRACT.....	31
4.3	INTRODUÇÃO.....	32
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.4.1	Origem e Caracterização dos Isolados.....	33
4.4.2	Identificação Molecular de Isolados de <i>Pseudomonas</i>	33
4.4.2.1	Extração de DNA.....	33
4.4.2.2	Amplificação e sequenciamento do gene <i>rrs</i>	34
4.4.3	Avaliação do Potencial Antagonista de Isolados de <i>Pseudomonas</i> Contra <i>Fusarium oxysporum</i>	34
4.4.3.1	Teste de confronto <i>in vitro</i>	34
4.4.3.2	Produção de compostos voláteis.....	35
4.4.3.3	Teste de inibição fúngica por extratos bacterianos.....	35
4.4.4	Avaliação de Atributos de Promoção de Crescimento Vegetal.....	35
4.4.4.1	Avaliação da capacidade de solubilização de fosfato mineral.....	35
4.4.4.2	Avaliação da capacidade de produção de ácido indolacético.....	36
4.4.5	Análise Estatística.....	37
4.5	RESULTADOS.....	38
4.5.1	Identificação dos Isolados de <i>Pseudomonas</i>	38

4.5.2	Potencial Antagonista dos Isolados.....	38
4.5.3	Atributos de Promoção de Crescimento Vegetal.....	42
4.6	DISCUSSÃO.....	45
4.7	CONCLUSÃO.....	48
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
7.	APÊNDICE.....	62

1. INTRODUÇÃO GERAL

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é uma das hortaliças mais cultivadas e consumidas no mundo, desempenhando papel de destaque tanto na geração de renda para produtores rurais quanto na segurança alimentar das populações. Sua ampla adaptação às diferentes condições edafoclimáticas, bem como sua relevância agroindustrial e nutricional, fazem dessa cultura um pilar importante da horticultura nacional e internacional. No Brasil, sua produção é expressiva e representa uma importante atividade econômica para diversas regiões produtoras, inclusive no estado do Rio de Janeiro.

Apesar do seu potencial produtivo, o cultivo do tomateiro enfrenta sérios desafios fitossanitários, especialmente aqueles causados por patógenos de solo. Entre as doenças mais limitantes, destacam-se a murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*, e a murcha fúngica, provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Ambas comprometem o sistema vascular das plantas, levando à perda de turgidez, ao murchamento e, muitas vezes, à morte da planta. Essas doenças são particularmente problemáticas em regiões tropicais e subtropicais, devido a condições ambientais favoráveis para a multiplicação e persistência desses patógenos no solo.

O manejo eficiente dessas doenças é dificultado pela elevada capacidade de sobrevivência dos patógenos, que apresentam estruturas de resistência e mecanismos como a formação de biofilme, que lhes permitem persistir no solo por anos. Adicionalmente, devem-se considerar as limitações das estratégias químicas de controle, incluindo a falta de produtos químicos registrados, a baixa eficiência, e a ausência de medidas curativas eficazes. Nesse cenário, torna-se essencial compreender o papel da saúde do solo como fator chave na prevenção e mitigação de doenças.

A saúde do solo é definida como a capacidade do solo de sustentar funções ecológicas, produtivas e ambientais de forma contínua. Solos saudáveis abrigam comunidades microbianas diversificadas e funcionais, com capacidade de promover o crescimento vegetal, ciclagem de nutrientes e atuação na supressão natural de doenças. A diversidade microbiana, portanto, desempenha papel central na estabilidade e resiliência dos agroecossistemas, influenciando diretamente a fitossanidade das plantas. Nesse contexto, o controle biológico surge como alternativa sustentável e promissora, especialmente quando aliado à promoção da saúde do solo. A introdução ou estímulo de microrganismos benéficos capazes de antagonizar fitopatógenos, competir por recursos e induzir resistência nas plantas pode reduzir a incidência de doenças e melhorar o desempenho das culturas agrícolas.

Entre os microrganismos mais estudados no contexto do controle biológico e da promoção de crescimento vegetal, o gênero *Pseudomonas* se destaca por sua elevada capacidade de colonização da rizosfera, produção de metabólitos antimicrobianos, solubilização de nutrientes e síntese de fitormônios. Essas bactérias são capazes de atuar tanto na supressão de patógenos como no estímulo do crescimento radicular e da tolerância das plantas a estresses ambientais. Sua versatilidade e adaptabilidade as tornam candidatas ideais para estratégias de manejo biológico integradas e sustentáveis.

Sendo assim, as hipóteses científicas deste trabalho são que: (i) a estrutura da comunidade bacteriana difere significativamente entre solos cultivados com tomates com e sem incidência de murcha bacteriana; e (ii) que isolados bacterianos rizosféricos, especialmente do gênero *Pseudomonas*, apresentam potencial para atuar no controle biológico de patógenos e na promoção de crescimento vegetal.

Assim, os objetivos gerais desta pesquisa foram investigar a diversidade microbiana em solos cultivados com tomateiro sob diferentes condições fitossanitárias e avaliar a capacidade de isolados de *Pseudomonas* no biocontrole de *Fusarium* e promoção de crescimento vegetal.

Diante disso, a presente dissertação foi dividida em capítulos, identificados a seguir:

Capítulo I – Diversidade bacteriana em solos sob cultivo de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) com e sem incidência de murcha bacteriana

Capítulo II – Bioprospecção de *Pseudomonas* para o biocontrole de *Fusarium* e promoção de crescimento de vegetal

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Gerais da Cultura do Tomateiro

O tomateiro, classificado como uma dicotiledônea pertencente à ordem Tubiflorae, família Solanaceae, e à espécie *Solanum lycopersicum*, é uma planta herbácea cujo caule, inicialmente redondo, piloso e macio na fase juvenil, torna-se progressivamente fibroso com o tempo. As folhas são alternadas, compostas, e variam entre 11 e 32 cm de comprimento. As flores, hermafroditas, possuem a capacidade de autopolinização, embora a ocorrência de polinização cruzada também seja possível. Agrupadas em cachos, são pequenas, de coloração amarela, com cálice formado por cinco sépalas e pétalas lanceoladas e largas. Os cachos florais podem ser simples (não ramificados) ou compostos (ramificados). O fruto, do tipo baga carnosa, apresenta dois ou mais lóculos, e as sementes, pequenas e padronizadas, são recobertas por tricomas curtos (GOULD, 1992; FILGUEIRA, 2008; WAHEED et al. 2019).

O tomateiro pode apresentar dois hábitos distintos de crescimento, determinado e indeterminado. No hábito determinado, o crescimento vegetativo é menos vigoroso, as plantas atingem cerca de 1 metro de altura e interrompem o crescimento após a formação de um número definido de inflorescências, apresentando hastes mais uniformes. Essa característica torna esse tipo de planta especialmente adequado à produção agroindustrial. Em contraste, plantas com hábito indeterminado podem alcançar até 2,5 metros de altura, com marcada dominância apical e crescimento vegetativo contínuo, características que favorecem colheitas prolongadas e são mais comuns em cultivos destinados ao consumo *in natura* (FILGUEIRA, 2008).

O tomateiro tem seu centro de origem na costa oeste da América do Sul, abrangendo principalmente regiões do atual Peru, Equador e norte do Chile. A domesticação inicial ocorreu por povos indígenas dessa região, sendo posteriormente aprimorado por civilizações mesoamericanas, como os astecas. Após a colonização das Américas, o tomateiro foi introduzido na Europa, de onde se disseminou amplamente para outras regiões do mundo (FILGUEIRA, 2008 OLIVEIRA JÚNIOR, 2012; ALVARENGA, 2013).

Do ponto de vista agrônomo e comercial, o tomateiro constitui uma das culturas hortícolas de maior importância econômica global, sendo amplamente cultivado em diversos continentes e adaptado a diferentes condições edafoclimáticas (FILGUEIRA, 2008; FAOSTAT, 2022). De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAOSTAT, 2022), a produção mundial de tomate ultrapassou 186 milhões de toneladas no ano de 2022, evidenciando a relevância dessa cultura tanto para a segurança alimentar quanto para o setor agroindustrial.

No Brasil, a cultura do tomate ocupa posição de destaque entre as principais olerícolas, tanto em volume produzido quanto em participação na geração de renda no meio rural. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2024), a produção nacional alcançou cerca de 4,3 milhões de toneladas em 2024, posicionando o país entre os oito maiores produtores e processadores do mundo. Esse desempenho é resultado, em parte, do contínuo avanço tecnológico e da expansão da área cultivada, que apresentou incremento de 8,6% em relação ao ano de 2023 (IBGE, 2024).

Os principais estados produtores são Goiás, que no último ano foi responsável por mais de 30% da produção nacional, com volume superior a 1,4 milhão de toneladas ao ano; São Paulo, com participação de aproximadamente 23,1%, correspondendo a cerca de 1,1 milhão de toneladas; e Minas Gerais, com 12,7% da produção nacional, o que representa cerca de 592,9 mil toneladas anuais (IBGE, 2024). Os maiores valores atribuídos a Goiás e São Paulo se devem, sobretudo, à produção de tomate destinado à indústria (BRASIL, 2025).

Embora o estado do Rio de Janeiro não esteja entre os maiores produtores do país, sua produção correspondeu a 4,2% do total nacional em 2024, aproximadamente 147 mil toneladas,

apresentando expressiva relevância para a economia regional, uma vez que a produção do estado é majoritariamente voltada para o tomate de mesa (EMATER-RIO, 2023). A cultura do tomate nesse estado contribui diretamente para o abastecimento do mercado interno e para o fornecimento de matéria-prima a pequenas indústrias locais, especialmente no processamento de molhos e conservas (IBGE, 2024).

Além disso, o tomate destaca-se entre os principais hortifrútícolos cultivados no Rio de Janeiro, com área plantada de aproximadamente 1.977 hectares em 2025 (IBGE, 2025). As principais regiões produtoras de tomate no estado são a Região Serrana, responsável por aproximadamente 63,9% da produção, a Região Noroeste Fluminense, com 21,9% e o Centro-Sul Fluminense, com 11,5% da produção. Entre os municípios de maior destaque estão Bom Jesus do Itabapoana, Campos dos Goytacazes, Barra Mansa, São José de Ubá e Paty do Alferes, que concentram grande parte da produção estadual de tomate, voltada principalmente para o consumo in natura (EMATER-RIO, 2023; BRASIL, 2023).

O tomate apresenta elevado valor nutritivo e expressiva importância econômica, sendo amplamente cultivada em diversas regiões do mundo. Sua capacidade de adaptação a diferentes condições climáticas favorece a ampla distribuição geográfica da espécie e contribui para alcançar altos níveis de produtividade (RODRIGUES, 2020; DA SILVA, 2023). No entanto, apesar do seu potencial econômico e adaptabilidade, produtores de tomate enfrentam desafios que podem resultar em perdas financeiras e de produtividade significativas. Esses desafios incluem mudanças climáticas súbitas, surgimento de pragas e o aparecimento de doenças causadas por fungos, vírus e bactérias. Em condições favoráveis ao desenvolvimento desses patógenos, algumas doenças, como as que causam murcha podem levar a perdas totais da safra de tomate (LOPES, 2009; QUEZADO-DUVAL e LOURENÇO JUNIOR, 2018).

2.2 Murcha do Tomateiro e Medidas de Controle

Dentre os principais desafios na produção do tomateiro, um dos mais importantes é a murcha da planta. A murcha é caracterizada pela perda da turgidez das folhas de forma temporária ou permanente, e os motivos que levam a esses sintomas podem estar relacionados a déficits hídricos, comprometimento das raízes, salinidade do solo e ou insuficiência na translocação de água devido a comprometimentos do xilema (LOPES, 2022). Os sintomas de murcha podem ser causados por fatores bióticos ou abióticos. No caso do tomate, quando a murcha é provocada por fitopatógenos, na maioria dos casos, esses são patógenos de solos, que atacam diretamente as raízes, o colo ou até mesmo o caule das plantas (LOPES, 2022).

Dentre os principais fitopatógenos de solo associados à murcha do tomateiro, destacam-se bactérias e fungos. Entre as bactérias, os gêneros *Pectobacterium* e *Dickeya* são os agentes etiológicos da doença conhecida como Talo-oco, caracterizada por amarelecimento generalizado, murcha e subsequente morte da planta, em decorrência da necrose do caule. Outra bactéria relevante é *Clavibacter* (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), conhecida por sua alta transmissibilidade e capacidade de causar murcha vascular (BERGAMIN FILHO; KIMATI; AMORIM, 1995; LOPES, 2022). Entre os fungos, *Sclerotium rolfsii* se destaca, com desenvolvimento favorecido por altas temperaturas, promovendo o apodrecimento das raízes e do colo da planta e restringindo a absorção de água, levando à murcha e morte da planta. Outro fungo de importância é *Verticillium dahliae*, causador da murcha de Verticillium, uma doença vascular que também provoca sintomas de murcha nos tomateiros (BERGAMIN FILHO; KIMATI; AMORIM, 1995; LOPES, 2022).

Entre os fitopatógenos de solo que mais limitam a produção de tomate em regiões tropicais e subtropicais estão a bactéria *Ralstonia solanacearum*, causadora da murcha bacteriana, e o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), responsável pela murcha por *Fusarium* na cultura do tomate (BERGAMIN FILHO; KIMATI; AMORIM, 1995; LOPES,

2022). Ambos se destacam pela alta persistência no solo, capacidade de disseminação e significativo impacto econômico (KUROZAWA & PAVAN, 2005; LOPES, 2013). *Ralstonia solanacearum* é uma bactéria Gram-negativa, aeróbia, em forma de bastonete, reta ou ligeiramente curva, pertencente ao complexo de espécies de *Ralstonia solanacearum*. É um patógeno vascular que coloniza preferencialmente os vasos do xilema, penetrando nas raízes por meio de ferimentos ou aberturas naturais. Uma vez estabelecida, a bactéria se multiplica rapidamente e produz lipopolissacarídeos e exopolissacarídeos que se acumulam no interior dos vasos condutores, obstruindo o transporte de água e nutrientes e levando à murcha sistêmica da planta. Os sintomas se manifestam do ponteiro para a base, podendo ainda se apresentar em apenas uma parte da planta (LOPES, 2013; HUET, 2014). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* é um fungo ascomiceto, cosmopolita e saprófita do solo, pertencente à ordem *Hypocreales*, responsável pela murcha vascular do tomateiro. Apresenta micélio hialino e septado, produzindo três tipos principais de esporos, microconídios, macroconídios e clamidósporos, estes últimos atuando como estruturas de resistência, capazes de sobreviver por longos períodos na ausência de hospedeiros (AGRIOS, 2005; LESLIE & SUMMERELL, 2006). Os principais sintomas da infecção pelo FOL incluem o amarelecimento da planta e escurecimento do sistema vascular com subsequente murcha e morte das plantas (LESLIE & SUMMERELL, 2006).

O manejo da murcha causada por esses fitopatógenos é desafiador devido à persistência e à capacidade de sobrevivência prolongada dos patógenos no solo, bem como à limitação da eficácia dos métodos curativos. Além disso, a utilização de produtos químicos disponíveis tem se mostrado pouco eficaz e economicamente inviável, especialmente no caso da murcha bacteriana, sendo agravada pela escassez de produtos químicos registrados para o controle dessas doenças (KUROZAWA & PAVAN, 2005; BRASIL, 2025). Estratégias preventivas e integradas são fundamentais para reduzir a incidência e a disseminação. Entre as principais medidas recomendadas estão a rotação de culturas com espécies não hospedeiras, a escolha criteriosa das áreas de plantio com base no histórico, a solarização do solo, o uso de porta-enxertos e cultivares resistentes, a restrição do trânsito de pessoas e máquinas em áreas infestadas, e a remoção e descarte adequado de plantas infectadas (KUROZAWA & PAVAN, 2005; LOPES, 2009; FELIX; ONYANGO; ELIAZER, 2011).

Nesse contexto, o controle biológico surge como uma alternativa sustentável e promissora, especialmente pela possibilidade de utilizar microrganismos antagonistas para suprimir ou inibir o desenvolvimento dos patógenos no solo. A aplicação desses agentes, quando aliada ao manejo integrado e à promoção da saúde do solo, pode contribuir significativamente para a construção de agroecossistemas mais resilientes e menos dependentes de insumos químicos de baixa eficácia e alto custo (KURABACHEW; WYDRA, 2014; LOPES, 2022).

2.3 Relações entre Fitossanidade, Saúde do Solo, Supressividade e Diversidade Microbiana

O conceito de saúde do solo tem sido amplamente debatido dentro das ciências agrárias, refletindo a preocupação crescente com a sustentabilidade dos sistemas produtivos. Originalmente vinculado à noção de “qualidade do solo”, o termo evoluiu para uma perspectiva mais abrangente, que considera o solo como um ecossistema dinâmico, biologicamente ativo e funcional (DORAN; SARRANTONIO; LIEBIG, 1996; SPOSITO & ZABEL, 2003; MENDES et al, 2018). Mendes et al. (2018) definem saúde do solo como “a capacidade contínua do solo em manter e sustentar funções ecológicas, agrícolas e ambientais, atuando como base para a produtividade vegetal, a ciclagem de nutrientes, o sequestro de carbono, a regulação hídrica e a conservação da biodiversidade edáfica”.

Nesse sentido, a saúde do solo está diretamente relacionada à fitossanidade, pois um solo equilibrado e funcional contribui ativamente para o desenvolvimento vigoroso das plantas e para a redução da incidência de doenças. Solos saudáveis apresentam alta diversidade e abundância de microrganismos benéficos, como bactérias, fungos e actinobactérias, que atuam na mineralização da matéria orgânica, disponibilização de nutrientes e, especialmente, no controle natural de patógenos (MENDES et al., 2011). Esses organismos podem exercer funções antagonistas por meio de competição, antibiose, hiperparasitismo ou indução de resistência sistêmica nas plantas hospedeiras (JAYARAMAN et al., 2021). Por outro lado, solos degradados, seja por uso intensivo de agroquímicos, práticas agrícolas inadequadas, compactação, ou contaminação por resíduos, tendem a perder sua biodiversidade funcional, tornando-se mais suscetíveis à proliferação de fitopatógenos e à manifestação de doenças (JAYARAMAN et al., 2021). Nesses ambientes, a quebra no equilíbrio biológico favorece a dominância de organismos oportunistas ou patogênicos, como a *Ralstonia solanacearum* e o *Fusarium oxysporum* (LIANG et al., 2024).

Assim, solo supressivo, é definido como aquele capaz de limitar a incidência de doenças, mesmo na presença do patógeno, do hospedeiro e de condições ambientais favoráveis à infecção. Essa supressividade pode ser inata, quando está presente de forma natural, ou adquirida, como resultado de práticas agrícolas que favorecem o aumento da atividade microbiana benéfica, como a adição de matéria orgânica, o uso de compostos biológicos e/ou a adoção de sistemas de manejo conservacionistas (BETTIOL et al., 1991). A promoção da supressividade do solo está, portanto, diretamente vinculada à manutenção da saúde do solo e pode ser considerada uma ferramenta estratégica no manejo integrado de doenças, contribuindo para a redução do uso de insumos químicos (MENDES et al., 2011).

Neste contexto, a diversidade microbiana do solo é um indicador essencial de sua saúde. Entretanto, não é apenas a diversidade em si que importa, mas principalmente a composição funcional da comunidade microbiana, ou seja, quais grupos estão presentes e quais funções exercem (WAGG et al., 2014). Um solo pode apresentar alta diversidade, mas ser dominado por microrganismos oportunistas ou ineficazes na supressão de doenças (MENDES et al., 2011). Por outro lado, quando a diversidade está associada à presença de grupos benéficos, há maior probabilidade de o solo resistir a estresses e patógenos. Assim, o estudo da diversidade microbiana deve considerar tanto a riqueza de espécies quanto a identidade e função dos microrganismos presentes, permitindo avaliar a real capacidade do solo de manter processos ecológicos essenciais e de sustentar plantas saudáveis (LIU et al., 2019; VAN DER HEIJDEN et al., 2008). Assim, a diversidade microbiana associada a composição funcional se apresenta como uma ferramenta estratégica para o manejo integrado de doenças.

2.4 Biocontrole Microbiano

O controle biológico é um processo natural que envolve a regulação das populações de plantas e animais por meio de seus inimigos naturais, os quais atuam como agentes de mortalidade. Em todos os ecossistemas, as diferentes espécies de plantas e animais possuem adversários naturais que os atacam em diversos estágios de suas vidas. Esses inimigos naturais englobam uma ampla variedade de grupos, incluindo insetos, vírus, fungos, bactérias, nematoides, protozoários, riquétsias, micoplasmas, ácaros, aranhas, peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos (BETTIOL et al., 1991; SOUZA et al., 2019).

De acordo com as observações de Bettiol (1991), a manifestação de doenças nas plantas resulta de uma complexa interação entre o hospedeiro, o patógeno e uma variedade de organismos não patogênicos presentes no ambiente de infecção, os quais possuem potencial para limitar a atividade do patógeno ou fortalecer a resistência do hospedeiro. Esses componentes, sob a influência do ambiente, operam em conjunto dentro de um sistema

biológico. O controle biológico, tem como objetivo estabelecer e manter um equilíbrio no agroecossistema por meio de práticas específicas, de modo que mesmo na presença do patógeno, o hospedeiro não sofra danos significativos, graças à ação reguladora dos organismos não patogênicos (Bettiol et al., 1991; PARRA, 2014).

O controle biológico pode ser compreendido como uma extensão prática do conceito de solo supressivo. A supressividade está fortemente relacionada a fatores biológicos, como a diversidade e a atividade microbiana presentes no solo. Assim, o controle biológico de patógenos de solo vai além da simples aplicação de agentes específicos, englobando também estratégias que favorecem o estabelecimento de uma comunidade microbiana funcional e protetora, promovendo a resistência natural das plantas ao ataque de patógenos (BETTIOL et al., 2005; SOUZA et al., 2019).

De acordo com Agrios (2005), os mecanismos pelos quais os microrganismos antagonistas afetam a população de patógenos nem sempre são totalmente compreendidos, mas geralmente incluem parasitismo direto, competição por nutrientes e nichos ecológicos, bem como produção de substâncias antibióticas. Os microrganismos antagônicos são considerados eficazes para o biocontrole quando apresentam capacidade competitiva e habilidade de colonização no ambiente onde o patógeno está presente, além de atenderem a requisitos nutricionais semelhantes aos do patógeno e se adaptarem ao seu ambiente específico. Também é importante que sejam resistentes a fatores ambientais como temperatura, dessecação, radiação e produtos químicos, além de apresentarem facilidade de cultivo, multiplicação, aplicação e formulação (BETTIOL, 199; KÖHL et al., 2019).

Além disso, microrganismos ideais não devem ser patogênicos para humanos, animais ou plantas, devem ser capazes de atuar em diversas plantas hospedeiras e contra diferentes patógenos, serem compatíveis com pesticidas em programas de controle integrado e com outros agentes antagonistas em misturas, e apresentarem capacidade de sobrevivência, persistência, redistribuição e baixa taxa de mutação (BETTIOL, 1991, KÖHL et al., 2019).

Diversos microrganismos têm se destacado como agentes eficazes no controle biológico de fitopatógenos e na promoção do crescimento vegetal. Entre os fungos, o gênero *Trichoderma* é reconhecido por atuar como antagonista de patógenos do solo. No grupo dos vírus, destacam-se os baculovírus, utilizados no controle de insetos. E entre as bactérias, os gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* estão entre os principais associados ao controle biológico (MELLO et al., 2020). Bactérias do gênero *Pseudomonas*, além de receberem destaque no controle biológico, são promissoras na promoção de crescimento vegetal (BENITE, 2002; BIESSY et al., 2021; ZHANG et al., 2020).

2.5 *Pseudomonas* no Controle Biológico e Promoção de Crescimento Vegetal

Bactérias do gênero *Pseudomonas* têm recebido destaque devido à sua versatilidade e amplo potencial de aplicação agrícola. O gênero compreende um grupo diverso de bactérias Gram-negativas, com morfologia de bacilos retos ou levemente curvos, móveis por meio de flagelos polares. Essas bactérias não formam esporos, não são encapsuladas e geralmente não apresentam resistência a ácidos. Algumas cepas, especialmente as ambientais ou associadas a tecidos vegetais ou animais, podem produzir muco composto por glicolipoproteínas e polissacarídeos, incluindo lipopolissacarídeos, além de apresentarem estruturas como pili em sua superfície celular (LIANG et al., 2011).

Taxonomicamente, *Pseudomonas* pertence à classe *Gammaproteobacteria*, ordem *Pseudomonadales* e família *Pseudomonadaceae*. A maioria das espécies são saprófitas, amplamente distribuídas em ambientes aquáticos e terrestres, sendo encontradas no solo, em vegetais, na água doce e em locais ricos em matéria orgânica. Entre as espécies mais conhecidas destacam-se *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* e *P. putida*, que representam, respectivamente,

modelos de patogenicidade oportunista, biocontrole de fitopatógenos e promoção de crescimento vegetal (STOVER et al., 2000; PEIX et al., 2009). A alta adaptabilidade ecológica do gênero permite sua sobrevivência em diferentes nichos, inclusive sob condições adversas como a presença de desinfetantes, o que contribui para sua ampla disseminação em ambientes naturais (WHEATER et al., 1980; GROBE et al., 2001).

No contexto do controle biológico, *Pseudomonas* se destaca por sua elevada capacidade de colonização da rizosfera, adaptabilidade aos ambientes edáficos e habilidade para produzir diversos metabólitos secundários com ação direta sobre fitopatógenos. Entre esses compostos destacam-se sideróforos, lipopeptídeos, fenazinas, pirrolnitrina e 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG), que apresentam atividade antimicrobiana contra patógenos como *Phytophthora infestans*, *Streptomyces scabies*, *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea* e *Monilinia fructicola* (NANDI et al., 2017; ZHANG et al., 2020; BIESSY et al., 2021). As fenazinas produzidas por algumas cepas incluem ácido fenazina-1-carboxílico, fenazina-1-carboxamida e derivados hidroxifenazínicos, todos com ação antifúngica relevante (BIESSY et al., 2021). O 2,4-diacetilfloroglucinol, além de sua atividade antibiótica, também atua na modulação da microbiota da rizosfera, contribuindo para a supressão de doenças do solo (ZHANG et al., 2020). Outro aspecto importante é a capacidade de muitas cepas de *Pseudomonas* de induzirem resistência sistêmica em plantas, fortalecendo suas defesas naturais contra estresses bióticos (MEZIANE et al., 2005). Essa indução também pode ser favorecida pela produção de sideróforos, que, além de competirem com os patógenos por ferro, atuam como sinalizadores de respostas de defesa nas plantas (BENITE, 2002; RADZKI et al., 2013; GROßKINSKY et al., 2016; CAULIER, 2018). Adicionalmente, algumas cepas secretam enzimas hidrolíticas com atividade sobre as paredes celulares de fitopatógenos fúngicos e nematoides, contribuindo para sua destruição (NAGARAJKUMAR; BHASKARAN; VELAZHAHAN, 2004).

Na promoção de crescimento vegetal, cepas de *Pseudomonas* apresentam múltiplos mecanismos de ação. Muitas são capazes de solubilizar formas insolúveis de fósforo, potássio e zinco, aumentando a disponibilidade desses nutrientes para as plantas (SARAVANAN; SUBRAMONIAM; RAJ, 2004; AHMAD; KHAN, 2008; SAHA et al., 2016). Além disso, sintetizam diversos fitormônios, como ácido indol-3-acético (AIA), giberelinas, citocininas e ácido salicílico, que modulam processos fisiológicos essenciais ao desenvolvimento vegetal, promovendo alongação celular, crescimento radicular e superação de estresses (IQBAL; HASNAIN, 2013; KANG et al., 2014; GROßKINSKY et al., 2016). A produção da enzima ACC desaminase também é uma característica comum, permitindo à planta regular os níveis de etileno, hormônio associado ao estresse, e com isso melhorar sua tolerância a condições adversas como salinidade, seca e compactação do solo (SARAVANAKUMAR; SAMIYAPPAN, 2004; ALI; SANDHYA; VENKATESWAR, 2014). Esses múltiplos mecanismos tornam o gênero *Pseudomonas* promissores no contexto de uma agricultura sustentável, tanto como agente de biocontrole quanto como bioestimulante.

3. CAPÍTULO I

DIVERSIDADE BACTERIANA EM SOLOS SOB CULTIVO DE TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum*) COM E SEM INCIDÊNCIA DE MURCHA BACTERIANA

3.1 RESUMO

A murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*, é uma das doenças de solo mais destrutivas para o tomateiro, podendo levar rapidamente à morte das plantas e a severas perdas econômicas. Seu manejo é desafiador, pois não há controle químico registrado, e as medidas disponíveis são predominantemente preventivas. Em alguns solos, conhecidos como supressivos, mesmo na presença de patógeno e hospedeiro suscetível, a doença não se estabelece ou ocorre com baixa severidade. Essa supressividade pode estar associada a microbiota do solo, cuja ação pode inibir naturalmente fitopatógenos por mecanismos como produção de compostos antimicrobianos, competição por nutrientes e indução de resistência nas plantas. O objetivo deste capítulo foi avaliar a composição da comunidade bacteriana da rizosfera de plantas de tomate com e sem murcha bacteriana. O estudo foi realizado em duas unidades de produção protegida de tomate em Vassouras-RJ, uma com alta incidência de murcha e outra sem sintomas. Foram coletadas cinco amostras de solo rizosférico de cada unidade de produção. A presença de *R. solanacearum* foi confirmada em plantas sintomáticas através da observação de exsudatos bacterianos, formação de colônias típicas em meio de Kelman e teste de reinoculação em tomateiros suscetíveis. Foi realizada análise química dos solos, o DNA total foi extraído, e o sequenciamento da região V3-V4 do gene *rrs* foi realizado na plataforma Illumina. As sequências foram processadas para controle de qualidade, remoção de quimeras e anotação taxonômica. Foram calculadas métricas de alfa e beta diversidade, abundância diferencial (DESeq2) e redes de coocorrência. As curvas de rarefação indicaram cobertura adequada do sequenciamento. A diversidade alfa foi maior na rizosfera de plantas com murcha. A análise de PCoA indicou separação significativa entre os solos e maior número de SVAs exclusivos na rizosfera de plantas com murcha, indicando reorganização da comunidade em resposta à doença. As famílias *Bacillaceae*, *Fictibacillaceae*, *Nocardiaceae*, *Chitinophagaceae* e *Streptomyetaceae* foram mais abundantes na rizosfera de plantas sem sintomas, possivelmente associadas à supressão natural, enquanto *Pseudomonadaceae*, *Microbacteriaceae*, *Rhizobiaceae* e CSP1-4 predominaram na rizosfera de plantas com murcha. Os teores de nutrientes não diferiram entre os solos, exceto o cálcio, mas as variáveis químicas não explicaram a variação da beta diversidade. As redes de coocorrência revelaram maior conectividade e predomínio de interações negativas na rizosfera de plantas com murcha bacteriana, com centralidade na família *Beijerinckiaceae*, enquanto *Mycobacteriales* e *Burkholderiaceae* foram centrais na rizosfera de plantas sem murcha. Conclui-se que a rizosfera de plantas com e sem murcha apresentaram composição microbiana distinta, com maior presença de famílias potencialmente benéficas na rizosfera de plantas sem sintomas. O conhecimento da composição microbiana de solos com e sem sintomas da murcha é fundamental para identificar táxons com potencial supressivo, e subsidiar estratégias de manejo baseadas na manipulação da microbiota do solo.

Palavras-chave: *Ralstonia solanacearum*. Solos supressivos. Microbiota rizosférica.

3.2 ABSTRACT

Bacterial wilt, caused by *Ralstonia solanacearum*, is one of the most destructive soilborne diseases affecting tomato, capable of rapidly killing plants and causing severe economic losses. Its management is challenging, as no registered chemical control exists, and the available measures are predominantly preventive. In some soils, known as suppressive soils, the disease does not establish or occurs at low severity, even in the presence of the pathogen and a susceptible host. This suppressiveness may be associated with the soil microbiota, which can naturally inhibit phytopathogens through mechanisms such as the production of antimicrobial compounds, competition for nutrients, and induction of plant resistance. The objective of this chapter was to evaluate the composition of the bacterial community in the rhizosphere of tomato plants with and without bacterial wilt. The study was conducted in two protected tomato production units in Vassouras, Rio de Janeiro, Brazil—one with a high incidence of wilt and another without symptoms. Five rhizosphere soil samples were collected from each production unit. The presence of *R. solanacearum* was confirmed in symptomatic plants through the observation of bacterial exudates, formation of typical colonies on Kelman medium, and reinoculation tests in susceptible tomato plants. Soil chemical analyses were performed, total DNA was extracted, and sequencing of the V3–V4 region of the *rrs* gene was carried out using the Illumina platform. Sequences were processed for quality control, chimera removal, and taxonomic annotation. Alpha and beta diversity metrics, differential abundance (DESeq2), and co-occurrence networks were calculated. Rarefaction curves indicated adequate sequencing coverage. Alpha diversity was higher in the rhizosphere of wilted plants. Principal Coordinates Analysis (PCoA) revealed significant separation between soils and a greater number of unique ASVs in the rhizosphere of wilted plants, indicating community reorganization in response to the disease. Families such as *Bacillaceae*, *Fictibacillaceae*, *Nocardiaceae*, *Chitinophagaceae*, and *Streptomycetaceae* were more abundant in the rhizosphere of asymptomatic plants, possibly associated with natural suppression, whereas *Pseudomonadaceae*, *Microbacteriaceae*, *Rhizobiaceae*, and CSP1-4 predominated in the rhizosphere of wilted plants. Nutrient contents did not differ between soils, except for calcium, and chemical variables did not explain beta diversity variation. Co-occurrence networks revealed higher connectivity and a predominance of negative interactions in the rhizosphere of plants with bacterial wilt, with centrality of *Beijerinckiaceae*, while *Mycobacteriales* and *Burkholderiaceae* were central in the rhizosphere of asymptomatic plants. In conclusion, the rhizosphere of plants with and without wilt exhibited distinct microbial compositions, with a higher presence of potentially beneficial families in the rhizosphere of asymptomatic plants. Knowledge of the microbial composition in soils with and without wilt symptoms is essential for identifying taxa with suppressive potential and for supporting management strategies based on soil microbiota manipulation.

Key words: *Ralstonia solanacearum*. Suppressive soils. Rhizosphere microbiota.

3.3 INTRODUÇÃO

A murcha bacteriana é uma das mais destrutivas doenças de solo que afetam o cultivo de tomate (LOPES et al., 2022). É causada pelo patógeno *Ralstonia solanacearum*, bactéria gram-negativa que possui flagelos, e elevada capacidade de sobrevivência no solo. A infecção provoca o bloqueio dos vasos do xilema das plantas, e a severidade dos sintomas varia de acordo com a virulência da cepa, a tolerância da planta hospedeira e as condições climáticas. O ataque pelo fitopatógeno resulta na murcha e colapso dos tecidos, podendo levar à morte das plantas em poucos dias. Em áreas acometidas por este patógeno, há grandes perdas na produção, pois as plantas doentes, quando não morrem, apresentam redução significativa de produtividade. Como consequência, os produtores sofrem grandes perdas econômicas (ALBUQUERQUE et al., 2021).

O manejo da doença é algo complexo, pois não existe tratamento de remediação eficaz para o patógeno. Recomenda-se a adoção do manejo integrado, com foco em práticas preventivas, como evitar áreas com histórico de murcha, utilizar variedades tolerantes, realizar desinfecção de instrumentos e maquinários, evitar o plantio em épocas quentes e chuvosas e utilizar agentes biológicos no controle (LOPES et al, 2014). Vale ressaltar que não há controle químico registrado para o fitopatógeno. Dessa forma, o emprego do controle biológico associado as demais técnicas de manejo integrado, apresenta-se como uma alternativa promissora (BRASIL, 2025).

Solos supressivos são solos nos quais a incidência ou a severidade de doenças permanecem baixas, apesar da presença de um determinado patógeno, sua planta hospedeira suscetível e condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento de doenças (BAKER; COOK, 1974). Neste contexto, existem solos em que a presença e ou atividade deste e de outros fitopatógenos é naturalmente limitada pela biota do solo. Esses solos, possuem uma comunidade microbiana diversa e equilibrada, que pode promover a inibição de fitopatógenos e ou seus efeitos (WELLER et al. 2002). Diversos mecanismos podem promover a inibição desses fitopatógenos, como a produção de compostos antimicrobianos, a competição por nutrientes e a indução de resistência nas plantas hospedeiras (BETTIOL et al, 2005).

Com base nas informações apresentadas, nota-se a importância de identificar táxons microbianos que possam estar envolvidos na supressão da doença, sendo um passo inicial o conhecimento da composição microbiana de solos onde as plantas não apresentaram sintomas de murcha bacteriana, em comparação com solos onde a doença esteve presente. Isso pode, a longo prazo, fornecer subsídios para a manipulação da comunidade microbiana com o objetivo de suprimir a doença de forma ecológica e eficiente. Com base nisso, foi utilizado o sequenciamento parcial do gene *rrs*, que codifica o 16S rRNA, para avaliar as diferenças na comunidade bacteriana em solos rizosféricos de plantas de tomate com e sem murcha bacteriana.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Caracterização da Área de Estudo

Duas unidades de produção protegida de tomate foram selecionadas para este estudo. Ambas estão localizadas na cidade de Vassouras, no estado do Rio de Janeiro, em uma altitude de 460 metros acima do nível do mar, no Vale do Paraíba (Figura 1). Suas coordenadas geográficas são aproximadamente latitude 22° 22' 4,65" S e longitude 43° 30' 52,05" W. Segundo o modelo de Koppen o clima da região é classificado como Cfa, tropical úmido, com temperatura média anual de 21 °C e pluviosidade média anual de 1594 mm (CLIMADATA, 2024). O solo desta área foi classificado originalmente como Argissolo Vermelho – Amarelo Eutrófico (CARVALHO FILHO et al., 2024).

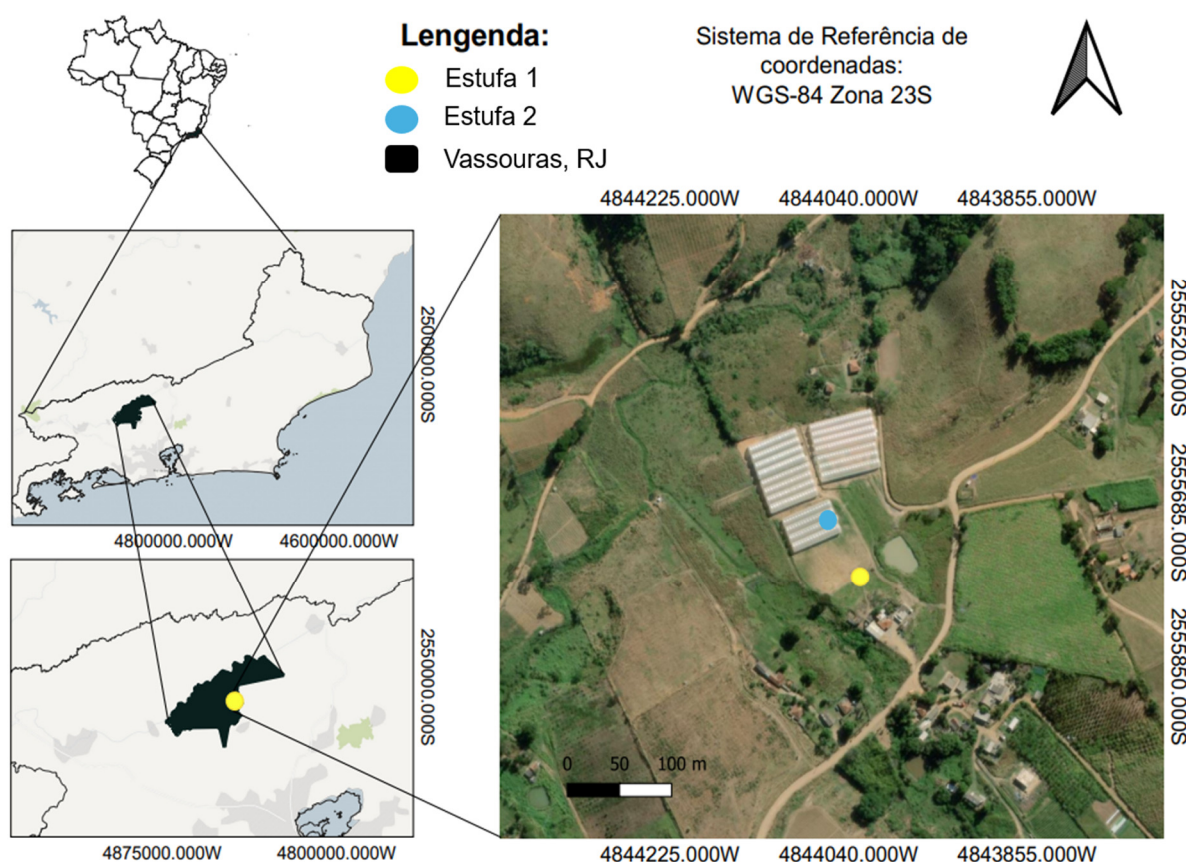


Figura 1. Mapa georreferenciado do município de Vassouras, no estado do Rio de Janeiro, com destaque para a localização exata da Unidade de Produção Protegida de tomate 1 (Amarelo) e 2 (Azul) onde foram coletadas as amostras de solo utilizadas neste estudo.

Cada uma das unidades abrange uma área de 1536 m², comportando um total de 3500 plantas de tomate. O sistema de irrigação adotado é de fertirrigação, utilizando adubos formulados NPK 30-15-30 ao longo de todo o ciclo da cultura. O controle de plantas daninhas é realizado de maneira mecânica, enquanto o controle de pragas e doenças é conduzido por meio de métodos químicos. Antes do plantio, ambas as unidades passaram por uma correção de solo, utilizando 1040 kg/ha de calcário. A unidade de produção 1, estava no primeiro ciclo de plantio, as plantas estavam com 64 dias de transplantadas, e não apresentaram sintomas visíveis de murcha bacteriana por todo o ciclo. Por outro lado, a unidade de produção 2, estava no

segundo ciclo de plantio, as plantas estavam com 110 dias de transplantadas, aproximadamente 70% delas apresentavam sintomas de murcha bacteriana ou já estavam mortas devido a essa enfermidade, e havia alta infestação com plantas espontâneas (Figura 2). O sistema de plantio empregado em ambas as estufas constituiu do uso de mudas enxertadas, empregando o porta enxerto “Shincheonggang” e a parte aérea da cultivar “Vero HS” (Horticeres®).

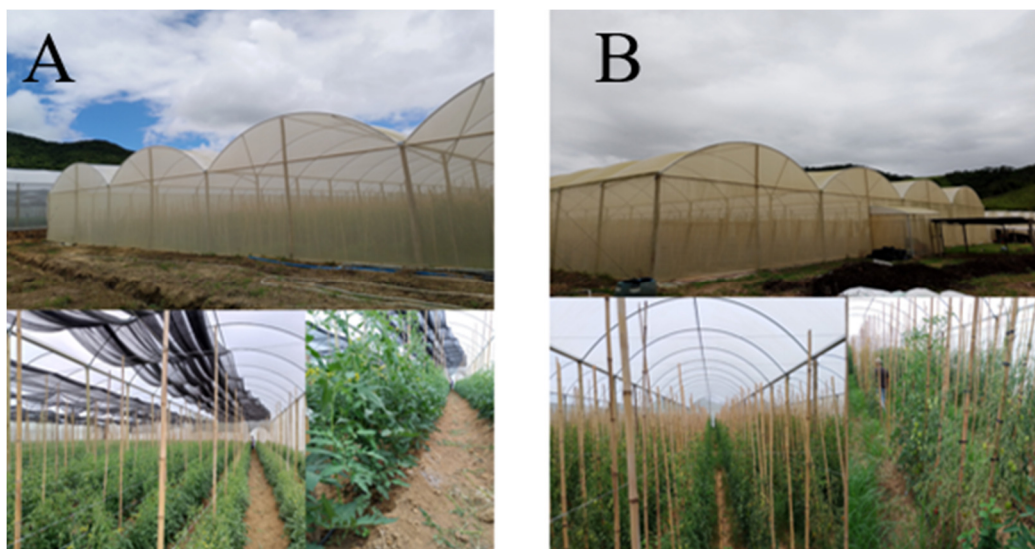


Figura 2. Área de coleta das amostras de solos. (A) Unidade de produção protegida 1, com plantas de tomateiro, sem sintomas de murcha bacteriana; (B) Unidade de produção protegida 2, com plantas apresentando sintomas característicos de murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*. Fonte: Acervo pessoal.

3.4.2 Amostragem do Solo

As coletas de solo foram realizadas em 22 de janeiro de 2024. Em cada unidade de produção, a área foi dividida em cinco blocos (Figura 3) e, em cada bloco, coletou-se solo rizosférico de três plantas, que foi homogeneizado para formar uma amostra composta, totalizando cinco amostras compostas por unidade. Na unidade de produção 1, as coletas foram feitas de plantas sem sintomas de murcha bacteriana, enquanto, na unidade de produção 2, foram priorizadas plantas que apresentavam mais de 75% de sintomas da murcha bacteriana, avaliados visualmente com base na escala de severidade adaptada de Winstead & Kelman (1952). Os sintomas considerados incluíram murcha parcial ou total da parte aérea, amarelecimento foliar, escurecimento vascular e, em casos avançados, necrose generalizada. A porcentagem de severidade foi estimada considerando a proporção da copa afetada em relação ao total da planta. Segundo a escala de severidade de Winstead & Kelman (1952), plantas são classificadas como saudáveis (0%), com sintomas leves (até 25% da copa afetada, murcha restrita a poucas folhas basais), moderados (26–50% da copa afetada), severos (51–75% da copa afetada) ou extremamente severos (>75% da copa afetada, geralmente com colapso quase total da parte aérea).

A coleta do solo rizosférico foi feita com o auxílio de uma pá, retirando-se porções de raízes com o solo aderido. As amostras foram acondicionadas em sacos, homogeneizadas e devidamente identificadas. No laboratório, as raízes foram separadas e o solo aderido a elas foi removido manualmente, utilizando luvas e assepsia com álcool 70%, sendo posteriormente armazenado em microtubos no freezer a -20 °C.

Para confirmação do agente causal da murcha das plantas coletadas na unidade de produção 2, foi coletada uma planta sintomática por bloco, totalizando 5 amostras, as quais

foram encaminhadas ao Laboratório de Epidemiologia de Sementes da UFRRJ. O diagnóstico seguiu as etapas recomendadas por Lopes & Rossato (2013), iniciando pelo teste do copo-d'água, no qual um segmento de aproximadamente 5 cm da base do caule foi parcialmente submerso em recipiente transparente contendo água limpa para observação da presença de exsudato bacteriano. Em seguida, o exsudato foi cultivado em meio de Kelman e incubado a 28 °C por 48 h, para avaliação do crescimento de colônias características do patógeno. Por fim, a confirmação da patogenicidade foi realizada por meio de reinoculação em tomateiros suscetíveis, utilizando ferimento do caule com alfinete esterilizado embebido em suspensão bacteriana, sendo monitorado o desenvolvimento de sintomas típicos de murcha bacteriana.

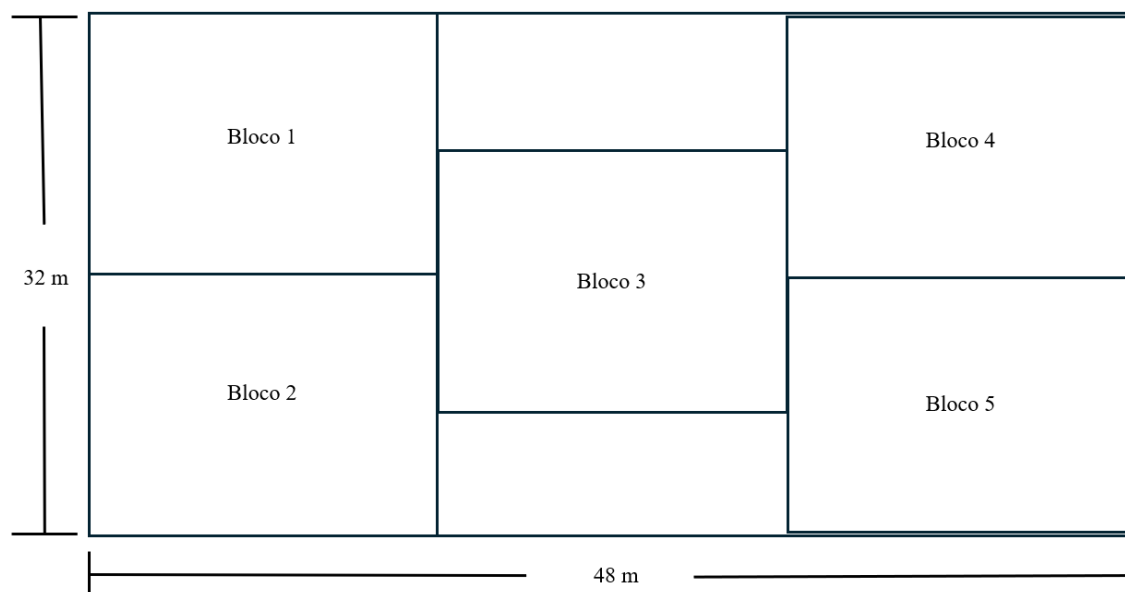


Figura 3. Croqui das unidades de produção com suas respectivas dimensões e a divisão interna em blocos utilizada para a coleta de amostras de solo rizosférico.

3.4.3 Caracterização Química do Solo

Os teores de Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} trocáveis foram determinados após extração com solução de KCl 1 mol L^{-1} e quantificados via titulação. Os teores de P disponível, K^{+} e Na^{+} trocáveis foram extraídos com solução Mehlich-1. O P foi quantificado por colorimetria, e o K e o Na, por fotometria de emissão de chamas. O carbono orgânico total foi determinado pelo método de oxidação úmida com dicromato de potássio, seguido de titulação com sulfato ferroso amoniacal, segundo Yeomans & Bremner (1988). A acidez total ($\text{H}^{+} + \text{Al}^{3+}$) foi estimada por extração com solução de acetato de cálcio 0,025 mol L^{-1} , e pH foi medido em suspensão solo:água. A capacidade de troca catiônica (CTC) foi calculada segundo metodologia descrita por Embrapa (1997).

3.4.4 Estudo de Diversidade Bacteriana

A extração do DNA total dos solos foi realizada com o kit de extração DNeasy PowerSoil Kit (QIAGEN, Inc., Netherlands), seguindo o protocolo do fabricante. A integridade do DNA total foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8%.

Para avaliação da fração bacteriana foi utilizado como alvo, a região variável V3-V4 do 16S rRNA, através dos primers Bakt_341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) e Bakt_805R (GACTACHVGGGTATCTAATCC). O sequenciamento em um sistema paired-end 2x250 na

plataforma NovaSeq (Illumina, EUA) foram realizados na Novogene Inc. (www.novogene.com).

Para a análise de bioinformática, a aferição inicial da qualidade dos dados sequenciados, foi utilizado o programa "FastQC" (v.0.11.9; Andrews, 2010). Adicionalmente, as bibliotecas foram submetidas as funções "fastx_info" e "fastq_eestats2", do programa "USEARCH" (v.11.0.667; Edgar, 2010), onde foi constatada a distribuição de qualidades, tamanhos de sequência e erros esperados. Neste mesmo programa, foi utilizado a função "search_oligodb", fornecendo como parâmetros as sequências do par de primers utilizado no sequenciamento de modo a detectar a presença e posição desses nas leituras. Em seguida, foi realizado a remoção dos primers com o programa "Atropos" (v.1.1.31; Didion et al., 2017), filtrando sequências cujos primers não estavam presentes ("--discard-untrimmed"). A porção final das sequências foram podadas de modo a assegurar uma melhor qualidade. Para isso, foi utilizado o programa "Fastp" (v.0.23.2; Chen et al., 2018) de modo a remover até 20 ("--max_len1 230") e 30 ("--max_len2 220") bases finais de baixa qualidade das bibliotecas *forward* e *reverse*, respectivamente. Além disso, leituras completas cuja média total do Phred Score (Q) fosse inferior a Q20 foram removidas ("--average_qual 20"). Por fim, os pares de bibliotecas foram fundidas por sobreposição, através do programa "Flash" (v.1.2.11; Magoc & Salzberg, 2011), aceitando uma sobreposição mínima de 10 bases ("--min-overlap 10").

As leituras fundidas com tamanhos entre 390 e 430 bases foram submetidas ao pipeline "DADA2" (Callahan et al., 2016). Para isso, foi utilizado o pacote "dada2" (v.1.22.0) do programa estatístico "R" (v.4.1.2; R Core Team, 2021). Inicialmente, as leituras foram filtradas pela função "filterAndTrim", considerando um erro esperados de 4 ("maxEE = 4"). Em seguida, a probabilidades de erros foi estimada em bases ("learnErrors") e, então, corrigida as sequências com base no modelo obtido ("dada"). Dessa forma, foram designadas as Sequências Variantes de Amplicons (SVAs) presentes em cada amostra, as quais foram investigadas e filtradas quanto a presença de possíveis sequências quiméricas ("removeBimeraDenovo"). As SVAs foram anotadas taxonomicamente contra o banco de dados de sequências-referências SILVA (v.138; Quast et al., 2012), com suporte adicional dos bancos RDP (v.18; Cole et al. 2013) e GTDB (v.202; Parks et al. 2022) para detecção de contaminantes. Foram filtradas SVAs não-anotadas como bactérias ou arqueias, bem como aquelas cuja anotação remetia a cloroplastos ou mitocôndrias. Além disso, SVAs prevalentes em apenas uma única réplica, foram desconsideradas.

As contagens e anotações taxonômicas das SVAs foram exportadas no formato "phyloseq" (Pacote R "phyloseq"; v.1.38.0; McMurdie & Holmes, 2013), o qual foi, posteriormente, transformado em dados composicionais ("method = 'total'") pela função "phyloseq_standardize_otu_abundance" do pacote R "metagMisc" (v.0.04; Mikryukov, 2019).

Para as análises descritivas e estatísticas do microbioma, a avaliação da efetividade da amostragem foi inferida pela obtenção das curvas de rarefação, pela análise "amp_rarecurve" do pacote R "ampvis2" (v.2.7.17; Andersen et al., 2018). A avaliação dos táxons diferencialmente abundantes permite identificar aqueles cuja presença for significativamente superior em um tratamento quando comparado com os demais. Para isso, foi utilizado a abordagem do "DESeq2" (pacote R v.1.34.0; Love et al., 2014), a qual compara as médias com base em um modelo binomial-negativo, por meio do teste Wald (p-valor ajustado < 0.05). As representações gráficas das análises supracitadas foram feitas no "R", por meio do pacote "ggplot2" (v.3.3.6; Kassambara, 2017).

As correlações entre as propriedades do solo com a microbiota, foram obtidas levando em consideração os níveis taxonômicos de Filo e Família. Os coeficientes de Pearson foram calculados entre cada táxon e propriedade do solo, com a função "corr.test" do pacote R "psych", e plotadas na forma de um heatmap.

Para a caracterização da diversidade estruturada da comunidade e das redes de coocorrência, a alfa diversidade foi estimada a partir da riqueza observada e de índices de diversidade (Shannon e Gini-Simpson). As métricas obtidas foram comparadas estatisticamente por meio do teste de Wilcoxon rank-sum para comparar dois grupos. Adicionalmente, esse mesmo teste foi aplicado para avaliar diferenças na abundância do gênero *Ralstonia* dentro da família *Burkholderiaceae*. A beta diversidade foi analisada pelo cálculo das dissimilaridades de Bray-Curtis, seguido de PERMANOVA para verificar diferenças entre tratamentos ($p\text{-valor} \leq 0,1$) e análise post-hoc para identificar quais tratamentos divergiram entre si ($p\text{-valor} \leq 0,1$). Para reduzir a dimensionalidade das distâncias, utilizou-se a Análise de Coordenadas Principais (PCoA), cujos eixos foram empregados na construção de gráficos. Além disso, em relação à diversidade, foram construídos diagramas de Venn e realizada análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP), complementando a avaliação. Por fim, as características estruturais das comunidades microbianas foram exploradas por meio de redes de coocorrência.

3.5 RESULTADOS

Os sintomas de murcha observados nas plantas sintomáticas foram associados à presença de *Ralstonia solanacearum*. A confirmação da presença da bactéria ocorreu pela observação da presença de exsudato bacteriano no teste do copo-d'água, pelo desenvolvimento de colônias típicas do patógeno em meio de Kelman e pela manifestação de sintomas característicos de murcha bacteriana em tomateiros reinoculados com as cepas isoladas.

O cálcio foi o único elemento que apresentou diferença estatisticamente significativa entre os solos rizosféricos, com maior concentração na rizosfera de plantas sem sintomas de murcha bacteriana (5,49 cmolc/dm³) em relação às com sintomas (4,51 cmolc/dm³).

Tabela 1. Tabela de atributos químicos da rizosfera de plantas com e sem sintomas de murcha bacteriana

Rizosfera	Na	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	H+Al ³⁺	S	T	pH	P	V	MO
	cmol _a ·dm ⁻³ ;							H ₂ O (1:2,5)	mg·dm ⁻³	%	
S*	0,456 a	5,3 a	0,8 a	0,068 a	1,0 a	6,6 a	7,6 a	6,7 a	123,2 a	86 a	1,1 a
D	0,304 a	4,94 b	0,76 a	0,062 a	1,1 a	6,1 a	7,2 a	6,4 a	134 a	85 a	1,4 a

S*= Rizosfera de plantas sem sintomas de murcha bacteriana; D = Rizosfera de plantas com sintomas de murcha bacteriana; S = Soma de bases trocáveis; T = Capacidade de troca de cátions; V = Saturação por bases; MO = Matéria orgânica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05). Os valores representam a média de três repetições.

Em relação a análise de componentes principais, os dois primeiros eixos da análise explicaram 17,9% (CAP1) e 10,9% (CAP2) da variação total. No entanto, os resultados do teste de permutação (ANOVA) aplicado à matriz de distâncias indicaram que a separação entre os grupos não foi estatisticamente significativa (F = 0,69; p = 0,91) (Figura 4).

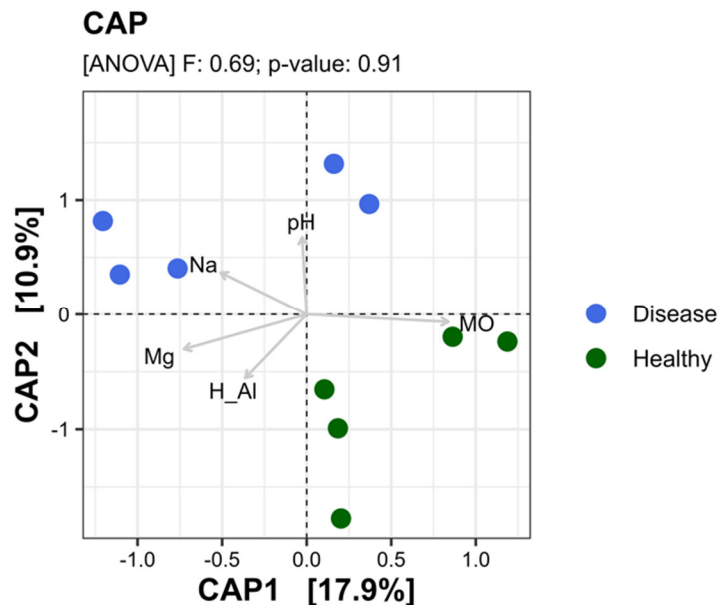


Figura 4. Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP) baseada em variáveis químicas da rizosfera de plantas com (*disease*, Azul) e sem (*healthy*, Verde) sintomas de murcha bacteriana.

As curvas de rarefação (Figura 5) indicaram que as profundidades de sequenciamento foram suficientes para a análises subsequentes. Houve diferenças significativas na diversidade

alfa entre os solos rizosféricos das plantas de tomateiro com e sem murcha bacteriana (Figura 6). Os índices de riqueza, Shannon e Gini-Simpson apresentaram valores significativamente maiores nas rizosferas de plantas que apresentavam a doença, indicando uma maior diversidade microbiana nesses ambientes.

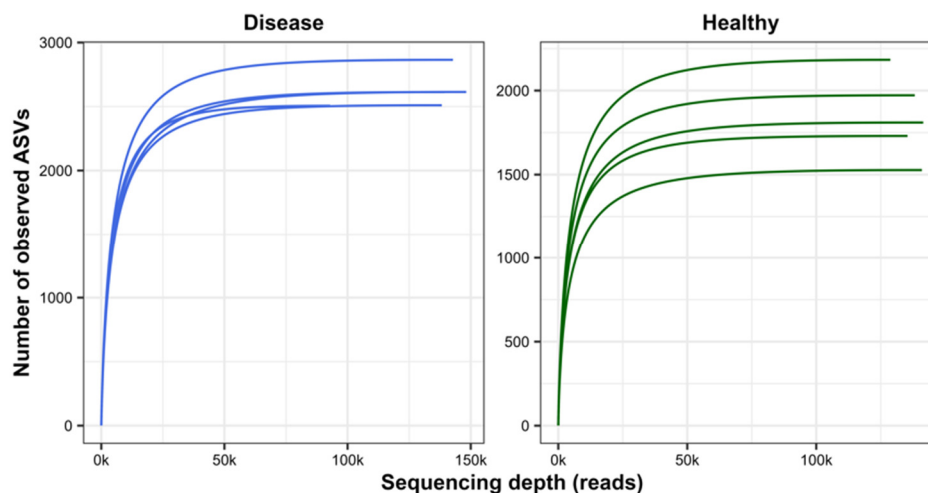


Figura 5. Curvas de rarefação mostrando o número de SVAs observados em função da profundidade de sequenciamento (número de leituras) da rizosfera de plantas com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana.

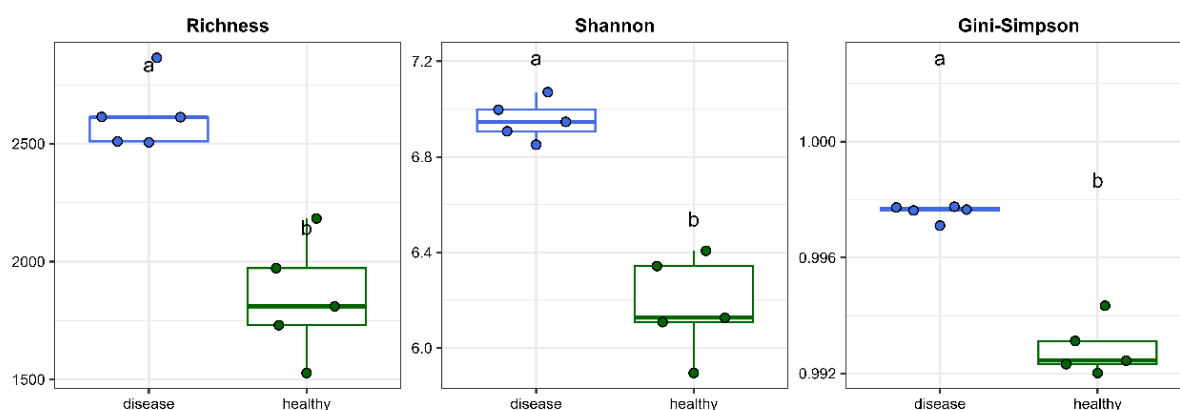


Figura 6. Comparação dos índices de diversidade alfa da comunidade bacteriana na rizosfera de tomateiros com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana. As caixas representam o intervalo interquartil, as linhas horizontais os valores medianos e os pontos os valores individuais por amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Wilcoxon rank-sum para comparar dois grupos.

Observou-se uma separação entre as comunidades bacterianas da rizosfera de tomateiros com e sem murcha bacteriana na Análise de Coordenadas Principais (PCoA), baseada na distância de Bray-Curtis (Figura 7). Os eixos PCoA1, PCoA2 e PCoA3 explicaram, respectivamente, 37,9%, 16,57% e 12,2% da variação nos dados, totalizando aproximadamente 66,7% da variabilidade. A separação mais evidente foi observada ao longo do eixo PCoA1 (Figura 8). A análise estatística PERMANOVA indicou diferença significativa entre os grupos avaliados, com valor de $F = 4,369$, $R^2 = 0,353$ e $p = 0,011$, confirmando diferença na composição das comunidades bacterianas entre a rizosfera de plantas afetadas pela murcha bacteriana e os sem sintomas.

Foram identificados um total de 6352 Amplicon Sequence Variant (SVAs). O número de SVAs compartilhada entre a rizosfera de plantas com e sem sintomas de murcha foi de 3229. A rizosfera de plantas com sintomas exibiu 2052 e a sem sintomas 1071 SVAs únicas (Figura 8).

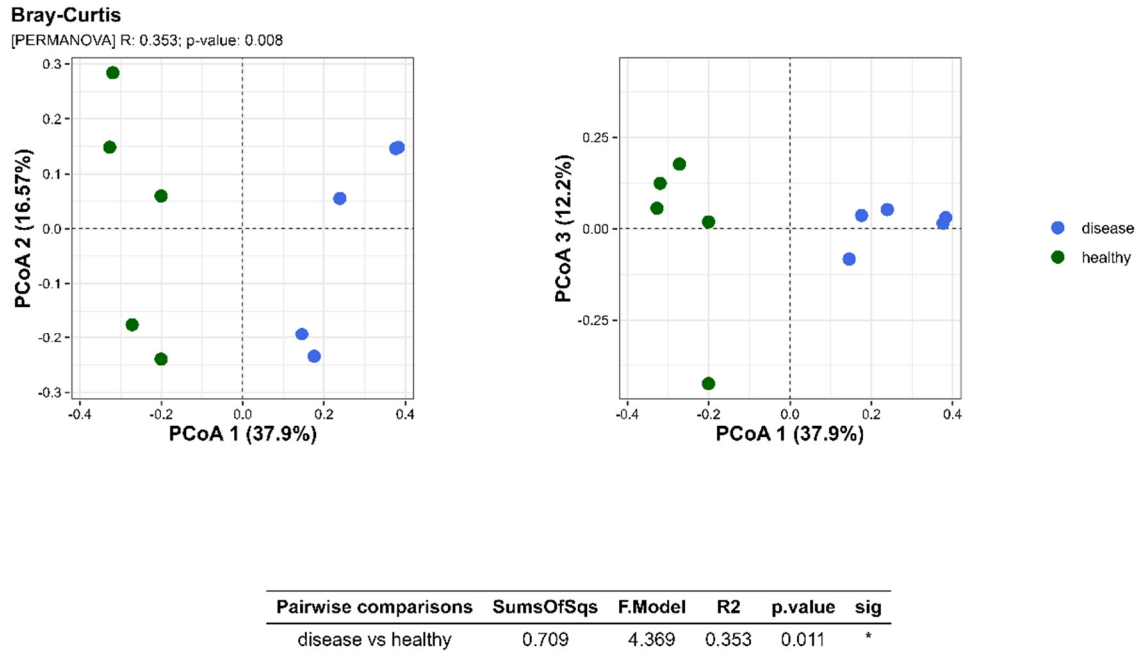


Figura 7. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância de Bray-Curtis, representando a dissimilaridade na composição da comunidade bacteriana entre a rizosfera de tomateiros com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana.

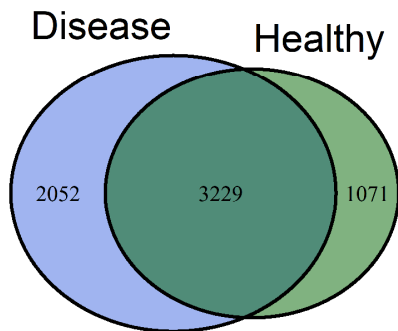


Figura 8. Diagrama de Venn representando o número de Amplicon Sequence Variants (SVAs) compartilhadas e únicas entre a rizosfera de plantas de tomateiro com e sem sintomas de murcha bacteriana.

Em relação a abundância de bactérias nos solos, observou-se predominância de famílias pertencentes aos filos Proteobacteria, Actinobacteriota e Firmicutes, no entanto, a proporção relativa e a abundância diferencial dessas famílias variaram entre os solos (Figura 9A e 9B). A análise de abundância relativa indicou maior abundância das famílias *Bacillaceae* G, DSM-18226 e *Nocardiaceae* na rizosfera de plantas sem murcha (Figura 9A). Esses dados foram corroborados pela análise estatística de abundância diferencial, que revelou que 13 famílias apresentaram diferenças significativas (ajuste de $p < 0,05$) entre os solos (Figura 9 B).

Houve maior abundância diferencial das famílias *Fictibacillaceae*, *DSM-1321*, *DSM-18226*, *Bacillaceae* G, *Nocardiaceae*, *Chitinophagaceae*, *Burkholderiaceae*, *Dermatophilaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Streptomycetaceae*, *Micromonosporaceae* e *Gaellaceae* na rizosfera de plantas sem murcha. Já as famílias mais abundantes associadas a rizosfera de plantas com murcha bacteriana, incluíram *Rhizobiaceae*, *CSP1-4*, *Microbacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* (Figura 9 B).

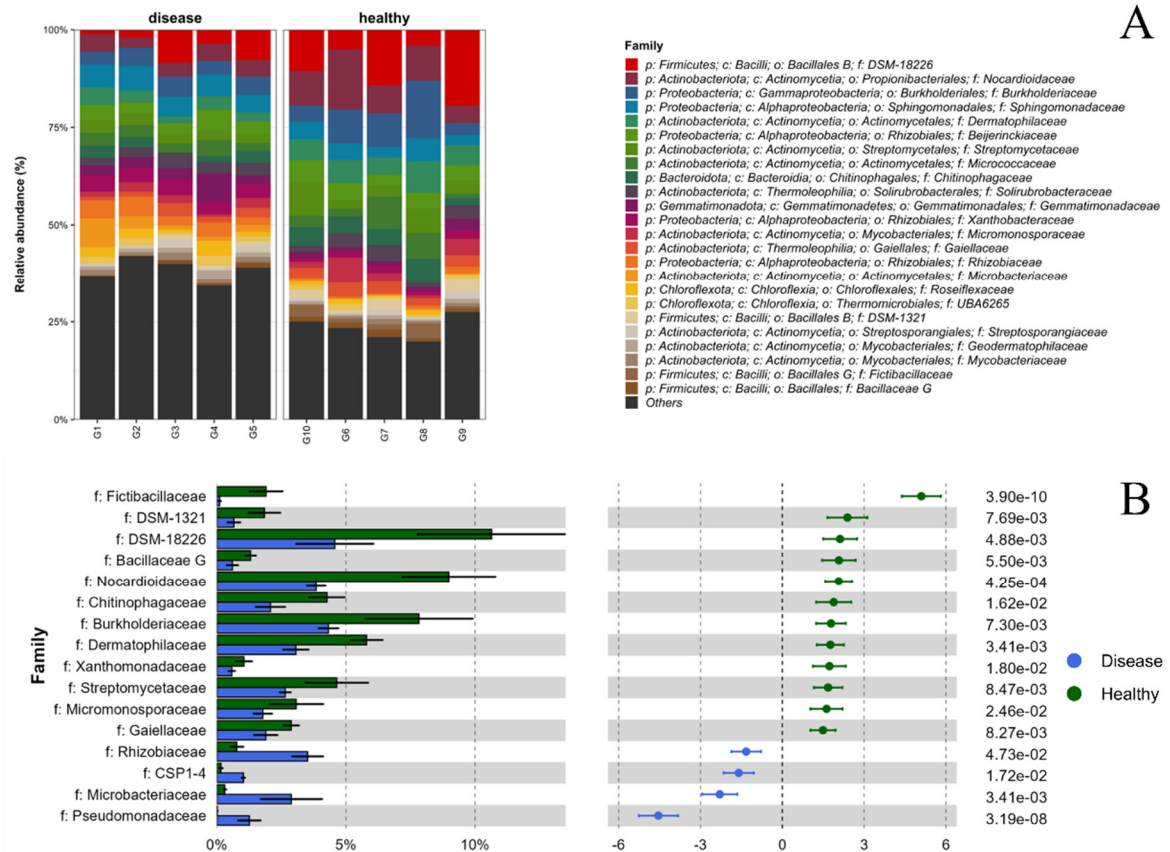


Figura 9. (A) Abundância relativa e (B) análise de abundância diferencial (Log2 Fold Change) das famílias bacterianas na rizosfera de plantas com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana.

Dentro da família *Burkholderiaceae*, a abundância relativa mostrou que, nos solos rizosféricos de plantas sem murcha, os gêneros mais representativos foram *Ramlibacter*, *Massilia*, *Mitsuaria*, *Noviherbaspirillum* e *Acidovorax*. Já nos solos de plantas com murcha, destacaram-se *Rhizobacter*, *Ralstonia*, *Ramlibacter* e *Massilia*. O gênero *Ralstonia*, reconhecido como agente causal da murcha bacteriana, esteve presente na rizosfera de plantas com e sem sintomas da doença, porém com abundância relativa significativamente maior nos solos com plantas doentes (Figura 10).

A rede de coocorrência da rizosfera de plantas com murcha bacteriana apresentou 178 nós e 1330 conexões (arestas), enquanto a rede da rizosfera de plantas sem murcha apresentaram 164 nós e 1040 conexões. A maior conectividade da rizosfera de plantas com murcha foi acompanhada de um maior número de arestas negativas (216 vs. 156) (Figura 8). Os SVAs com maior centralidade na rizosfera de plantas com murcha bacteriana pertencem a família *Beijerinckiaceae* (*Rhizobiales*), e na rizosfera de plantas sem murcha, à uma família não identificada pertencente a ordem *Mycobacteriales*. O ASV com maior grau na rede de plantas com murcha bacteriana foi da família *DSM-18226* (30 conexões), enquanto a família

Burkholderiaceae (22 conexões) liderou na rede de plantas sem a presença da doença. Além disso, a rede da rizosfera de plantas sem murcha apresentou mais pontos de articulação (6 vs. 2), sugerindo maior fragilidade estrutural em caso de perda de nós centrais. Em ambas as redes, os filos *Proteobacteria*, *Actinobacteriota* e *Firmicutes* formaram a maior parte dos nós e das interações. A visualização gráfica mostra redes altamente integradas, com predominância de interações positivas (linhas azuis), mas com destaque para zonas locais de maior competição (linhas vermelhas) na rizosfera de plantas com murcha.

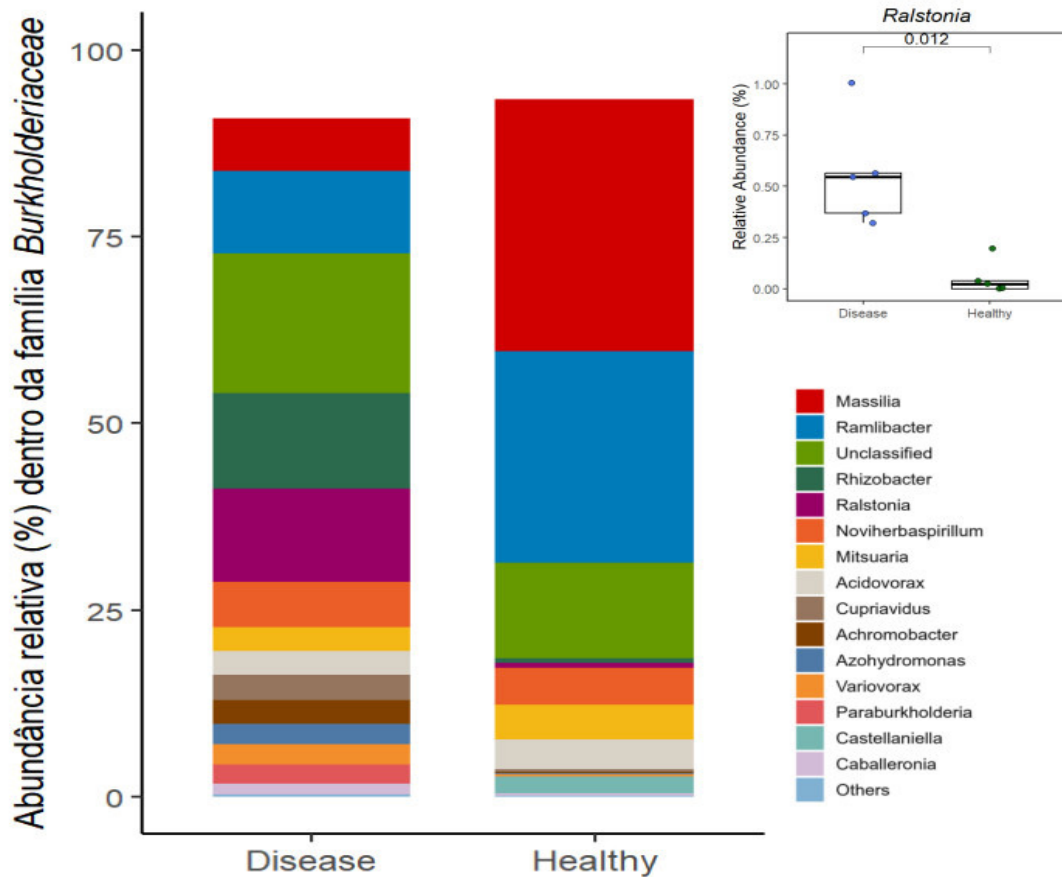


Figura 10. Abundância relativa dos gêneros pertencentes à família *Burkholderiaceae* na rizosfera de plantas de tomateiro com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana.

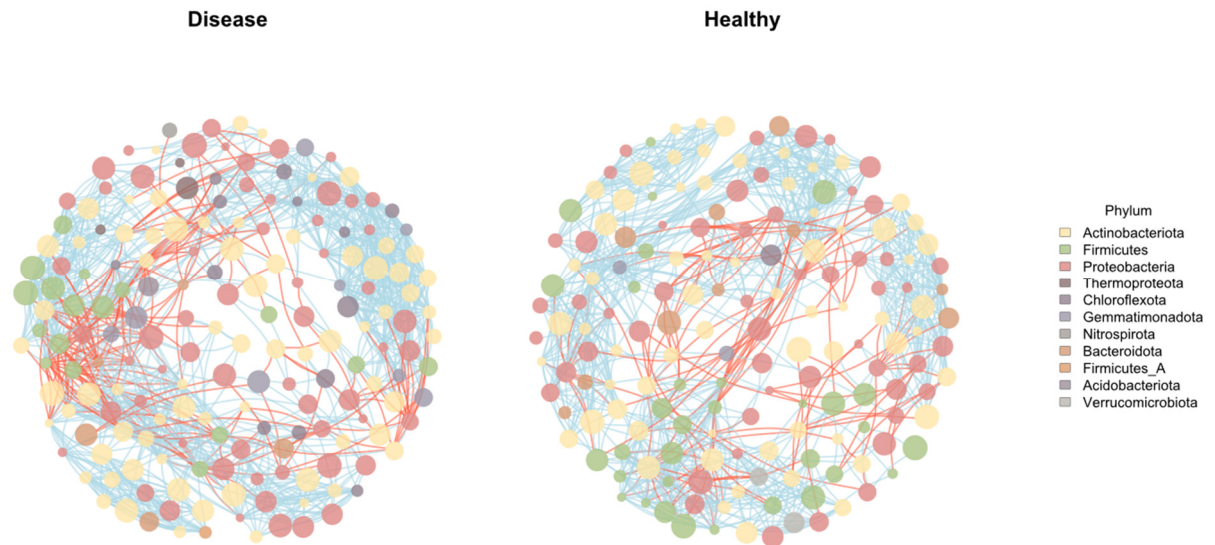


Figura 11. Redes de coocorrência microbiana da rizosfera de plantas com (*disease*) e sem (*healthy*) sintomas de murcha bacteriana. Cada nó representa um ASV, colorido de acordo com o filo taxonômico. As conexões indicam interações entre os microrganismos, sendo linhas vermelhas representando correlações negativas e linhas azuis correlações positivas.

3.6 DISCUSSÃO

No presente estudo, a rizosfera de plantas com murcha bacteriana apresentou maiores quantidade de SVAs únicas e maiores valores significativos de diversidade alfa (Figura 6, Figura7) em relação a rizosfera de plantas sem sintomas de murcha bacteriana. Esses resultados contrastam com estudos anteriores que relatam redução da diversidade microbiana em solos que apresentavam plantas doentes, como discutido por Jiang et al. (2023) em arroz e Cai et al. (2021) em tabaco. Por outro lado, Yang e colaboradores (2017) avaliaram a comunidade bacteriana em solos com plantio de tabaco em 15 localidades. Tais plantações apresentavam diferentes níveis de doença da murcha. Os autores concluíram que solos supressivos de doenças são caracterizados pela presença de microrganismos benéficos e redes ecológicas complexas, embora o índice de diversidade de Shannon não tenha apresentado correlação negativa significativa com a taxa de infecção (Pearson = -0,485; $p = 0,067$). Além disso, os índices de diversidade de Simpson e de equitabilidade de Pielou também não diferiram entre os locais, sugerindo níveis similares de diversidade em solos com plantas com e sem infecção. A divergência entre os achados na literatura reforça a necessidade de estudos nessa área, a fim de se obter maior compreensão sobre os determinantes ecológicos da supressividade do solo e sobre como, por meio do conhecimento ecológico, manejar essas doenças.

Os maiores índices de diversidade associados rizosfera de plantas doentes, encontrado em nosso trabalho, pode ter sido influenciado por diversos fatores agroecológicos. Um deles, é o tempo de cultivo das plantas. As plantas da unidade de produção com a presença da doença estavam com 110 dias de desenvolvimento, enquanto as da unidade que não apresentavam sintomas de murcha tinham 64 dias. Vale ressaltar que as plantas sem murcha permaneceram sem sintomas durante todo o ciclo da cultura. Estudos mostram que a microbiota do solo e da rizosfera se torna mais complexa e estável ao longo do ciclo da planta (Yang et al, 2024). Logo, é possível que a maior diversidade e estabilidade bacteriana na rizosfera de plantas com murcha esteja atrelada ao maior tempo de cultivo das plantas. Além disso, a quantidade e o perfil químico dos exsudatos radiculares variam conforme o estágio de desenvolvimento da planta. Plantas mais maduras tendem a liberar uma maior diversidade de compostos, como aminoácidos e metabólitos secundários (ROBERT et al., 2025), o que pode modular significativamente a composição e a complexidade do microbioma do solo ao seu redor. Em concordância, Kinkel et al. (2011) relataram que a mudança evolutiva e a coevolução dentro das comunidades microbianas do solo ocorrem em prazos curtos e em resposta a práticas de manejo, com mudanças na abundância microbiana evidentes em questão de semana.

Outro fator relevante foi a presença de plantas espontâneas no solo com murcha bacteriana. Essas espécies, por apresentarem sistemas radiculares ativos, liberam compostos que estimulam a atividade microbiana e promovem a formação de redes mais complexas na rizosfera, aumentando a disponibilidade de nutrientes e favorecendo a diversidade do solo (Wang et al., 2022). Contudo, neste trabalho não observamos diferenças nos teores de nutrientes entre os solos na presença e na ausência da doença, com exceção de cálcio. Além disso, a análise canônica de coordenadas principais (Figura 5) não foram significativas, o que indica que as variáveis químicas não explicam a variação observada na beta diversidade microbiana. Logo, outras características, como por exemplo as interações biológicas, podem ter um papel relevante na estruturação da comunidade bacteriana. Segundo Torres et al. (2021), a presença de plantas daninhas influencia significativamente a diversidade bacteriana do solo, promovendo seu aumento, especialmente quando se trata de espécies herbáceas que produzem compostos alelopáticos.

Na rizosfera de plantas com sintomas da murcha, observou-se maior abundância relativa de algumas famílias bacterianas, como *Pseudomonadaceae* e *Microbacteriaceae* (Figura 9 B),

conhecidas por sua rápida resposta a distúrbios e capacidade de colonização oportunista (STOREY et al., 2018). Essas famílias incluem microrganismos com potencial antagonista, mas também espécies capazes de explorar nutrientes e compostos orgânicos liberados por tecidos vegetais lesionados, proliferando em ambientes com maior disponibilidade de necromassa e exsudatos provenientes da degradação celular. (TSUKAMOTO et al., 2001). Contudo, Liang et al. (2024) observaram que quando as plantas de tabaco foram infectadas pela murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*), elas não permanecem passivas diante da doença, ao contrário, respondem ao estresse biótico por meio do recrutamento e enriquecimento de microrganismos com capacidade de suprimir o patógeno, como representantes do gênero *Pseudomonas*. Nesse contexto, o aumento da abundância relativa da família *Pseudomonadaceae* observado neste estudo pode refletir uma resposta da planta visando limitar a progressão da infecção.

A rizosfera de plantas sem murcha bacteriana apresentaram maior proporção de SVAs associadas a famílias microbianas frequentemente relacionadas à estabilidade ecológica e à supressão natural de fitopatógenos (Figura 9 B). Membros da *Streptomycetaceae* são amplamente reconhecidos pela produção de compostos antimicrobianos e pela atuação na decomposição da matéria orgânica, contribuindo para o equilíbrio da rizosfera (SIGLE et al., 2015). Já representantes das famílias *Bacillaceae* e *Fictibacillaceae*, como *Bacillus* spp., destacam-se pela capacidade de sintetizar antibióticos e enzimas líticas, além de induzirem resistência sistêmica em plantas (KLOEPPER et al., 2004). Outras famílias, como *Chitinophagaceae*, englobam microrganismos envolvidos na degradação de polímeros naturais e na ciclagem de nutrientes, fortalecendo a funcionalidade e a resiliência da microbiota do solo (DE MENEZES et al., 2008). Deste modo, a presença desses microrganismos pode indicar, nesses solos, uma comunidade microbiana mais estruturada e funcionalmente equilibrada. A presença de grupo microbianos benéficos foi sugerido por Yang et al. (2017), como uma característica de solos supressivos à doença da murcha bacteriana. Em contraste, a dominância de grupos oportunistas na rizosfera de plantas com murcha bacteriana pode sugerir uma perda de equilíbrio e capacidade de manutenção de processos ecológicos estáveis.

Apesar da detecção de *Ralstonia* em plantas com sintomas de murcha bacteriana, a família (*Burkholderiaceae*) à qual pertence este gênero foi mais abundante na rizosfera de plantas sem sintomas de murcha, conforme a análise de abundância diferencial (Figura 9 B). Porém, ao se analisar a abundância relativa dos gêneros dentro da família *Burkholderiaceae*, (Figura 10) percebe-se que o gênero *Ralstonia* esteve presente nas duas áreas, contudo, foi pouco expressivo na rizosfera de plantas sem murcha bacteriana, enquanto na rizosfera de plantas com murcha este gênero teve grande expressão. Estudos anteriores, demonstraram que há uma maior abundância do gênero *Ralstonia* na rizosfera de plantas infectadas em comparação com plantas sem infecção (Hu et al., 2020; Liang et al., 2024). Isso pode indicar que, mesmo em solos onde *Ralstonia* está presente, a atividade da comunidade microbiana pode suprimir seu estabelecimento e sua ação patogênica.

É importante destacar que em ambas as áreas de cultivo, foi utilizado o porta-enxerto Shincheonggang, reconhecido no setor agrícola como altamente tolerante à *Ralstonia*. Entretanto, estudos mostram que essa tolerância é relativa. Monteiro et al. (2020), ao avaliarem o desempenho de diferentes porta-enxertos em área altamente infestada por *R. solanacearum*, observaram que, embora o Shincheonggang tenha apresentado maior produtividade em comparação com plantas não enxertadas, aproximadamente 36% das plantas enxertadas com esse porta-enxerto morreram devido à doença ao final do ciclo. Além disso, mesmo plantas assintomáticas foram confirmadas como infectadas pelo patógeno. Esses resultados indicam que a tolerância conferida pelo porta-enxerto pode ser comprometida em condições de alta densidade de inóculo, como observado nesta área de alta infestação. Essa condição é compatível

com os nossos achados, em que as plantas com sintomas de murcha bacteriana apresentaram maior abundância relativa do gênero *Ralstonia*.

A análise de coordenadas principais (PCoA) mostrou uma separação clara entre as comunidades bacterianas das rizosferas das plantas com e sem murcha bacteriana, sugerindo que a presença da doença está associada à reorganização da estrutura microbiana. Esse padrão foi confirmado por diferenças significativas na beta diversidade, indicando alterações no conjunto de SVAs que compõem cada comunidade. Resultados semelhantes foram descritos por Xiao et al. (2024), que observaram uma separação entre comunidades de bactérias e arqueias da rizosfera de plantas infectadas por *Ralstonia solanacearum* e plantas saudáveis, evidenciando mudanças estruturais relevantes causadas pela infecção. Zhang et al. (2020) também relataram que amostras de solos de plantas com e sem murcha bacteriana apresentaram diferenças significativas na composição bacteriana.

Os resultados da análise de redes ecológicas indicaram que a rizosfera de plantas com a doença apresentou uma comunidade microbiana mais interligada, com maior potencial para interações ecológicas, tanto cooperativas quanto competitivas. Faust & Raes (2012) destacam que, em ambientes com estresse biótico, como infecções por patógenos, podem ocorrer aumento nas interações entre microrganismos, sejam elas de cooperação ou competição. Hu et al. (2020), ao estudarem a comunidade bacteriana em tecidos endofíticos e no solo rizosférico de plantas infectadas pela murcha bacteriana, observaram uma topologia mais modular, maior complexidade na rede e um número superior de interações em comparação com plantas saudáveis.

Além disso, a análise de redes demonstrou que uma das famílias centrais na rizosfera de plantas sem murcha bacteriana foi a família *Burkholderiaceae*. Como relatado anteriormente, esta família engloba o gênero *Ralstonia* e diversos outros. Alguns dos gêneros mais abundantes que foram encontrados dessa família estão relatados em atividades de promoção da saúde do solo, estabilidade microbiana e até controle biológico. Por exemplo, *Ramlibacter* tem sido associado à degradação de compostos orgânicos complexos, como contaminantes antibióticos, e à melhoria da resistência das plantas frente a estresses bióticos (DE LUCA et al. 2011; RAUSEO et al. 2019; ZHANG et al. 2022). O gênero *Mitsuaria* já foi descrito como agente eficiente de controle biológico contra a murcha bacteriana (MARIAN et al., 2018). Esses achados reforçam que, mesmo o patógenos *Ralstonia* pertencendo a família *Burkholderiaceae*, a comunidade microbiana da família contém membros com funções benéficas para a manutenção de um solo saudável e equilibrado.

Neste estudo, a maior diversidade e as redes microbianas mais complexas observadas na rizosfera de plantas com sintomas de murcha bacteriana podem representar uma resposta das plantas à infecção, ao longo do ciclo produtivo. Outra possibilidade é que a comunidade microbiana, mais antiga devido ao maior tempo de cultivo, tenha se tornado mais diversa e complexa como resultado da adaptação ao estresse biótico. Além disso, a presença de plantas daninhas pode ter contribuído para alterações na microbiota do solo, por meio da liberação de exsudatos e da atuação das raízes sobre a estrutura do solo. Para uma compreensão mais precisa das diferenças entre solos supressivos e condutivos neste ambiente, são necessários estudos conduzidos em condições controladas e com o mesmo tempo de cultivo. Nossos achados indicam o gênero associado ao patógeno esteve presente na rizosfera das plantas com e sem sintomas, porém em maior abundância nas plantas com sintomas. Assim, a supressão da doença pode decorrer da ação da comunidade microbiana, que mantém o patógeno presente, mas impede proliferação e atuação sobre a planta. Esse processo pode estar associado à presença de microrganismos benéficos nos solos supressivos. De fato, observamos que tanto os solos supressivos quanto os condutivos apresentaram SVAs únicas (Figura 6), o que pode indicar função específicas decorrente destes táxons nestes solos.

Considerando a inexistência de métodos químicos registrados para o controle de *Ralstonia solanacearum*, este estudo apresenta relevância significativa ao caracterizar a composição microbiana da rizosfera de plantas com e sem sintomas de murcha bacteriana. A identificação de táxons específicos associados a cada condição fornece bases para elucidar os mecanismos ecológicos que contribuem para a supressão natural da doença. Esse conhecimento pode subsidiar o desenvolvimento de estratégias de manejo baseadas na modulação da microbiota rizosférica, visando reduzir a incidência do patógeno de forma sustentável. Além disso, a compreensão das interações microbianas e da funcionalidade de grupos-chave identificados neste trabalho abre perspectivas para a prospecção de microrganismos com potencial para formulação de bioinsumos, contribuindo para soluções mais eficientes e ambientalmente seguras no controle da murcha bacteriana.

3.7 CONCLUSÕES

A rizosfera de plantas com sintomas de murcha bacteriana apresentou maior diversidade microbiana e redes ecológicas mais complexas quando comparada à rizosfera de plantas saudáveis. Essa maior diversidade, em contraste com parte da literatura, pode estar relacionada ao maior tempo de cultivo, à presença de plantas daninhas e à resposta adaptativa da comunidade microbiana ao estresse causado pela infecção.

A presença de *Ralstonia* foi detectada em ambas as condições, mas em maior abundância na rizosfera de plantas com sintomas, sugerindo que o patógeno pode estar presente no solo mesmo sem causar doença aparente. A presença de táxons com funções benéficas, como membros das famílias Streptomycetaceae, Bacillaceae, Fictibacillaceae e Burkholderiaceae, na rizosfera de plantas saudáveis pode ser um dos fatores que contribuem para a supressão da murcha bacteriana, mesmo diante da presença de *Ralstonia*.

4. CAPÍTULO II

BIOPROSPECÇÃO DE *Pseudomonas* PARA O BIOCONTROLE DE *Fusarium* E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE VEGETAL

4.1. RESUMO

A murcha causada por *Fusarium oxysporum* é uma das principais doenças de solo que afetam o cultivo de hortaliças, como o tomateiro, sendo marcada pela persistência do patógeno no ambiente e pela dificuldade de controle eficaz. O uso contínuo de fungicidas tem mostrado eficácia limitada e traz preocupações ambientais. Nesse contexto, microrganismos benéficos do solo surgem como alternativas sustentáveis para o manejo de doenças e promoção do crescimento vegetal. Entre eles, bactérias do gênero *Pseudomonas* destacam-se pela capacidade de colonizar a rizosfera, produzir compostos antimicrobianos e bioestimulantes, além de disponibilizar nutrientes essenciais às plantas. Este capítulo teve como objetivo caracterizar filogeneticamente cepas de *Pseudomonas* previamente isoladas, avaliar seu potencial de biocontrole contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e seus atributos de promoção de crescimento vegetal. Foram analisados 22 isolados identificados previamente por MALDI-TOF-MS e confirmados por sequenciamento do gene *rrs*. O potencial antagonista foi avaliado por testes de confronto direto em placa, produção de compostos voláteis e aplicação de extratos bacterianos. Os atributos de promoção de crescimento vegetal incluíram solubilização de fosfato de cálcio e alumínio, e produção de ácido indolacético (AIA). As análises seguiram delineamento inteiramente casualizado com três repetições, sendo os dados submetidos à ANOVA e agrupados pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As correlações entre pH e solubilização de fósforo foram avaliadas pelo coeficiente de Pearson, e a concordância entre métodos de identificação, pelo índice Kappa. O sequenciamento do gene *rrs* indicou a predominância das espécies *P. aeruginosa*, *P. putida* e *P. plecoglossicida*, com 68,18% de concordância com o sistema MALDI-TOF-MS. No teste de antagonismo, o isolado SS168 (*P. aeruginosa*) apresentou o maior índice de inibição do patógeno (93%), seguido por outros da mesma espécie. Nos testes com extratos e compostos voláteis, os isolados apresentaram baixa atividade antifúngica. Quanto à promoção de crescimento, o isolado VRPAS112 (*P. putida*) destacou-se na solubilização de fosfato de alumínio (1913,5 mg/kg) e produção de AIA (16,09 µg/mL), enquanto VRPAS64 (*P. plecoglossicida*) apresentou a maior solubilização de fosfato de cálcio (5225,5 mg/kg). A acidificação do meio não se correlacionou significativamente com a solubilização de fósforo, sugerindo a atuação de outros mecanismos. Deste modo, isolados de *P. aeruginosa* apresentam maior potencial de biocontrole, enquanto aqueles do grupo *putida* se destacam na promoção de crescimento vegetal. Esses resultados reforçam a importância do uso combinado de cepas em bioinoculantes e consórcios microbianos, recomendando-se testes em casa de vegetação e em campo para validação destes resultados.

Palavras-chave: Solubilização de fósforo. Ácido indolacético (AIA). Doenças de solo.

4.2 ABSTRACT

Wilt caused by *Fusarium oxysporum* is one of the major soil-borne diseases affecting vegetable crops, such as tomato, and is characterized by the pathogen's persistence in the environment and the difficulty of effective control. Continuous use of fungicides has shown limited efficacy and raises environmental concerns. In this context, beneficial soil microorganisms emerge as sustainable alternatives for disease management and plant growth promotion. Among them, bacteria of the genus *Pseudomonas* stand out for their ability to colonize the rhizosphere, produce antimicrobial and bio-stimulant compounds, and make essential nutrients available to plants. This chapter aimed to phylogenetically characterize previously isolated *Pseudomonas* strains, evaluate their biocontrol potential against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, and assess their plant growth-promoting traits. Twenty-two isolates, previously identified by MALDI-TOF-MS and confirmed by *rrs* gene sequencing, were analyzed. Antagonistic potential was evaluated through direct confrontation assays on plates, production of volatile compounds, and application of bacterial extracts. Plant growth-promoting traits included solubilization of calcium and aluminum phosphate and production of indole-3-acetic acid (IAA). Analyses followed a completely randomized design with three replicates, and data were subjected to ANOVA and grouped using the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). Correlations between pH and phosphorus solubilization were assessed using Pearson's coefficient, and agreement between identification methods was evaluated with the Kappa index. Sequencing of the *rrs* gene indicated the predominance of *P. aeruginosa*, *P. putida*, and *P. plecoglossicida*, with 68.18% agreement with the MALDI-TOF-MS system. In the antagonism test, isolate SS168 (*P. aeruginosa*) exhibited the highest pathogen inhibition index (93%), followed by other isolates of the same species. In assays with extracts and volatile compounds, the isolates showed low antifungal activity. Regarding plant growth promotion, isolate VRPAS112 (*P. putida*) stood out in aluminum phosphate solubilization (1913.5 mg/kg) and IAA production (16.09 $\mu\text{g/mL}$), while VRPAS64 (*P. plecoglossicida*) showed the highest calcium phosphate solubilization (5225.5 mg/kg). Medium acidification was not significantly correlated with phosphorus solubilization, suggesting the involvement of other mechanisms. Therefore, *P. aeruginosa* isolates exhibit greater biocontrol potential, while those of the *putida* group excel in plant growth promotion. These results highlight the importance of using combined strains in bioinoculants and microbial consortia, and greenhouse and field tests are recommended to validate these findings.

Key words: Phosphorus solubilization. Indole-3-acetic acid (IAA). Soil-borne diseases

4.3 INTRODUÇÃO

A murcha causada por *Fusarium oxysporum* é uma das doenças de solo mais desafiadoras no contexto agrícola. Apresenta ampla distribuição, persistência no ambiente e capacidade de causar danos severos às plantas hospedeiras (DESLANDES, 1940; LESLIE & SUMMERELL, 2006). Esse fungo, pertencente ao filo Ascomycota, coloniza preferencialmente os vasos do xilema, promovendo obstrução do fluxo de seiva, colapso do sistema vascular e induzindo sintomas como murcha, clorose, necrose e morte da planta (AGRIOS, 2005; SINGH; SINGH; UPADHYAY, 2017). Seu ciclo de vida inclui a formação de estruturas de resistência, como os clamidósporos, que permitem sua sobrevivência por longos períodos no solo, mesmo na ausência do hospedeiro, o que o torna um patógeno altamente persistente no solo (KUROZAWA & PAVAN, 2005).

O desafio no controle de *Fusarium* está relacionada, principalmente, à sua elevada variabilidade genética e à capacidade de adaptação a diferentes ambientes edáficos. O manejo convencional, baseado no uso de produtos químicos, tem se mostrado pouco eficiente e economicamente inviável, além de acarretar impactos ambientais e riscos à saúde humana (NOGUEIRA et al., 2014; PARA, 2014). Nesse contexto, o controle biológico surge como uma alternativa promissora e ambientalmente sustentável. Esta abordagem se baseia no uso de microrganismos benéficos capazes de inibir patógenos por meio de antibiose, competição por nutrientes e espaço, parasitismo ou pela ativação das defesas naturais das plantas (BETTIOL et al., 1991; AGRIOS, 2005).

Dentre os microrganismos com potencial para o biocontrole, o gênero *Pseudomonas* vem sendo amplamente estudado e reconhecido pela elevada capacidade de colonização da rizosfera e produção de uma ampla gama de metabólitos bioativos (NANDI et al., 2017; ZHANG et al., 2020; BIESSY et al., 2021). Algumas cepas desse gênero podem produzir sideróforos, lipopeptídeos, compostos fenólicos e antibióticos como fenazinas, pirrolnitrina e 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG), que atuam diretamente na inibição do crescimento fúngico e na supressão de doenças do solo (BENITE et al., 2002; BIESSY et al., 2021; ZHANG et al., 2020).

Além da utilização no biocontrole, o gênero *Pseudomonas* também tem sido estudado como promissor como promotor de crescimento vegetal. No contexto da promoção de crescimento vegetal, essas bactérias podem apresentar características como a solubilização de nutrientes como, fósforo, potássio e zinco, produção de fitormônios como ácido indol-acético (AIA), citocininas, giberelinas e ácido salicílico, além da síntese de enzimas como a ACC desaminase, que contribui para a redução do etileno em situações de estresse (SARAVANAN et al., 2004; ALI; VENKATESWAR, 2004). Tais atributos bioestimulantes favorecem o desenvolvimento radicular e a tolerância a condições adversas, como salinidade e déficit hídrico (IQBAL; HASNAIN, 2013; GROBKINSKY et al., 2016).

Dessa forma, este capítulo tem como objetivo identificar cepas do gênero *Pseudomonas* previamente isoladas a partir de solos, avaliar seu potencial de biocontrole contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e atributos de promoção de crescimento vegetal.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Origem e Caracterização dos Isolados

Foram utilizados 22 isolados bacterianos previamente identificados pela técnica proteômica MALDITOF-MS como pertencentes ao gênero *Pseudomonas*, depositados no Laboratório de Genética Molecular de Microrganismos da UFRRJ (Tabela 1). O exemplar de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (L3304) utilizado neste estudo foi gentilmente fornecido pelo Laboratório de Epidemiologia de Sementes da UFRRJ.

Tabela 1. Origem e identificação dos isolados de *Pseudomonas*

ID	Gêneros	Origem	Localização
SS 141	<i>Pseudomonas</i>	Salinas desativadas	São Pedro da Aldeia - RJ
SS 146	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
SS 161	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
SS 164	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
SS 168	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
SS 173	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
SS 174	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
SS 176	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
SS 179	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
SS 197	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
SS 250	<i>Pseudomonas</i>	Mangue	Guaratiba - RJ
VRPAS 34	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 54	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 56	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 57	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 61	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 64	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 77	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 105	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 109	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 112	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ
VRPAS 115	<i>Pseudomonas</i>	Solo agrícola	São José do vale do Rio Preto - RJ

4.4.2 Identificação Molecular de Isolados de *Pseudomonas*

4.4.2.1 Extração de DNA

Para extração de DNA, os isolados foram cultivados em 5 mL do meio de cultura líquido BHI (Himedia®) à temperatura ambiente a 150 RPM. Após 16 horas, 1,5 mL de cada cultura foram transferidos para microtubos e centrifugados a 16.873g por 1 min, para sedimentar as células (HE, 2011). Esse processo foi repetido por três vezes para concentrar o maior número de células possível. Após o descarte do sobrenadante, o *pellet* foi resuspenso em 600 µL de tampão de lise (TE buffer 1X, SDS 10% e NaCl 25 mM) e incubado a 60 °C por 30 minutos (TITO et al., 2015). Após esfriar a temperatura ambiente, foram adicionados 600 µL de clorofórmio álcool isoamílico (24:1), e em seguida, os tubos foram homogeneizados por 2 min, e centrifugados a 14.549g por 10 min. Aproximadamente 600 µL do sobrenadante de cada amostra foram transferidos para um novo microtubo para adição de igual volume de clorofórmio álcool isoamílico (24:1). Em seguida as amostras foram centrifugadas a 14.549g por 10 min e aproximadamente 400 µL do sobrenadante foram transferidos para um novo microtubo com o mesmo volume de isopropanol gelado. As amostras foram incubadas a -20°C, para precipitação do DNA, e após 12 horas foram centrifugadas a 14.549g por 30 min. O *pellet*

foi lavado com 200 µL de etanol 70% por duas vezes e após secar a temperatura ambiente, foi resuspendido em 30 µL de água ultrapura.

4.4.2.2 Amplificação e sequenciamento do gene *rrs*

O gene *rrs* que codifica o 16S rRNA foi amplificado através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando os iniciadores 338f (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') e 1512r (5'-CGGCTACCTTGTTACGACT-3') (LANE, 1991). Para as reações de PCR foram utilizados 1X de tampão de reação, 1 U de Taq DNA polimerase, 2,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTP e 0,4 µM de cada iniciador. A reação foi realizada em um termociclador, com um ciclo inicial de desnaturação a 94°C por 5 min; seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 58°C por 60 segundos; e extensão a 72°C por 1 min e 30 segundos; e extensão final a 72°C por 7 minutos (WEISBURG et al., 1991). Os produtos das reações de PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose 1,5% sob luz UV no sistema de fotodocumentação L-PIX EX (Loccus Biotecnologia).

Os produtos de PCR foram purificados utilizando a Exo-Sap (USB Corporation, Cleveland, Ohio), conforme recomendação do fabricante. Ambas as fitas foram sequenciadas na Plataforma de Sequenciamento de DNA (PSEQDNA), no Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ. As sequências foram editadas utilizando o programa Bionumerics (Versão 7.6.3) e foram comparadas com outras sequências depositadas no banco de dados do NCBI (GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) utilizando o algoritmo BLASTn (ALTSCHUL et al., 1997). Para inferência da identidade do isolado, foi considerado o primeiro táxon de maior identidade ou o primeiro que continha identificação a nível de espécie.

Estas sequências foram importadas para o programa Mega versão 5.2.2 (KUMAR et al., 2012), e alinhadas utilizando o programa ClustalW (HIGGINS et al., 1994). Os múltiplos alinhamentos resultantes serão otimizados manualmente. O dendograma foi montado utilizando o método algorítmico *neighbor joining* (NJ) com o modelo de distância no programa MEGA versão 5.2.2. A robustez de cada ramo foi determinada usando o teste não paramétrico de *bootstrap* (FELSENSTEIN, 1985) com 1000 repetições.

4.4.3 Avaliação do Potencial Antagonista de Isolados de *Pseudomonas* contra *Fusarium oxysporum*

4.4.3.1 Teste de confronto *in vitro*

Os isolados foram cultivados em caldo BHI (Himedia®) a 150 rpm, a 28 °C, por 24 horas. Após o cultivo, a densidade celular de cada isolado foi padronizada com base na escala 7 de McFarland. Placas de Petri contendo meio BDA (Himedia®) foram preparadas, e um disco de 5 mm de diâmetro contendo micélio ativo do fungo fitopatogênico foi depositado no centro de cada placa. Em seguida, 5 µL da suspensão de cada isolado foi inoculada em quatro pontos equidistantes da placa, ao redor do disco fúngico central. O experimento foi conduzido em triplicata para cada isolado, incluindo um controle negativo composto por placas contendo apenas o disco do fungo. As placas foram incubadas a 28 °C por 15 dias. Ao término do período de incubação, o antagonismo foi avaliado com base na porcentagem de inibição. A área da colônia fúngica foi determinada por medições do crescimento radial do micélio nos eixos ortogonais da placa. A média dessas duas medidas foi utilizada como valor do raio (r) para o cálculo da área, utilizando a fórmula $A=\pi r^2$. A porcentagem de inibição (PI) foi determinada

$$PI(\%) = 100 - \left(\frac{\text{Área do tratamento (mm}^2\text{)} \times 100}{\text{Área do controle (mm}^2\text{)}} \right)$$

comparando-se a área média de crescimento do fungo na presença de cada isolado bacteriano com a área média do controle, utilizando a fórmula adaptada de Tulio (2017):

Com base nos valores obtidos de porcentagem de inibição (PI), os isolados bacterianos foram classificados em três níveis de antagonismo: baixo (PI < 40%), moderado (PI entre 40% e 80%) e alto (PI > 80%) (MARIANO, 1993; TULIO, 2017).

4.4.3.2 Produção de compostos voláteis

Para a avaliação da atividade antifúngica através de compostos orgânicos voláteis, os isolados bacterianos foram inicialmente cultivados em caldo BHI (Himedia®), sob agitação a 150 rpm, a 28 °C, por 24 horas. Em seguida, a turbidez das culturas foi ajustada com base na escala 7 de McFarland. Cada isolado foi então semeado com o auxílio de um swab sobre toda a superfície de placas de Petri contendo meio AN (Himedia®), após a inoculação, a tampa de cada placa foi substituída por uma segunda placa de Petri contendo meio BDA (Himedia®), na qual havia sido depositado um disco de 5 mm de diâmetro com micélio ativo do fungo fitopatogênico. As duas metades das placas, foram cuidadosamente seladas com parafilme, de forma a impedir a difusão de compostos não-voláteis e permitir apenas a atuação dos voláteis.

Os testes foram realizados em triplicata. As placas-controle foram preparadas da mesma forma, porém sem a presença de isolado bacteriano. Todos os conjuntos foram incubados a 28 °C, e as observações do crescimento fúngico foram realizadas após 15 dias de incubação. A metodologia utilizada seguiu, com adaptações, o procedimento descrito por Slam et al. (2018). Ao final do período, foi medido o crescimento radial do micélio, e a porcentagem de inibição (PI) foi determinada com base na área de crescimento, utilizando a mesma fórmula e critérios de classificação adotados anteriormente.

4.4.3.3 Teste de inibição fúngica por extratos bacterianos

Para a avaliação da atividade antifúngica mediada por extratos bacterianos foi utilizada a metodologia descrita por Trivedi et al. (2008), com adaptações. Os isolados de *Pseudomonas* foram cultivados em caldo BHI sob agitação a 150 rpm, a 28 °C, por 24 horas. Em seguida, as culturas foram centrifugadas a 8609 g por 10 minutos, e o sobrenadante foi coletado e filtrado em filtro estéril de 0,22 µm, a fim de retirar todas as células bacterianas.

Um disco de 5 mm de diâmetro contendo micélio do fungo *Fusarium* foi depositado no centro de cada placa Placas de Petri contendo meio BDA (Himedia®). O meio foi perfurado com auxílio de uma ponteira de 20 µL estéril em quatro pontos equidistantes ao redor do disco fúngico, e alíquotas de 50 µL do extrato bacteriano foram depositadas. As placas-controle foram preparadas da mesma forma, porém com aplicação de 50 µL de BHI estéril. As placas foram incubadas a 28 °C, e a avaliação do crescimento micelial foi realizada após 15 dias de incubação. O ensaio foi conduzido em triplicata para cada isolado. A inibição do crescimento fúngico foi determinada com base na porcentagem de inibição (PI) da área de crescimento micelial, utilizando a mesma fórmula e critérios de classificação previamente descritos.

4.4.4 Avaliação de Atributos de Promoção de Crescimento Vegetal

4.4.4.1 Avaliação da capacidade de solubilização de fosfato mineral

Para a avaliação da solubilização de fosfato, utilizou-se o meio de cultura líquido NBRIP (10g/L de glicose mais 0,15g/L de sulfato de amônio mais 0,2g/L de cloreto de potássio mais 5g/L de cloreto de magnésio mais 0,25g/L de sulfato de magnésio) (NAUTIYAL, 1999). suplementado com 3% de NaCl, tendo como fonte de fósforo insolúvel o fosfato de cálcio (Ca₃(PO₄)₂) ou o fosfato de alumínio (AlPO₄), ambos na concentração de 5g/L, com pH ajustado para 7,0. Os isolados bacterianos foram cultivados em caldo BHI (Himedia®) sob

agitação a 150 rpm, a 28 °C, por 24 horas, e suas densidades ópticas ajustadas para valores de absorbância 600 nm entre 0,9 e 1,0. Após o ajuste da densidade óptica, 300 µL de cada cultura bacteriana foram inoculados em tubos Falcon de 50 mL contendo 35 mL do meio NBRIP. As culturas foram incubadas sob agitação de 150 rpm, 28°C, por um período de 7 dias. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Ao final da incubação, alíquotas de 10 mL de cada repetição foram transferidas para tubos Falcon de 15 mL e centrifugadas a 6.000g por 10 minutos, com o objetivo de sedimentar o fosfato não solubilizado. O sobrenadante obtido foi filtrado em membrana de 0,22 µm acoplada a filtro de seringa, a fim de remover as células bacterianas presentes no meio. Este filtrado foi utilizado tanto para a medição de pH quanto para a quantificação de fósforo solúvel.

A concentração de fósforo disponível foi determinada por meio do método colorimétrico descrito por Teixeira et al. (2017), com adaptações. A técnica consiste na formação de um complexo fósforo-molibdato de coloração azul, gerado pela redução do molibdato de amônio com ácido ascórbico, cuja intensidade é mensurada por espectrofotometria. Para a reação, foram adicionados 5 mL da solução ácida de molibdato de amônio e aproximadamente 30 mg de ácido ascórbico em pó a 10 mL do sobrenadante previamente diluído, em copos plásticos descartáveis. A diluição foi ajustada conforme a intensidade da coloração desenvolvida em função do isolado bacteriano e da fonte de fósforo utilizada. Após agitação manual por 1 a 2 minutos, as amostras foram mantidas em repouso por 1 hora para completa reação. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 660 nm. A partir das concentrações de 0, 1, 2, 3, 4 e mg L⁻¹ de P, construiu-se a curva padrão colocando as mesmas na abscissa (x) e a leitura da absorbância nas ordenadas (y), obtendo assim a equação da curva de calibração, utilizando a equação linear: $y = a + bx$.

A concentração de fósforo solúvel (mg/L) foi calculada com base na seguinte equação:

$$P = \frac{L - b}{a} * d$$

Em que:

- P = concentração de fósforo solúvel (mg/L)
- L = leitura da amostra (absorbância)
- a = coeficiente angular da curva padrão
- b = coeficiente linear da curva padrão
- d = fator de diluição da amostra

A concentração de fósforo solúvel obtida em mg/L foi convertida para mg/Kg, ao multiplicar o resultado em mg/L pelo inverso da concentração da fonte de fósforo presente no meio de cultivo, permitindo a estimativa da eficiência relativa de solubilização por unidade de fosfato insolúvel fornecido.

4.4.4.2 Avaliação da capacidade de produção de ácido indolacético

A produção de ácido indolacético (AIA) pelos isolados bacterianos foi determinada por metodologia colorimétrica adaptada de Sarwar e Kremer (1995), conforme padronizado por Lana et al. (2017). Os isolados de *Pseudomonas* foram inoculados em meio TSB (Himedia®) e incubados sob agitação constante a 150 rpm, a 28 °C, por 24 horas. Após esse período, as culturas tiveram suas densidades ópticas ajustadas para valores de absorbância a 600 nm entre 0,9 e 1,0. Em seguida, 50 µL de cada cultura ajustada foram inoculados em tubos tipo Falcon de 15 mL contendo 5 mL de TSB (Himedia®) suplementado com DL-triptofano a 1,0 g/L. Um dos tubos foi utilizado como controle negativo, contendo apenas o meio TSB (Himedia®) com

triptofano, sem inoculação bacteriana. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata. Os tubos foram vedados, protegidos da luz com papel alumínio, e mantidos sob agitação constante a 150 rpm, a 30 °C, durante 5 dias. Após o período de incubação, os tubos foram centrifugados a 1377 g por 15 minutos. Foram retirados 500 µL do sobrenadante de cada tubo e adicionados 1.500 µL do reagente de Salkowski, preparado com 500 µL de solução aquosa de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,136 g/mL) e 24,5 mL de ácido perclórico a 35% (v/v). As amostras foram incubadas por 20 minutos, protegidas da luz, para o desenvolvimento da coloração característica. A leitura da absorbância foi realizada por espectrofotometria a 530 nm, utilizando o tubo controle negativo para calibração do equipamento. A quantificação do AIA em µg/mL, foi feita com base em curva padrão obtida a partir de solução estoque de AIA 100 µg/mL, diluída nas concentrações de 100, 80, 40, 20, 10 e 0 µg/mL. Os dados foram ajustados por regressão linear, e os valores de absorbância das amostras foram interpolados na equação da reta. Quando necessário, amostras com absorbância superior ao limite da curva foram diluídas e reanalisadas.

4.4.5 Análises Estatísticas

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. A normalidade e heterocedasticidade dos dados foram avaliadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. A análise de variância (ANOVA) foi realizada para cada experimentação, onde foi detectado diferenças, as médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$). dias. Quando necessário, os dados foram transformados para atender aos pressupostos de homocedasticidade e normalidade. Foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson para avaliar a intensidade e a direção da associação entre a concentração de fósforo (P) e o pH do meio de cultura. Os resultados foram visualizados por meio de gráficos de dispersão, nos quais a concentração de fósforo foi representada no eixo x e o pH no eixo y. A força das correlações foi considerada de acordo com (Mukaka, 2012). Para valores de r entre -0,3 a 0,3 a correlação é desprezível; de 0,3 a 0,5 (ou -0,3 a -0,5) correlação baixa; valores de r de 0,5 a 0,7 (ou -0,5 a -0,7) indicam uma correlação moderada; Valores de r de 0,7 a 0,9 (ou -0,7 a -0,9) denotam uma correlação forte ou alta e, valores de r entre 0,9 e 1,0 (ou -0,9 a -1,0) implicam uma correlação muito forte ou alta.

A concordância entre as identificações bacterianas obtidas por MALDI-TOF e por sequenciamento do gene *rrs* foi avaliada por meio de três abordagens estatísticas: porcentagem de concordância, índice de Kappa de Cohen e matriz de confusão. A porcentagem de concordância foi calculada como a proporção de isolados com identificação coincidente entre os dois métodos, expressa em percentual. A concordância foi avaliada por meio do índice de Kappa de Cohen. A interpretação dos valores seguiu a escala de Landis e Koch (1977), sendo: < 0 (nenhuma), 0,01-0,20 (leve), 0,21-0,40 (razoável), 0,41-0,60 (moderada), 0,61-0,80 (substancial), e 0,81-1,00 (quase perfeita). A significância do teste foi considerada quando $p < 0,05$. A matriz de confusão foi construída permitindo a visualização das identificações corretas (diagonal principal) e incorretas (fora da diagonal), com destaque para os gêneros e espécies mais frequentemente confundidos.

4.5 RESULTADOS

4.5.1 Identificação dos Isolados de *Pseudomonas*

Todos os alinhamentos apresentaram valores de *E-value* iguais a zero (Tabela 2). A identidade das sequências variou entre 97,95% a 100%, confirmando que todos os isolados pertencem ao gênero *Pseudomonas*. Onze isolados apresentaram identidade com *Pseudomonas aeruginosa*, com valores entre 97,95% e 100%; quatro isolados com *Pseudomonas putida*, com valores acima de 99,6%; e sete isolados com *Pseudomonas plecoglossicida*, também com valores acima de 99,6% (Tabela 2). Houve consenso entre a identificação pelo MALDI-TOF MS e o sequenciamento do gene *rrs* para 15 isolados, sete apresentaram divergência. Os isolados VRPAS109, VRPAS115, VRPAS61, VRPAS77, VRPAS56 e VRPAS64 foram identificados pelo MALDI-TOF como pertencentes a *P. putida* ou *P. monteilii*, mas apresentaram maior identidade com *P. plecoglossicida* (Tabela 2).

Esses resultados permitiram avaliar a concordância entre os dois métodos de identificação. A identificação bacteriana por MALDI-TOF, em comparação com o sequenciamento do gene *rrs*, apresentou uma concordância de 68,18% (15 isolados), com índice de Kappa de 0,525 (concordância moderada entre os métodos). A matriz de confusão mostrou que a maior taxa de acerto foi observada para *Pseudomonas aeruginosa*, com 11 das 12 amostras corretamente identificadas. Ademais, isolados identificados como *P. putida* pelo MALDI-TOF foram classificados como *P. plecoglossicida* (3 casos) e *P. monteilii* (nenhum acerto) pelo sequenciamento do gene *rrs*, evidenciando divergências entre os métodos, sem possibilidade de confirmar qual identificação é a correta.

O dendrograma (Figura 1) mostra três agrupamentos principais. Um dos agrupamentos foi composto pelos isolados SS141, SS146, SS161, SS164, SS168, SS174, SS176, SS179, SS197, SS250 e VRPAS54, que se agruparam com sequências de referência de *Pseudomonas aeruginosa*, em concordância com os resultados de maior identidade do Blastn. Outro agrupamento reuniu os isolados identificados pelo BLAST como *Pseudomonas putida* (VRPAS34, VRPAS56, VRPAS57, VRPAS105, VRPAS109 e VRPAS112) juntamente com aqueles que apresentaram maior similaridade com *Pseudomonas plecoglossicida* (VRPAS61, VRPAS64, VRPAS77 e SS173) que se agruparam com isolados de referência de *Pseudomonas putida* e *Pseudomonas plecoglossicida* (Figura 1).

4.5.2 Potencial Antagonista dos Isolados

A eficácia dos isolados bacterianos no controle biológico de *Fusarium* foi avaliada por três metodologias *in vitro*, confronto direto de culturas, aplicação de extratos bacterianos e exposição a compostos voláteis. Os percentuais de inibição foram classificados em três categoria, baixa inibição (< 40%), média inibição (40% a 80%) e alta inibição (> 80%) (MARIANO, 1993; TULIO, 2017).

No teste de confronto direto de culturas, a maioria dos isolados apresentou desempenho médio de inibição. O isolado SS168 foi o único classificado como de alta inibição, com 93% de redução do crescimento fúngico, superando os demais com grande margem. Dentre os isolados classificados dentro da faixa de média inibição, se destacaram: SS174 (79%), SS197 (78%), SS173 (76%), SS164 (73%), SS176 (70%) e SS179 (67%) (Figura 2). Por outro lado, nove isolados apresentaram baixa inibição, com os menores desempenhos observados em VRPAS115 (2%), VRPAS109 (3%), VRPAS61 (4%), VRPAS56 (4%) e VRPAS34 (9%) (Figura 2; Figura 3).

Tabela 2. Identificação dos isolados bacterianos com base no MALDI-TOF e sequenciamento parcial do gene *rrs*

Análise MALDI-TOF			Análise do sequenciamento do gene <i>rrs</i>				
ID	Identificação	Score	Pb*	Identificação**	Código NCBI	% de identidade	E-value
SS 161	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,44	1013	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KJ857033	99,01	0
SS 164	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,89	1073	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KX461910	97,95	0
SS 168	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,15	1034	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	OP117243	99,90	0
SS 174	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,32	1085	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	OQ366431	99,91	0
SS 176	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,25	1042	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	OP117243	100	0
SS 179	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,34	1042	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	OP117243	100	0
SS 197	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,99	1037	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	OP117243	100	0
SS 250	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,18	1048	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	EU661699	99,90	0
SS 141	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,45	1340	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	OQ366431	99,25	0
SS 146	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,23	1078	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KT153617	99,44	0
VRPAS 54	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,31	1074	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	OP117243	99,81	0
SS 173	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,03	1359	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	PV717268	99,93	0
VRPAS 57	<i>Pseudomonas putida</i>	2,07	1027	<i>Pseudomonas putida</i>	KY938109	99,71	0
VRPAS 105	<i>Pseudomonas putida</i>	1,96	1080	<i>Pseudomonas putida</i>	JF703659	99,63	0
VRPAS 112	<i>Pseudomonas putida</i>	2,13	1088	<i>Pseudomonas putida</i>	OQ255686	100	0
VRPAS 34	<i>Pseudomonas putida</i>	2,01	1062	<i>Pseudomonas putida</i>	KY938109	100	0
VRPAS 115	<i>Pseudomonas putida</i>	2,03	1089	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	LC507998	100	0
VRPAS 56	<i>Pseudomonas putida</i>	1,81	733	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	MW383529	100	0
VRPAS 109	<i>Pseudomonas putida</i>	1,94	1034	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	OM368446	99,71	0
VRPAS 61	<i>Pseudomonas monteilii</i>	1,98	828	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	OM368446	100	0
VRPAS 77	<i>Pseudomonas monteilii</i>	2,08	1084	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	KJ806458	99,63	0
VRPAS 64	<i>Pseudomonas monteilii</i>	2,04	1084	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	KJ806458	99,63	0

*Tamanho do fragmento de DNA em pb; **Foi escolhido o primeiro táxon de maior similaridade ou o primeiro que continha informação de espécie no Blastn.

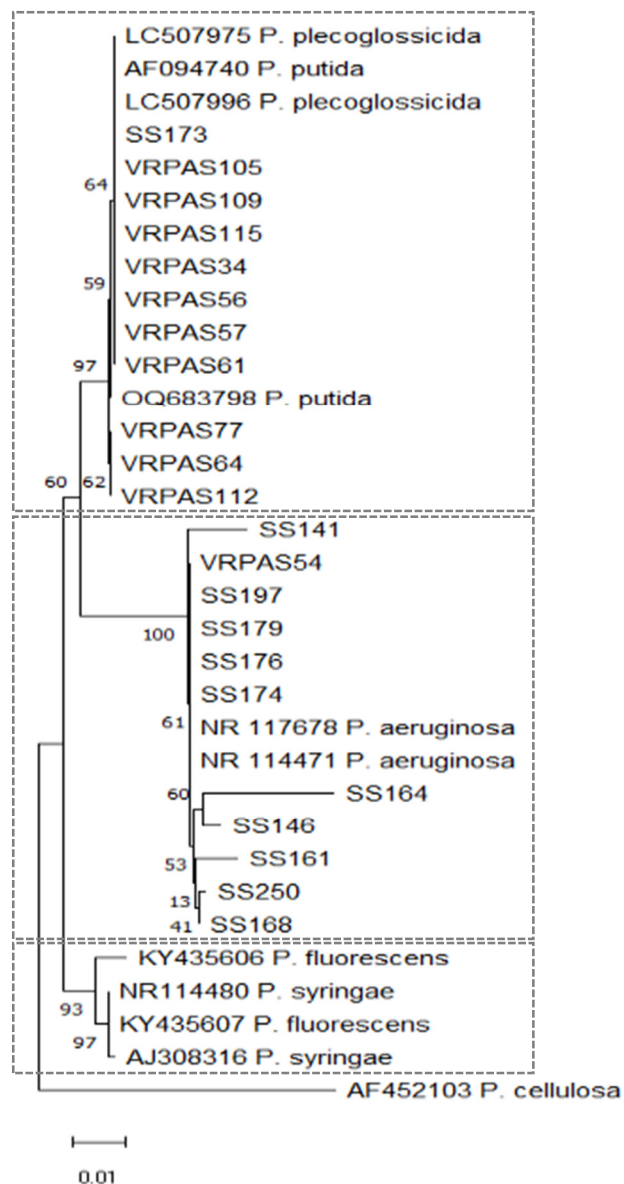


Figura 1. Árvore filogenética baseada em sequências parciais do gene *rrs* (695 pb), construída pelo método Neighbor-Joining com distâncias evolutivas calculadas pelo modelo Kimura 2 parâmetros. Valores nos nós representam porcentagens de bootstrap (1000 repetições).

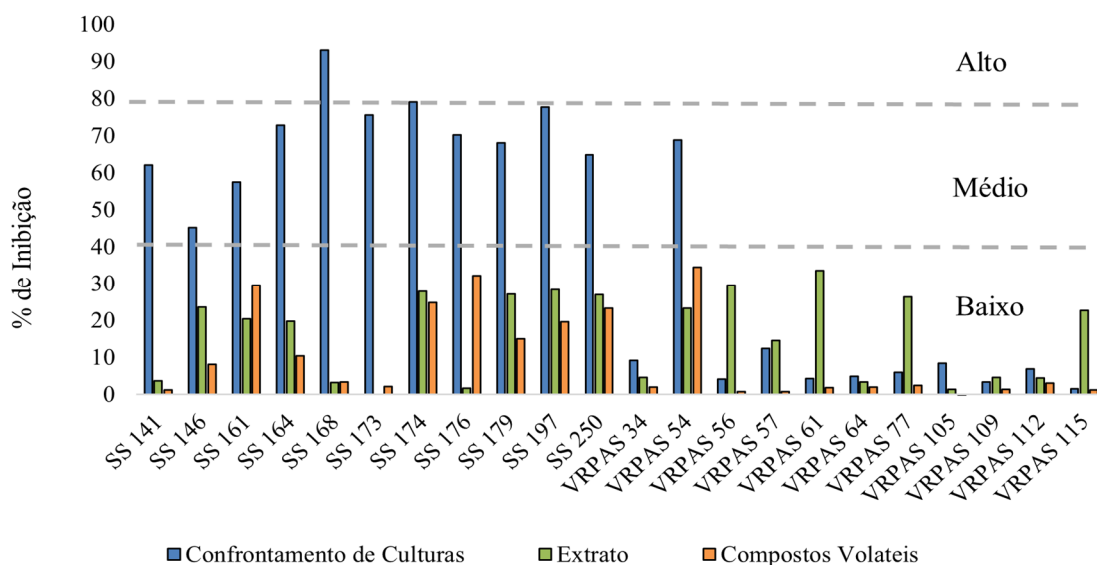


Figura 2. Percentual de inibição de *Fusarium oxysporum* promovido por isolados bacterianos por meio de confronto direto, aplicação de extratos bacterianos e liberação de compostos voláteis. As barras representam os valores individuais de inibição para cada isolado, enquanto as linhas tracejadas indicam os limites estabelecidos para classificação da inibição (baixa, média e alta). A Tabela 1, apresentada no Apêndice 1, mostra os percentuais de inibição obtidos nos diferentes ensaios.

Na aplicação dos extratos bacterianos, não foram registradas taxas expressivas de inibição. A maioria dos isolados apresentou baixa atividade antagonista, com percentuais mínimos observados para SS173 (0%), VRPAS105 (1%), SS176 (2%), SS168 (3%) e SS179 (4%). Os maiores índices de inibição foram obtidos por VRPAS61 (33%), VRPAS56 (30%), SS174 (28%) e SS197 (28%) (Figura 2; Figura 3).

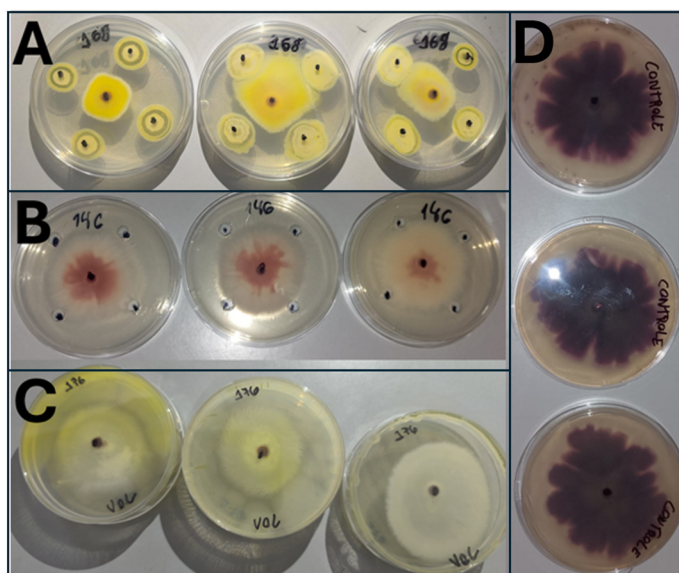


Figura 3. Atividade antagonista de isolados bacterianos contra *Fusarium oxysporum* por diferentes mecanismos. (A) Confrontamento direto, isolado 168; (B) Extratos bacterianos, isolado 146; (C) Compostos voláteis, isolado 176, (D) Placas controle, contendo apenas inóculo fúngico, indicando crescimento normal do fungo. Fonte: Acervo pessoal

No teste de liberação de compostos voláteis, todos os isolados apresentaram baixa atividade antagonista, não sendo observadas taxas elevadas de inibição. Entre os isolados com melhor desempenho, destacaram-se VRPAS54 (34%), SS176 (32%), SS161 (30%), SS174 (25%), SS250 (23%) e SS197 (20%). Em contrapartida, os menores percentuais foram registrados para VRPAS105 (0%), VRPAS115 (1%), SS141 (1%) e SS173 (2%) (Figura 2; Figura 3).

4.5.3 Atributos de Promoção de Crescimento Vegetal

A capacidade dos isolados de *Pseudomonas* em solubilizar fontes de fósforo inorgânico foi avaliada utilizando fosfato de alumínio e fosfato de cálcio (Figura 4). Os valores de solubilização de fósforo a partir do fosfato de alumínio variaram entre 168,7 mg/kg e 1913,5 mg/kg. O isolado VRPAS112 apresentou a maior capacidade de solubilização de P a partir de fosfato de alumínio (1913,5 mg/kg) em relação aos demais. Entre os isolados com desempenho intermediário, os valores de solubilização variaram entre 661,4 e 1237,3 mg/kg, incluindo os isolados SS146 (1237,3 mg/kg), VRPAS115 (1122,1 mg/kg), VRPAS77 (1015,8 mg/kg), VRPAS105 (874,1 mg/kg), SS141 (788,4 mg/kg), VRPAS61 (720,5 mg/kg) e VRPAS34 (477,2 mg/kg). Os isolados com menor capacidade de solubilização apresentaram valores inferiores a 310 mg/kg, sendo eles VRPAS54 (241,4 mg/kg), SS161 (237,2 mg/kg), SS164 (174,3 mg/kg) e SS174, que registrou o menor valor (168,7 mg/kg).

Para a fonte fosfato de cálcio, os valores de solubilização variaram entre 1587,4 mg/kg e 5225,5 mg/kg (Figura 4). O isolado VRPAS64 apresentou o maior valor médio (5225,5 mg/kg), seguido por outros oito isolados com valores superiores a 3900 mg/kg, incluindo VRPAS56 (4587,7 mg/kg), VRPAS112 (4540,4 mg/kg), SS174 (4516,8 mg/kg) e SS173 (4233,3 mg/kg). Já um segundo conjunto de isolados, formado por doze exemplares como SS197 (2248,9 mg/kg), VRPAS109 (2532,4 mg/kg), VRPAS105 (1989,0 mg/kg) e VRPAS61 (3985,3 mg/kg), apresentou valores de solubilização entre 1587,4 mg/kg e 3985,3 mg/kg. O menor valor registrado foi do isolado SS161, com 1587,4 mg/kg (Figura 4).

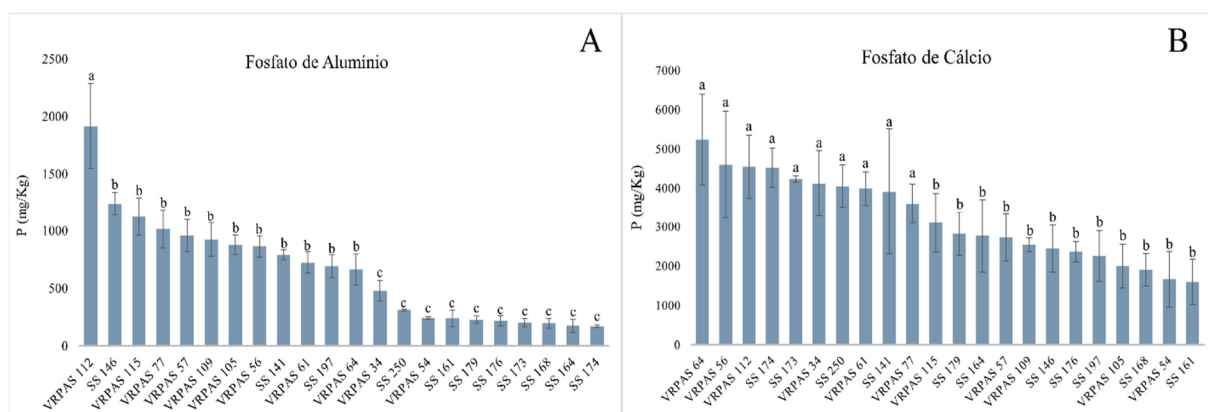


Figura 4. Solubilização de fósforo (mg/kg) a partir de fosfato de alumínio (A) e fosfato de cálcio (B) por isolados de *Pseudomonas*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Em relação à leitura do pH final dos meios de cultivo após a incubação com os isolados, no caso do fosfato de alumínio, os valores de pH variaram entre 3,69 e 4,73 (Figura 5). O isolado VRPAS77, que apresentou um dos menores valores de solubilização (168,7 mg/kg), esteve associado ao maior pH final (4,73). Por outro lado, o isolado VRPAS112, responsável pelo maior valor de fósforo solubilizado (1913,5 mg/kg), apresentou pH de 3,79, um dos mais baixos registrados. Observou-se uma tendência de maior solubilização em condições de maior

acidificação, porém a força dessa associação foi baixa ($r = -0,21$), indicando que, apesar de negativa, a correlação entre as variáveis foi pouco expressiva (Figura 6).

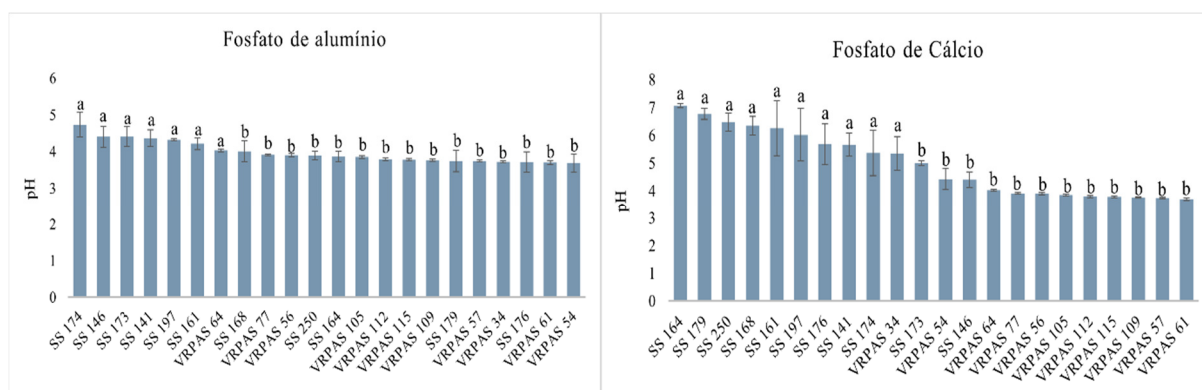


Figura 5. Redução do pH do meio de cultura promovida por cada isolado de *Pseudomonas* ao final do experimento (15 dias) de solubilização de fósforo inorgânico, utilizando duas fontes distintas: fosfato de cálcio e fosfato de alumínio.

Os isolados VRPAS54, VRPAS61, SS176, VRPAS34, VRPAS57, SS179, VRPAS109, VRPAS115, VRPAS112, VRPAS105, SS164, SS250, VRPAS56, VRPAS77, SS168 e VRPAS64 promoveram maior acidificação do meio de cultivo em comparação aos isolados SS174, SS146, SS173, SS141, SS197 e SS161, quando cultivados com fosfato de alumínio (Figura 5). Para a fonte fosfato de cálcio, destacaram-se VRPAS61, VRPAS57, VRPAS109, VRPAS115, VRPAS112, VRPAS105, VRPAS56, VRPAS77, VRPAS64, SS146, VRPAS54 e SS173, que apresentaram pH mais baixo, enquanto VRPAS34, SS174, SS141, SS176, SS197, SS161, SS168, SS250, SS179 e SS164 apresentaram menores reduções. Neste caso, a correlação entre pH e fósforo solubilizado manteve-se negativa, mas igualmente fraca, reforçando que a acidificação, embora relevante, não é o único fator envolvido na solubilização (Figura 6).

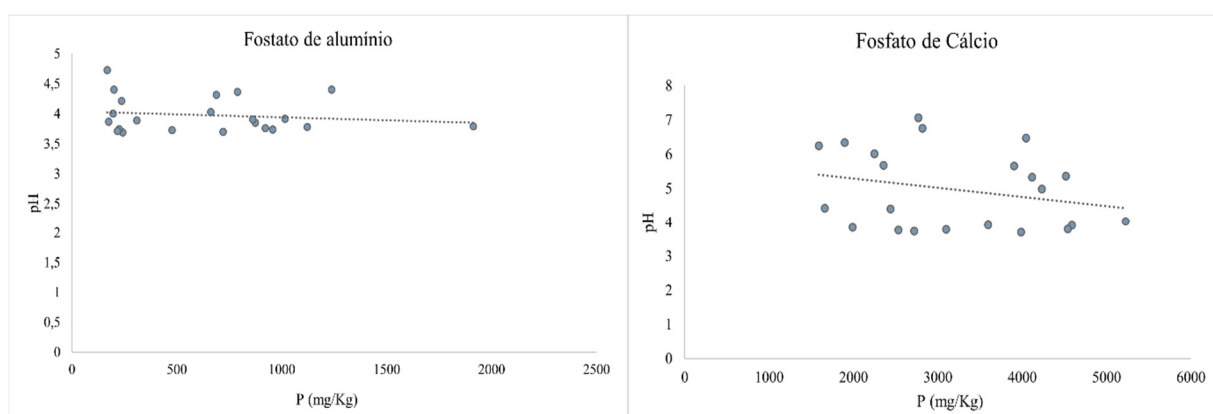


Figura 6. Correlação entre pH final do meio e solubilização de fósforo a partir das fontes fosfato de alumínio e fosfato de cálcio.

Para o fosfato de cálcio, os valores de pH final variaram entre 3,69 e 4,40. O isolado VRPAS64, que apresentou o maior valor de solubilização (5225,5 mg/kg), esteve associado a pH de 4,36, não seguindo o padrão observado para o fosfato de alumínio. Já o isolado SS161, com uma das menores solubilizações (1587,4 mg/kg), apresentou pH final de 3,69. Nesse caso, a correlação calculada ($r = -0,23$) também foi de baixa magnitude, indicando que a acidificação isoladamente não explica a variação na disponibilidade de fósforo para essa fonte (Figura 6).

Em relação à produção de AIA, todos os isolados de *Pseudomonas* foram capazes de sintetizar o fitormônio, com variação entre 2,50 µg/mL e 16,92 µg/mL (Figura 7). Os isolados SS164 (16,92 µg/mL), VRPAS112 (16,09 µg/mL), VRPAS77 (11,64 µg/mL), VRPAS57 (9,29 µg/mL), VRPAS109 (8,38 µg/mL), VRPAS115 (7,41 µg/mL), VRPAS64 (6,79 µg/mL), SS168 (7,48 µg/mL) e VRPAS61 (6,26 µg/mL) sintetizaram mais AIA em relação aos demais isolados. Os outros isolados apresentaram valores inferiores a 5,91 µg/mL, sendo estes: SS174 (5,91 µg/mL), SS197 (5,27 µg/mL), VRPAS34 (5,14 µg/mL) e SS179 (4,91 µg/mL), SS173 (2,50 µg/mL), SS146 (2,70 µg/mL) e SS176 (3,06 µg/mL).

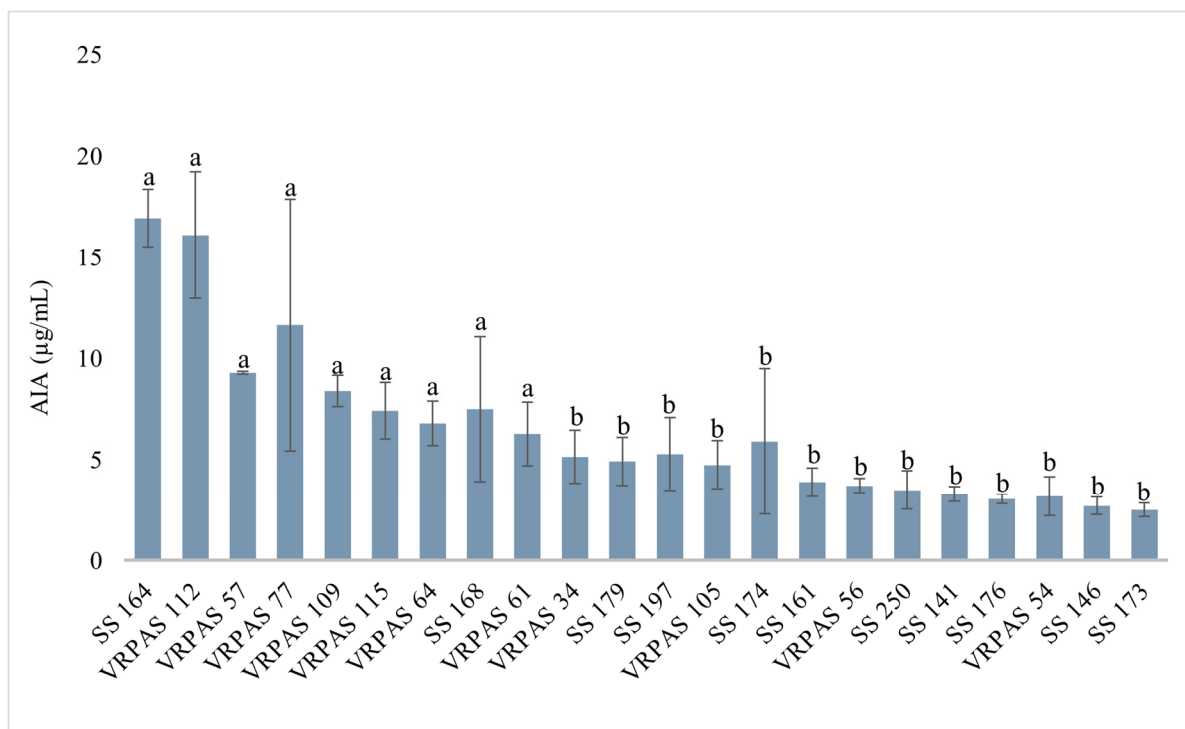


Figura 7. Produção de AIA (µg/mL) pelos isolados de *Pseudomonas*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

4.6 DICUSSÃO

A utilização do MALDI-TOF e sequenciamento parcial do gene *rrs*, que codifica o 16S rRNA, possibilitou a identificação das bactérias do gênero *Pseudomonas*, sendo *P. aeruginosa* e espécies relacionadas ao grupo *P. putida*, incluindo *P. putida*, *P. plecoglossicida* e *P. monteilii*. No entanto espécies estreitamente relacionadas, como *P. monteilii* e *P. putida* (identificação via MALDI-TOF), apresentaram divergências na diferenciação, pois apresentaram identidade à isolados de *P. plecoglossicida* do banco de dados do NCBI.

O MALDI-TOF, apesar de sua rapidez e aplicabilidade para triagem, tem acurácia variável para bactérias ambientais (BIELEN et al., 2024). Timperio et al (2017) ao identificar 45 bactérias isoladas da Baía de Kandalaksha mostrou que o método proteômico apresentou 100% de concordância com análise do gene *rrs* a nível de gênero, mas apenas cerca 48% dos isolados ambientais foram corretamente identificados até o nível de espécie com base nos espectros gerados (score ≥ 2), quando comparados à identificação por sequenciamento. Dentro do gênero *Pseudomonas*, este valor foi ainda menor, 29%. Essa baixa precisão decorre da dependência da abrangência e qualidade da biblioteca espectral, associada à alta similaridade proteica entre espécies próximas, como as pertencentes ao grupo *putida* (TIMPERIO et al., 2017; GIRARD et al., 2021). Resultados semelhantes foram observados por Mulet et al (2020) que ao identificar por sequenciamento do gene *rpoD* 190 isolados de *Pseudomonas* previamente identificados pelo MALDI-TOF relataram falhas na identificação correta de espécies do grupo *Pseudomonas putida* por MALDI-TOF.

O sequenciamento do gene *rrs*, embora amplamente utilizado para identificação bacteriana, também apresenta limitações para separar espécies filogeneticamente próximas. O marcador é altamente conservado e oferece boa resolução para nível de gênero, mas possui baixa variabilidade entre espécies do complexo *putida*, o que pode ter dificultado a discriminação precisa entre *P. putida*, e *P. plecoglossicida* na árvore filogenética (GOMILA et al., 2015). Mesmo com regiões hipervariáveis do gene 16S, a diferenciação entre essas espécies permanece incerta, sendo frequente a atribuição múltipla de identidade ou classificações genéricas dentro do grupo (GOMILA et al., 2015).

Em relação a atividade antagonista dos isolados bacterianos contra *Fusarium*, entre os três métodos testados, o confronto direto de culturas apresentou os maiores percentuais de inibição. Este comportamento pode estar relacionado à competição por espaço e nutrientes, associado à produção de metabólitos antifúngicos difusíveis pelos isolados bacterianos (NANDI et al 2017; BIESSY et al., 2021). Além disso, o contato direto com o patógeno pode induzir a produção de compostos antimicrobianos pelos microrganismos antagonistas. Estudos mostram que o co-cultivo ou a interação direta ativa genes de biossíntese que não são expressos em monoculturas, permitindo a produção de metabólitos antifúngicos ou antibacterianos que não ocorrem isoladamente (SCHROECKH et al., 2009; HIFNAWY et al., 2020; NICAULT et al., 2021). De modo geral, as cepas de *P. aeruginosa* apresentaram o melhor desempenho. No entanto, alguns isolados do grupo *putida*, como VRPAS61 e VRPAS56, também se destacaram, apresentando elevada atividade no teste com extrato bacteriano. Islam et al (2018), ao investigarem a atividade de biocontrole de bactérias de solo rizosférico, observaram que os melhores resultados *in vitro* foram nos experimentos de cultura dupla, além disso, isolados de *P. aeruginosa* foram os mais promissores em relação a outras espécies testadas de *Pseudomonas*, estando relacionado a produção de compostos antimicrobianos e sideróforos.

Os valores de fósforo solubilizado a partir de fosfato de alumínio pelas espécies de *Pseudomonas* neste estudo foram superiores aos relatados por Aliyat et al. (2022). Aliyat et al. (2022) observaram que os isolados do gênero *Pseudomonas* que apresentaram melhores resultados foram capazes de solubilizar aproximadamente 34,8 mg/Kg em fosfato de cálcio e

aproximadamente 15,48 mg/Kg em fosfato de alumínio. Para fosfato de cálcio, os isolados VRPAS64 (5225,5 mg/kg), VRPAS56 (4587,7 mg/kg), VRPAS112 (4540,4 mg/kg), SS174 (4516,8 mg/kg) e SS173 (4233,3 mg/kg) formaram o grupo de melhor desempenho. Esses resultados são substancialmente maiores que os obtidos para *Pseudomonas* em fosfato de cálcio no estudo de Aliyat et al. (2022) (34,8 mg/kg). Porém, outros estudos, como os de Yu et al. (2022) e Janati et al. (2022), mostram isolados altamente eficientes na solubilização de fosfato de cálcio, como a cepa JP233 de *Pseudomonas* sp. capaz de solubilizar 51.614 mg/kg de fósforo a partir de fosfato de cálcio e outros isolados não identificados capazes de solubilizar até 29.524 mg/kg. Além disso, a cepa *Bacillus megaterium* CNPMS B119, presente em um inoculante comercial (BiomaPhos®), apresentou capacidade de solubilizar 24.666 mg/kg (OLIVEIRA et al., 2009), valor que permanece superior ao obtido pelos isolados de *Pseudomonas* com maior atividade de solubilização neste trabalho. No entanto, a diferença observada é menor do que a registrada em relação à JP233.

Houve maior solubilização de P na presença de fosfato de cálcio em comparação ao fosfato de alumínio, o que é esperado devido à diferença de solubilidade das fontes. Essas diferenças decorrem da força das ligações iônicas e da energia de hidratação, uma vez que o fosfato de cálcio apresenta menor grau de complexação, sendo mais facilmente dissolvido em soluções ligeiramente ácidas, enquanto o fosfato de alumínio forma compostos mais estáveis e de baixa solubilidade, limitando a disponibilidade de fósforo (MERBACH et al. 2009; BASHAN et al., 2013). Vale destacar que o isolado VRPAS112 é um exemplo que apresentou maior solubilização de P em fosfato de cálcio do que em fosfato de alumínio. Essa tendência também é amplamente relatada na literatura (ALIYAT et al., 2022; OLIVEIRA et al., 2009), reforçando que a natureza do composto fosfatado influencia na expressão do potencial solubilizador de *Pseudomonas*.

Observou-se que a correlação entre o pH e a quantidade de P solubilizado de ambas as fontes de P pouco significativa, o que sugere que não foi a acidificação o fator preponderante para a solubilização de P. A produção de ácidos orgânicos é o principal mecanismo de solubilização do fósforo associado a íons metálicos, uma vez que esses compostos podem formar complexos metálicos e quelatos com os cátions presentes (BASHAN et al., 2013). Os ânions provenientes dos ácidos orgânicos possuem a capacidade de promover reações de troca de ligantes, deslocando ânions fosfato que estão adsorvidos nas superfícies cristalinas de Fe(OH)_3 e Al(OH)_3 (ARCAND & SCHNEIDER, 2006). A quelação ocorre quando uma molécula aniônica ou polar estabelece duas ou mais ligações coordenadas com um cátion, originando um complexo em estrutura de anel envolvendo o fosfato (ARCAND & SCHNEIDER, 2006). No entanto, embora a acidificação do meio seja um passo importante na solubilização, a literatura indica que queda de pH isoladamente não explica totalmente esse fenômeno (RODRÍGUEZ & FRAGA, 1999). Além disso, cepas que reduzem o pH de forma semelhante frequentemente diferem na quantidade de P liberado, devido à variação na mistura e força de complexação dos ácidos orgânicos excretados (GULATI et al., 2008). Outros fatores como, sideróforos, exopolissacarídeos e fosfatases podem contribuir na mobilização de cátions ligados ao P (SHARMA et al., 2013). Por fim, a cinética de dissolução é dependente da fonte mineral, uma vez que fosfatos de alumínio e cálcio respondem de modos distintos aos mecanismos microbianos, ou seja, um isolado pode não apresentar mesma eficiência para as diferentes fontes de fósforo insolúvel (SHARMA et al., 2013).

Em relação a produção de AIA, um isolado da espécie *P. aeruginosa* (SS164) e os isolados do grupo Putida, VRPAS112, VRPAS77, VRPAS57 e VRPAS109 sintetizaram as maiores quantidades de AIA, variando de 2,7 µg/mL a 16,92 µg/mL. Esses valores são comparáveis aos relatados por Cordero et al. (2024), que, ao avaliar *in vitro* a produção de AIA por *P. fluorescens*, observaram um valor máximo de 17,15 µg/mL para o isolado de referência

LC830621.1. No entanto, trabalhos como os de Parvin et al. (2020) e Meliani et al. (2017) reportam produções bem superiores, chegando a 52 µg/mL para isolados de *P. aeruginosa* UPMP3 e a 89 µg/mL e 116 µg/mL para *P. fluorescens* e *P. putida*, respectivamente. Esses valores mais elevados, entretanto, foram obtidos com suplementação do meio contendo altas concentrações de triptofano (4 mg/mL), enquanto no presente estudo a concentração utilizada foi quatro vezes menor, o que pode estar diretamente relacionado aos valores inferiores obtidos. O L-triptofano é o principal precursor da biossíntese de ácido indol-3-acético (AIA), participando diretamente de rotas metabólicas, como a do indol-3-piruvato (IPA) e a da indol-3-acetamida (IAM), fornecendo o substrato essencial para a formação de intermediários convertidos em AIA (KHALID et al., 2004).

A caracterização molecular e funcional dos 22 isolados de *Pseudomonas* permitiu a separação em dois grupos principais, isolados da espécie *P. aeruginosa*, e do grupo *putida*. Os testes *in vitro* evidenciaram que os isolados de *P. aeruginosa*, especialmente SS168 e SS174, apresentaram os maiores índices de inibição de *Fusarium oxysporum*, confirmando seu elevado potencial como agentes de biocontrole. Em contrapartida, os isolados pertencentes ao grupo *putida*, como VRPAS112 e VRPAS64, destacaram-se por sua elevada capacidade de solubilizar fósforo e pela alta produção de AIA, características associadas à promoção de crescimento vegetal.

A integração desses resultados evidencia que não há um isolado único que reúna, de maneira destacada, todos os atributos avaliados, mas sim um conjunto de cepas com competências complementares. Dessa forma, a seleção de isolados mais promissores aponta para futuras investigações em consórcios microbianos ou formulações de bioinoculantes, capazes de associar mecanismos de antagonismo a fitopatógenos e promoção de crescimento vegetal. Contudo, é importante considerar que *Pseudomonas aeruginosa*, apesar de apresentar potencial biotecnológico, é reconhecida como um patógeno oportunista humano, o que pode representar restrições quanto ao seu uso direto em bioinoculantes e demandar testes adicionais de biossegurança (TÜMMLER et al., 2022). Já isolados do grupo *Pseudomonas putida* são amplamente descritos como seguros e utilizados em diferentes aplicações agrícolas e ambientais, o que reforça sua viabilidade em estudos futuros (KAMPERS et al., 2019). Ensaios em condições de casa de vegetação e campo permanecem essenciais para validar a eficácia desses isolados e ampliar seu potencial de aplicação em sistemas agrícolas.

4.7. CONCLUSÕES

MALDI-TOF foi eficiente na identificação em nível de gênero dos isolados de *Pseudomonas*, mas possui limitações na resolução ao nível de espécie. O sequenciamento do gene *rrs* é útil para identificação a nível de gênero e espécies, porém sua baixa variabilidade entre espécies filogeneticamente próximas limita a discriminação precisa, sendo necessário complementar com outros marcadores ou técnicas para identificação confiável a nível de espécie.

As cepas de *P. aeruginosa* se destacaram pelo antagonismo direto a *Fusarium oxysporum*, sobretudo SS168 (93% de inibição) e o conjunto SS174, SS197, SS164, SS176 e SS179 (67–79%), indicando potencial de biocontrole. O grupo associado ao complexo *putida* foi promissor para promoção de crescimento vegetal, o isolado VRPAS112 (*P. putida*) combinou a maior solubilização de P a partir de fosfato de alumínio (1913,5 mg/kg), de fosfato de cálcio e alta produção de AIA (16,09 µg/mL); VRPAS64 (*P. plecoglossicida*) liderou a solubilização em fosfato de Ca (5225,5 mg/kg) e também apresentou AIA elevada (6,79 µg/mL), VRPAS56 e VRPAS61 (ambos *P. plecoglossicida*) tiveram bom desempenho em solubilização de fosfato de cálcio e mostraram atividade antagonista detectável em extratos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A rizosfera de plantas é um ambiente complexo, no qual as interações entre microrganismos e raízes influenciam diretamente o desenvolvimento vegetal e a ocorrência de doenças. Compreender como a microbiota do solo se organiza e responde a diferentes condições patológicas é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de manejo agrícola mais sustentáveis e eficientes. Além disso, a seleção de microrganismos com potencial para promover o controle biológico de patógenos do solo representa uma importante ferramenta para a redução do uso de insumos químicos e para a promoção da saúde das plantas.

Neste contexto, este trabalho contribui de forma significativa ao avaliar o impacto da murcha bacteriana no microbioma rizosférico de plantas, destacando alterações na composição da comunidade microbiana, e identificar isolados promissores de *Pseudomonas* para controle biológico de *Fusarium* e promoção de crescimento vegetal, fornecendo subsídios para estratégias de manejo agrícola mais sustentáveis, reduzindo a necessidade de insumos químicos e potencializando a utilização de bioinsumos.

O conhecimento gerado reforça a importância de abordagens integradas, que considerem aspectos ecológicos, agronômicos e sociais, para o desenvolvimento de sistemas agrícolas resilientes. Com base nos resultados obtidos, fica evidente que o manejo adequado da microbiota do solo, aliado ao uso de microrganismos promotores de crescimento e ao controle biológico, constitui estratégia promissora para mitigar a incidência de murcha bacteriana e promover a saúde do solo e das plantas. Tais práticas estão alinhadas aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, incluindo ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), ODS 3 (Saúde e Bem-Estar), ODS 6 (Água Potável e Saneamento), ODS 14 (Vida na Água), ODS 15 (Vida Terrestre) e ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis), promovendo intervenções que combinam eficiência agronômica, sustentabilidade ambiental e segurança alimentar. Portanto, este estudo, ajuda a desenvolver práticas sustentáveis que contribuam para a saúde do solo, das plantas e, consequentemente, para a resiliência do agroecossistema como um todo.

Apesar das contribuições apresentadas, este estudo apresenta algumas limitações. A caracterização microbiana foi realizada com base em técnicas específicas e em condições específicas, o que pode não refletir completamente a complexidade e a variabilidade do solo em condições diferentes, como diferentes regiões e climas. Além disso, os isolados de *Pseudomonas* avaliados para biocontrole e promoção de crescimento vegetal ainda necessitam de testes em casa de vegetação e em campo para validar sua eficácia em condições agrícolas reais, bem como de investigações adicionais que comprovem sua não patogenicidade a humanos e animais, assegurando sua viabilidade para aplicação como bioinoculantes.

Para estudos futuros, recomenda-se ampliar a análise da diversidade microbiana integrando técnicas metagenômicas e funcionais, além de avaliar a interação entre múltiplos microrganismos e patógenos em diferentes contextos edáficos e climáticos. Investigações adicionais também poderiam explorar estratégias combinadas de bioinsumos e manejo agronômico, visando maximizar a saúde do solo, reduzir a dependência de insumos químicos e aumentar a resiliência de sistemas agrícolas frente à murcha bacteriana e a outros estresses ambientais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, GEORGE N. **Plant Pathology**. 5. ed. Amsterdam; Boston: Academic Press / Elsevier, 2005. 952 p. ISBN 978-0-12-0445653.
- AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological research**, v. 163, n. 2, p. 173-181, 2008.
- ALBUQUERQUE, G. R.; LUCENA, L. P.; ASSUNÇÃO, E. F.; MESQUITA, J. C. P.; SILVA, A. M. F.; SOUZA, E. B.; & GAMA, M. A. S. Evaluation of tomato rootstocks to *Ralstonia solanacearum* and *R. pseudosolanacearum* in Mata mesoregion, PE. **Horticultura Brasileira**, v. 39, n. 1, p. 72-78, 2021.
- ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; VENKATESWAR RAO, L. Isolation and characterization of drought-tolerant ACC deaminase and exopolysaccharide-producing fluorescent *Pseudomonas* sp. **Annals of microbiology**, v. 64, p. 493-502, 2014.
- ALIYAT, F. Z., MALDANI, M., EL GUILLI, M., NASSIRI, L., & IBIJBIJEN, J. Phosphate-solubilizing bacteria isolated from phosphate solid sludge and their ability to solubilize three inorganic phosphate forms: Calcium, iron, and aluminum phosphates. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 980, 2022.
- ALIYAT, F. Z., MALDANI, M., EL GUILLI, M., NASSIRI, L., & IBIJBIJEN, J. Phosphate-solubilizing bacteria isolated from phosphate solid sludge and their ability to solubilize three inorganic phosphate forms: Calcium, iron, and aluminum phosphates. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 980, 2022.
- ALTSCHUL, S. F.; MADDEN, T. L.; SCHÄFFER, A. A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic acids research**, v. 25, n. 17, p. 3389–3402, 1997.
- ALVARENGA, M.A.R. **Tomate: Produção em Campo, Casa de Vegetação e Hidroponia**. Lavras: UFLA, p. 455, 2013.
- ANDERSEN, K.S., KIRKEGAARD, R.H., KARST, S.M., ALBERTSEN, M., 2018. **Ampvis2: an R package to analyse and visualise 16S rRNA amplicon data**. bioRxiv **299537**. [https:// doi.org/10.1101/299537](https://doi.org/10.1101/299537).
- ARAVANAN, V. S.; SUBRAMONIAM, S. R.; RAJ, S. A. Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (ZSB) isolates. **Brazilian journal of microbiology**, v. 35, p. 121-125, 2004.
- ARCAND, M. M.; SCHNEIDER, K. D. Plant- and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, vol. 78, no. 4, p. 791–807, Dec. 2006.
- BAKER, R.; COOK, J. **Biological control of plant pathogens** San Francisco: W. H. Freeman, 1974.

BASHAN, Y.; KAMNEV, A. A.; DE-BASHAN, L. E. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 4, p. 465–479, May 2013.

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; MACHADO, B. C. Sideróforos: uma resposta dos microorganismos. **Química Nova**, v. 25, p. 1155-1164, 2002.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 1995. v. 1.

BETTIOL, W.; GHINI, RAQUEL. Solos supressivos. Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais. Recife. **Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco**, p. 125-152, 2005.

BETTIOL, W.; TERAQ, D.; HALFELD-VIEIRA, B. D. A.; MENDES, R.; MORANDI, M.; MASCARIN, G.; & MARCELO AUGUSTO BOECHAT MORANDI, A. R. I. N. **Controle biológico de doenças de plantas**. 1991.

BIELÉN, A., BABIĆ, I., VUK SURJAN, M., KAZAZIĆ, S., ŠIMATOVIĆ, A., LAJTNER, J., UDIKOVIĆ-KOLIĆ, N & HUDINA, S. Comparison of MALDI-TOF mass spectrometry and 16S rDNA sequencing for identification of environmental bacteria: a case study of cave mussel-associated culturable microorganisms. **Environmental science and pollution research**, v. 31, n. 14, p. 21752-21764, 2024.

BIESSY, A.; NOVINSKAK, A.; ST-ONGE, R.; LÉGER, G.; ZBORALSKI, A.; & FILION, M. Inhibition of three potato pathogens by phenazine-producing *Pseudomonas* spp. is associated with multiple biocontrol-related traits. **MSphere**, v. 6, n. 3, p. 10.1128/msphere.00427-21, 2021.

BRASIL. Governo do Estado de Goiás. **Destaque do mês Agro em Dados – Fevereiro 2025: Tomate**. 2025. Disponível em: <https://goias.gov.br/agricultura/destaque-do-mes-agro-em-dados-fevereiro-2025-tomate>. Acesso em: 16 set. 2025.

BRASIL. Governo do Estado do Rio de Janeiro. **A cultura do tomate no Estado do Rio de Janeiro – 2019-2023**. Rio de Janeiro: Pesagro-RJ, 2023. Disponível em: https://www.rj.gov.br/pesagro/sites/default/files/arquivos_paginas/DOC%20Online%2011%20A%20cultura%20do%20tomate%20no%20Estado%20do%20Rio%20de%20Janeiro%202019%20-%202023.pdf. Acesso em: 16 set. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agrofit: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, DF: MAPA, 2003–. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 18 ago. 2025

CALLAHAN, B. J.; MCMURDIE, P. J.; ROSEN, M. J., HAN, A. W.; JOHNSON, A. J. A.; & HOLMES, S. P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature methods**, v. 13, n. 7, p. 581-583, 2016.

CARVALHO FILHO, A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; OLIVEIRA, A. P.; SILVA, E. F.; DART, R. O.; BACA, J. F. M.; FREITAS, P. L.; PEDREIRA, J. P. N. C.; MEDEIROS,

P. S. C.; SILVA, G. B.; PONTONI, D. R. **Mapa de aptidão agrícola das terras do Brasil, escala 1:500.000**. Rio de Janeiro: Embrapa; IBGE, 2024. Disponível em: <https://geoinfo.dados.embrapa.br/catalogue/#/map/6499>. Acesso em: 29 jul. 2025.

CAULIER, S.; GILLIS, A.; COLAU, G.; LICCIARDI, F.; LIÉPIN, M.; DESOIGNIES, N.; & BRAGARD, C. Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 143, 2018.

CLIMADATA. **Clima de Vassouras (RJ)**. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/americas-do-sul/brasil/rio-de-janeiro/vassouras-33690/>. Acesso em: 18 ago. 2025.

COLE, J. R.; WANG, Q.; FISH, J. A.; CHAI, B.; MCGARRELL, D. M.; SUN, Y.; & TIEDJE, J. M. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. **Nucleic acids research**, v. 42, n. D1, p. D633-D642, 2013.

DA SILVA COSTA, E.; DA SILVA COSTA, K. D.; DE CARVALHO FILHO, J. L. S.; & DE OLIVEIRA SILVA, M. Reação de resistência do tomateiro à *Ralstonia solanacearum* em condições de casa de vegetação. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 6, p. 19413-19428, 2023.

DE LUCA, G.; BARAKAT, M.; ORTET, P.; FOCESATO, S.; JOURLIN-CASTELLI, C.; ANSALDI, M.; & HEULIN, T. The cyst-dividing bacterium *Ramlibacter tataouinensis* TTB310 genome reveals a well-stocked toolbox for adaptation to a desert environment. **PLoS One**, v. 6, n. 9, p. e23784, 2011.

DE MENEZES, A. B.; LOCKHART, R. J.; COX, M. J.; ALLISON, H. E.; & MCCARTHY, A. J. Cellulose degradation by micromonosporas recovered from freshwater lakes and classification of these actinomycetes by DNA gyrase B gene sequencing. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 22, p. 7080-7084, 2008.

DESLANDES, J.A. Doenças do tomateiro no Nordeste. **Boletim da Sociedade Brasileira de Agronomia**, Rio de Janeiro, v.3, n.4, p.442–453, 1940.

DORAN, J. W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M. A. **Soil health and sustainability**. Advances in Agronomy, San Diego, v. 56, p. 2-54, 1996.

EDGAR, R. Use pesquisa. Laboratório Nacional Lawrence Berkeley. (LBNL), **Berkeley, CA** (Estados Unidos), 2010.

EMATER-RIO. **Acompanhamento sistemático da produção agrícola 2023 – Sistema Agrogeo**. Disponível em: <https://www.emater.rj.gov.br/index.php/node/151>. Acesso em: 18 fev. 2024.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**, 1997. P.212.

FAOSTAT (FAO). **Production: Crops and livestock products – Tomatoes (World, 2022)**. Roma: FAO, 2022. Disponível em: FAOSTAT (base de dados). Acesso em: 18 ago. 2025.

FAUST, KAROLINE; RAES, JEROEN. Microbial interactions: from networks to models. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 8, p. 538-550, 2012.

FELIX, R.; ONYANGO, O. J.; ELIAZER, O. M. Assessment of Irish Potato Cultivars' Field Tolerance to Bacterial wilt(*Ralstonia solanacearum*) in Kenya. **Plant Pathology Journal**, v. 9, n. 3, p. 122-128, 2011.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution** **39**, p.783-791, 1985.

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 402 p. 2008.

GIRARD, L.; LOOD, C.; HÖFTE, M.; VANDAMME, P.; ROKNI-ZADEH, H.; VAN NOORT, V.; & DE MOT, R. The ever-expanding *Pseudomonas* genus: description of 43 new species and partition of the *Pseudomonas putida* group. **Microorganisms**, v. 9, n. 8, p. 1766, 2021.

GOMILA, M.; PEÑA, A.; MULET, M.; LALUCAT, J.; & GARCÍA-VALDÉS, E. Phylogenomics and systematics in *Pseudomonas*. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 214, 2015.

GOUID. W. A. Tomato production, processing & technology. 3~. ed. **CT1 publications**. 1992. 500p.

GROBE, S.; WINGENDER, J.; FLEMMING, H.C.; 2001. Capability of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* to survive in chlorinated water. **International Journal of Hygiene and Environmental Health** **204 (2e3)**, 139e142.

GROBKINSKY, D. K.; TAFNER, R.; MORENO, M. V.; STENGLEIN, S. A.; GARCÍA DE SALAMONE, I. E.; NELSON, L. M.; & ROITSCH, T. Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 23310, 2016.

GULATI, A.; RAHI, P.; & VYAS, P. Characterization of phosphate-solubilizing fluorescent pseudomonads from the rhizosphere of seabuckthorn growing in the cold deserts of Himalayas. **Current microbiology**, v. 56, n. 1, p. 73-79, 2008.

HE, F. E. coli genomic DNA extraction. **Bio-protocol**, p. e97-e97, 2011.

HIFNAWY, M.; HASSAN, H. M.; MOHAMMED, R.; M. FOUDA, M.; SAYED, A. M.; A. HAMED, A.; & ABDELMOHSEN, U. R. Induction of antibacterial metabolites by co-cultivation of two red-sea-sponge-associated actinomycetes *Micromonospora* sp. UR56 and *Actinokinespora* sp. EG49. **Marine Drugs**, v. 18, n. 5, p. 243, 2020.

HIGGINS, D. G. CLUSTAL V: multiple alignment of DNA and protein sequences. In: **Computer analysis of sequence data**. Springer, Totowa, NJ. p.307-318, 1994.

HU, Q.; TAN, L.; GU, S.; XIAO, Y.; XIONG, X.; ZENG, W. A.; & DENG, Y. Network analysis infers the wilt pathogen invasion associated with non-detrimental bacteria. **npj Biofilms and Microbiomes**, v. 6, n. 1, p. 8, 2020.

HUET, GAËLLE. Breeding for resistances to *Ralstonia solanacearum*. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 715, 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA)**: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro: IBGE, 2024.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal (PAM)**: área plantada, área colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção. Rio de Janeiro: IBGE, 2025.

IQBAL, A.; & HASNAIN, S. Auxin producing *Pseudomonas* strains: biological candidates to modulate the growth of *Triticum aestivum* beneficially. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, n. 09, p. 1693, 2013.

ISLAM, M. A.; NAIN, Z.; ALAM, M. K., BANU, N. A., & ISLAM, M. R. In vitro study of biocontrol potential of rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. **Egyptian journal of Biological Pest control**, v. 28, n. 1, p. 90, 2018.

JANATI, W.; MIKOU, K.; EL GHADRAOUI, L.; & ERRACHIDI, F. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria naturally colonizing legumes rhizosphere in Morocco. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 958300, 2022.

JAYARAMAN, S.; NAOREM, A. K.; LAL, R.; DALAL, R. C.; SINHA, N. K.; PATRA, A. K.; & CHAUDHARI, S. K. Disease-suppressive soils—beyond food production: a critical review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 21, p. 1437-1465, 2021.

JIANG, H.; XU, X.; FANG, Y.; OGUNYEMI, S. O.; AHMED, T.; LI, X.; & LI, B. Metabarcoding reveals response of rice rhizosphere bacterial community to rice bacterial leaf blight. **Microbiological Research**, v. 270, p. 127344, 2023.

KANG, S. M.; RADHAKRISHNAN, R.; KHAN, A. L.; KIM, M. J.; PARK, J. M.; KIM, B. R.; & LEE, I. J. Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal 43 and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 84, p. 115-124, 2014.

KAMPERS, L. F. C.; VOLKERS, R. J. M.; MARTINS DOS SANTOS, V. A. P. *Pseudomonas putida* KT 2440 is HV 1 certified, not GRAS. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n. 5, p. 845-848, 2019.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. **Package ‘factoextra’**. Extract and visualize the results of multivariate data analyses, v. 76, 2017.

KHALID, A.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z. A. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **Journal of Applied Microbiology**, v.96, p. 473-480, 2004.

KHALID, A.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z. A. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **Journal of Applied Microbiology**, v.96, p. 473-480, 2004.

KINKEL, L. L.; BAKKER, M. G.; SCHLATTER, D. C. A coevolutionary framework for managing disease-suppressive soils. **Annual Review of Phytopathology**, v. 49, n. 1, p. 47-67, 2011.

KLOEPPER, JOSEPH W.; RYU, CHOONG-MIN; ZHANG, SHOUAN. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. **Phytopathology**, v. 94, n. 11, p. 1259-1266, 2004.

KÖHL, J.; KOLNAAR, R.; RAVENSBERG, W. J. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 845, 2019.

KUMAR S.; STECHER G.; PETERSON D.; TAMURA K. MEGA-CC: Computing core of molecular evolutionary genetics analysis program for automated and iterative data analysis. **Bioinformatics** v.28, p. 2685-2686, 2012.

KURABACHEW, Henok; WYDRA, Kerstin. Induction of systemic resistance and defense-related enzymes after elicitation of resistance by rhizobacteria and silicon application against *Ralstonia solanacearum* in tomato (*Solanum lycopersicum*). **Crop Protection**, v. 57, p. 1-7, 2014.

KUROZAWA, C. & PAVAN, M. A. P. Doenças do tomateiro. In: Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 2005. v. 2, p. 607– 626.

LANA, U. D. P.; RIBEIRO, V.; GOMES, E.; & OLIVEIRA-PAIVA, C. D. **Seleção em larga escala de bactérias produtoras do hormônio ácido indolacético (AIA), auxina associada à promoção de crescimento em plantas**. 2017.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. **The measurement of observer agreement for categorical data**. *Biometrics*, v. 33, p. 159–174, 1977.

LANE, D.J. **16S/23S rRNA sequencing**. In: **STACKEBRANDT, E; GOODFELLOW, M** **Nucleic acid techniques in bacterial systematics**. p. 115–175. New York: Wiley, 1991.

LESLIE, J. F.; & SUMMERELL, B. A. **The Fusarium laboratory manual**. Ames: Blackwell, 2006. 388 p.

LIANG H.; DUAN J.; SIBLEY CD.; SURETTE MG.; DUAN K. Identification of mutants with altered phenazine production in *Pseudomonas aeruginosa*. **J Med Microbiol**. 2011;60:22–34.

LIANG, J.; WEI, C.; SONG, X.; WANG, R.; SHI, H.; TAN, J.; & WANG, X. Bacterial wilt affects the structure and assembly of microbial communities along the soil-root continuum. **Environmental Microbiome**, v. 19, n. 1, p. 6, 2024.

LIANG, J.; WEI, C.; SONG, X.; WANG, R.; SHI, H.; TAN, J. Bacterial wilt affects the structure and assembly of microbial communities along the soil-root continuum. **Environmental Microbiome**, v. 19, n. 1, p. 6, 2024.

LIU, L.; ZHU, K.; WURZBURGER, N.; & ZHANG, J. Relationships between plant diversity and soil microbial diversity vary across taxonomic groups and spatial scales. **Ecosphere**, v. 11, n. 1, e02999, 2020.

LOPES, C. A.; LOPES, Carlos Alberto. **Murcha bacteriana ou murchadeira: uma inimiga do tomateiro em climas quentes**. 2009.

LOPES, C. A.; REIS, A. **Diferenciando as murchas do tomateiro**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2022. (Comunicado Técnico, 135).

LOPES, C. A.; ROSSATO, M. **Diagnóstico de Ralstonia solanacearum em tomateiro**. 2013.

LOVE MI, HUBER W, ANDERS S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with Deseq2. *Genome biology* 15 : 550. M. **Nucleic acid techniques in bacterial systematics**. New York: Wiley, 1991. p.115–175.

MAGOČ, T.; SALZBERG, S. L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. **Bioinformatics**, v. 27, n. 21, p. 2957-2963, 2011.

MARIAN, M.; NISHIOKA, T.; KOYAMA, H.; SUGA, H.; & SHIMIZU, M. Biocontrol potential of Ralstonia sp. TCR112 and Mitsuraria sp. TWR114 against tomato bacterial wilt. **Applied Soil Ecology**, v. 128, p. 71-80, 2018.

MARIANO, R. L. R. Métodos de seleção “in vitro” para controle microbiológico. **Revista Anual de Patologia de Plantas**, v. 1, p. 369–409, 1993.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLOS ONE**, v. 8, p. e61217, 2013.

MELIANI, A.; BENSOLTANE, A.; BENIDIRE, L.; & OUFDOU, K. Plant growth-promotion and IAA secretion with Pseudomonas fluorescens and Pseudomonas putida. **Research & Reviews: Journal of Botanical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 16-24, 2017.

MELLO, T. A.; AZEVEDO, J. L.; FONTES, E. M. G. **Controle biológico de pragas da agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2020.

MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JÚNIOR, F. B.; LOPES, A. A. **Bioanálise do solo: Como interpretar a saúde do solo**. Circular técnica 38. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2018.

MENDES, R.; KRUIJT, M.; DE BRUIJN, I.; DEKKERS, E.; VAN DER VOORT, M.; SCHNEIDER, J. H. M.; PICENO, Y. M.; DeSANTIS, T. Z.; ANDERSEN, G. L.; BAKKER, P. A. H. M.; RAAIJMAKERS, J. M. *Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria*. **Science**, v. 332, p. 1097–1100, 2011.

MERBACH, W.; FANKEM, H.; DEUBEL, A. **Influence of rhizosphere bacteria of African oil palm (*Elaeis guineensis*) on calcium, iron, and aluminum phosphate in vitro mobilization.** In: International symposium “Root Research and Applications”, 2–4 BOKU, Vienna, Austria. Sep. 2009. URL: <http://asrr.boku.ac.at/fileadmin/files/RRcd/session03/poster/042.pdf>.

MEZIANE, H.; VAN DER SLUIS, I.; VAN LOON, L. C.; HÖFTE, M.; & BAKKER, P. A. Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. **Molecular Plant Pathology**, v. 6, n. 2, p. 177-185, 2005.

MIKRYUKOV V (2019) **Metagmisc: miscellaneous functions for metagenomic analysis.**

MUKAKA, M.M. **A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research.** Malawi Med. J. 24, 69–71. 2012.

MONTEIRO, F. P.; WAMSER, A. F.; OGOSHI, C.; VALMORBIDA, J.; CARDOSO, D. A.; PERAZZOLI, V. **Performance of Green Power and Shincheonggang tomato rootstocks in *Ralstonia solanacearum* contaminated area.** 2020.

MULET, M., MONTANER, M., ROMÁN, D., GOMILA, M., KITTINGER, C., ZARFEL, G., ... & GARCÍA-VALDÉS, E. *Pseudomonas* species diversity along the Danube River assessed by rpoD gene sequence and MALDI-TOF MS analyses of cultivated strains. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 2114, 2020.

NAGARAJKUMAR, M.; BHASKARAN, R.; VELAZHAHAN, R. Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by *Pseudomonas fluorescens* in inhibition of *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. **Microbiological Research**, v. 159, n. 1, p. 73-81, 2004.

NANDI, M.; SELIN, C.; BRAWERMAN, G.; FERNANDO, W. D.; & DE KIEVIT, T. Hydrogen cyanide, which contributes to *Pseudomonas chlororaphis* strain PA23 biocontrol, is upregulated in the presence of glycine. **Biological Control**, v. 108, p. 47-54, 2017.

NAUTIYAL, C. Shekhar. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS microbiology Letters**, v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.

NICAULT, M.; ZAITER, A.; DUMARCAY, S.; CHAIMBAULT, P.; GELHAYE, E.; LEBLOND, P.; & BONTEMPS, C. Elicitation of antimicrobial active compounds by *Streptomyces*-fungus co-cultures. **Microorganisms**, v. 9, n. 1, p. 178, 2021.

NOGUEIRA, S. R.; LIMA, F. S.; ROCHA, E. M.; ARAÚJO, D. H. Fungicidas no controle de fusariose do abacaxi no estado de Tocantins. Brasil. **Revista de ciências agrárias**, 37, 4, 447-455. 2014.

OLIVEIRA JÚNIOR, E. A. Tomate. In: LIMA, M. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, E.A.; OLIVEIRA, E.; SILVA, J. P. **Hortaliças e frutas: retrospectiva, procedência e cenários de produção no Maranhão.** 1ªed. São Luís: EDUFMA, v.1, p.234-249, 2012.

OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; SÁ, N. M. H. Phosphate

solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, vol. 41, no. 9, p. 1782–1787, Sep. 2009.

PARA- PROGRAMA DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS. **Relatório de Atividades**. Gerência Geral de Toxicologia. ANVISA. 2014.

PARKS, D. H.; CHUVOCHINA, M.; RINKE, C.; MUSSIG, A. J.; CHAUMEIL, P. A.; & HUGENHOLTZ, P. GTDB: an ongoing census of bacterial and archaeal diversity through a phylogenetically consistent, rank normalized and complete genome-based taxonomy. **Nucleic acids research**, v. 50, n. D1, p. D785-D794, 2022.

PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 420-429, 2014.

PARVIN, W.; RAHMAN, M. M.; GOVENDER, N. T.; & WONG, M. Y. Identification, determination and quantification of indole-3-acetic acid produced by *Pseudomonas aeruginosa* UPMP3 and its effect on the growth of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). **World Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 3, p. 75-83, 2020.

PEIX, A.; RAMÍREZ-BAHENA, M.; VELÁZQUEZ, E. Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. **Infection, genetics and evolution**, v. 9, n. 6, p. 1132-1147, 2009.

QUAST C.; PRUESSE E.; YILMAZ P.; GERKEN J.; SCHWEER T.; YARZA P.; PEPLIES J.; GLÖCKNER F. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic acids research** 41:590–596. 2012.

QUEZADO-DUVAL, A. M.; LOURENÇO JUNIOR, V. Os desafios da Olericultura. Manejo de doenças foliares do tomateiro. **Hortaliças em Revista, Brasília**, v. 1, n. 24, p. 12- 13. 2018.

R CORE TEAM (2021) **R: language and environment for statistical computing R foundation for statistical computing vienna austria**.

RADZKI, W.; GUTIERREZ MAÑERO, F. J.; ALGAR, E., LUCAS GARCÍA, J. A.; GARCÍA-VILLARACO, A.; & RAMOS SOLANO, B. Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 104, n. 3, p. 321-330, 2013.

RAUSEO, J.; CARACCIOLO, A. B.; ADEMOLLO, N.; CARDONI, M.; DI LENOLA, M.; GAZE, W.; & PATROLECCO, L. Dissipation of the antibiotic sulfamethoxazole in a soil amended with anaerobically digested cattle manure. **Journal of Hazardous Materials**, v. 378, p. 120769, 2019.

ROBERT, C. A. M.; HIMMIGHOFEN, P.; MCLAUGHLIN, S.; COFER, T. M.; KHAN, S. A.; SIFFERT, A.; & SASSE, J. Environmental and biological drivers of root exudation. **Annual Review of Plant Biology**, v. 76, 2025.

RODRIGUES, R. R.; PIZETTA, S. C.; DA COSTA JAEGGI, M. E. P.; ROCHA, R. S.; DA SILVA, R. D. K. G.; DA CRUZ, D. P.; & DE ARAÚJO CAPETINI, S. Cultivo do tomateiro

em ambiente protegido sob diferentes tensões de água no solo. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e2289119777-e2289119777, 2020.

RODRÍGUEZ, H.; & FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology advances**, v. 17, n. 4-5, p. 319-339, 1999.

SAHA, M.; MAURYA, B. R.; MEENA, V. S.; BAHADUR, I.; & KUMAR, A. Identification and characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from Indo-Gangetic Plains of India. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 7, p. 202-209, 2016.

SARAVANAKUMAR, D.; SAMIYAPPAN, R. ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. **Journal of applied microbiology**, v. 102, n. 5, p. 1283-1292, 2007.

SARAVANAN, V. S.; SUBRAMONIAM, S. R.; RAJ, Savariappan Anthoni. Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (ZSB) isolates. **Brazilian journal of microbiology**, v. 35, p. 121-125, 2004.

SARWAR, M.; KREMER, R. J. Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. **Letters in applied microbiology**, v. 20, n. 5, p. 282-285, 1995.

SCHROECKH, V.; SCHERLACH, K.; NÜTZMANN, H. W.; SHELEST, E.; SCHMIDT-HECK, W.; SCHUEMANN, J.; & BRAKHAGE, A. A. Intimate bacterial–fungal interaction triggers biosynthesis of archetypal polyketides in *Aspergillus nidulans*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 34, p. 14558-14563, 2009.

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; & GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 587, 2013.

SIGLE, S.; LADWIG, N.; WOHLLEBEN, W.; & MUTH, G. Synthesis of the spore envelope in the developmental life cycle of *Streptomyces coelicolor*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 305, n. 2, p. 183-189, 2015.

SINGH, V. K.; SINGH, Harikesh B.; UPADHYAY, R. S. Role of fusaric acid in the development of ‘Fusarium wilt’ symptoms in tomato: Physiological, biochemical and proteomic perspectives. **Plant physiology and biochemistry**, v. 118, p. 320- 332, 2017.

SOUZA, B.; VAZQUEZ, L. L.; MARUCCI, R. C. Natural enemies of insect pests in neotropical agroecosystems. Biological Control and Functional Biodiversity. **Cham: Springer**, v. 1, p. 546, 2019.

SPOSITO, G.; ZABEL, A. **The assessment of soil quality**. Geoderma, Amsterdam, v. 114, n. 3/4, p. 143-144, 2003.

STOREY, S.; ASHAARI, M. M.; CLIPSON, N.; DOYLE, E.; & DE MENEZES, A. B. Opportunistic bacteria dominate the soil microbiome response to phenanthrene in a microcosm-based study. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2815, 2018.

STOVER, C. K.; PHAM, X. Q.; ERWIN, A. L.; MIZOGUCHI, S. D.; WARRENER, P.; HICKEY, M. J.; & OLSON, M. V. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. **Nature**, v. 406, n. 6799, p. 959-964, 2000.

TEIXEIRA, P. C., DONAGEMMA, G. K., FONTANA, A., & TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solo**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 3. ed. rev. e ampl., 574 p. 2017.

TIMPERIO, A. M., GORRASI, S., ZOLLA, L., & FENICE, M. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry and MALDI BioTyper in comparison to 16S rDNA sequencing for the identification of bacteria isolated from Arctic sea water. **PloS one**, v. 12, n. 7, p. e0181860, 2017.

TITO, T. M., RODRIGUES, N. D. M. B., COELHO, S. M. O., SOUZA, M. M. S., ZONTA, E.; COELHO, I. S. Choice of DNA extraction protocols from Gram negative and positive bacteria and directly from the soil. **Afr J Microbiol Res**, v. 9, n. 12, p.863-871, 2015.

TORRES, N.; HERRERA, I.; FAJARDO, L.; & BUSTAMANTE, R. O. Meta-analysis of the impact of plant invasions on soil microbial communities. **BMC Ecology and Evolution**, v. 21, n. 1, p. 172, 2021.

TRIVEDI P, PANDEY A, PALNI LMS. **In vitro evaluation of antagonistic properties of *Pseudomonas corrugata***. Microbiol Res 163:329– 336. 2008.

TSUKAMOTO, T.; TAKEUCHI, M.; SHIDA, O.; MURATA, H.; & SHIRATA, A. Proposal of *Mycetocola* gen. nov. in the family Microbacteriaceae and three new species, *Mycetocola saprophilus* sp. nov., *Mycetocola tolaasinivorans* sp. nov. and *Mycetocola lacteus* sp. nov., isolated from cultivated mushroom, *Pleurotus ostreatus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 937-944, 2001.

TULLIO, H. E. Potencial de bactérias endofíticas do cacau para o controle de fungos de solo e promoção de crescimento radicular na cultura da soja. 2017. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, 2017.

TÜMMLER, B. What makes *Pseudomonas aeruginosa* a pathogen?. In: *Pseudomonas aeruginosa: Biology, Pathogenesis and Control Strategies*. Cham: **Springer International Publishing**, 2022. p. 283-301.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; BARDGETT, R. D.; VAN STRAALLEN, N. M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, v. 11, p. 296–310, 2008.

WAGG, C.; BENDER, S. F.; WIDMER, F.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 14, p. 5266–5270, 8 abr. 2014. doi:10.1073/pnas.1320054111.

WAHEED, K.; NAWAZ, H.; HANIF, M.A.; E REHMAN, R. 2019. Tomate. Páginas 631-644 em: **Medicinal Plants of South Asia Novel Sources for Drug Discovery** (1ª ed.). M. Hanif, H. Nawaz, M. Khan e H. Byrne, orgs. Elsevier, Amsterdã, Holanda.

WANG, W.; JIA, T.; QI, T.; LI, S.; DEGEN, A. A.; HAN, J.; & SHANG, Z. Root exudates enhanced rhizobacteria complexity and microbial carbon metabolism of toxic plants. **iScience**, v. 25, n. 10, 2022.

WEISBURG, W. G.; BARNS, S. M.; PELLETIER, D. A.; LANE, D. J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. **Journal of bacteriology**, v. 173, n. 2, p. 697-703, 1991.

WELLER, D. M.; RAAIJMAKERS, J. M.; MCSPADDEN GARDENER, B. B.; THOMASHOW, L. S. Populações microbianas responsáveis pela supressão específica de patógenos de plantas. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 309-348, 2002.

WHEATER, D. W. F.; MARA, D. D.; JAWAD, L.; & ORAGUI, J. *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* in sewage and fresh water. **Water Research**, v. 14, n. 7, p. 713-721, 1980.

WINSTEAD, N. N.; KELMAN, ARTHUR. **Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum***. 1952.

XIAO, Y.; ZHANG, S.; LI, H.; TENG, K.; WU, S.; LIU, Y. Metagenomic insights into the response of soil microbial communities to pathogenic *Ralstonia solanacearum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1325141, 2024.

YANG, H.; LI, J.; XIAO, Y.; GU, Y.; LIU, H.; LIANG, Y.; & YIN, H. An integrated insight into the relationship between soil microbial community and tobacco bacterial wilt disease. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2179, 2017.

YANG, S. The Role of Microbial Community Structure in Rice Rhizosphere Over the Growing Season. **Molecular Soil Biology**, v. 15, 2024.

YEOMANS, J. C.; BREMNER, J. M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 19, n. 13, p. 1467-1476, 1988.

YU, H.; WU, X.; ZHANG, G.; ZHOU, F.; HARVEY, P. R.; WANG, L.; & ZHANG, X. Identification of the phosphorus-solubilizing bacteria strain JP233 and its effects on soil phosphorus leaching loss and crop growth. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 892533, 2022.

ZHANG, Q. X., KONG, X. W., LI, S. Y., CHEN, X. J., & CHEN, X. J. Antibiotics of *Pseudomonas protegens* FD6 are essential for biocontrol activity. **Australasian plant pathology**, v. 49, p. 307-317, 2020.

ZHANG, Y.; ZHENG, X.; XU, X.; CAO, L.; ZHANG, H.; ZHANG, H.; & CAO, X. STRAW return promoted the simultaneous elimination of sulfamethoxazole and related antibiotic resistance genes in the paddy soil. **Science of the Total Environment**, v. 806, p. 150525, 2022.

ZHANG, YING; ZHANG, Y., HU, A., ZHOU, J., ZHANG, W., & LI, P. Comparison of bacterial communities in soil samples with and without tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* species complex. **BMC Microbiology**, v. 20, n. 1, p. 89, 2020.

7. APÊNDICE

Tabela 1. Percentual de inibição do crescimento de *Fusarium* spp. por diferentes isolados bacterianos, obtidos a partir de ensaios de confronto direto de culturas, aplicação de extratos bacterianos e avaliação de compostos voláteis

Isolados	% de inibição		
	Confrontamento de culturas	Extrato	Compostos volateis
SS 141	62	4	1
SS 146	45	24	8
SS 161	57	20	30
SS 164	73	20	10
SS 168	93	3	3
SS 173	76	0	2
SS 174	79	28	25
SS 176	70	2	32
SS 179	68	27	15
SS 197	78	28	20
SS 250	65	27	23
VRPAS 34	9	5	2
VRPAS 54	69	23	34
VRPAS 56	4	30	1
VRPAS 57	12	15	1
VRPAS 61	4	33	2
VRPAS 64	5	3	2
VRPAS 77	6	26	2
VRPAS 105	8	1	0
VRPAS 109	3	5	1
VRPAS 112	7	4	3
VRPAS 115	2	23	1