UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

FCA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

VINICIUS ALEXANDRE ÁVILA DOS SANTOS

EFEITOS FISIOLÓGICOS DE *Methylobacterium Symbioticum* SB 23 NO TOMATEIRO

Botucatu

2026

VINICIUS ALEXANDRE ÁVILA DOS SANTOS

EFEITOS FISIOLÓGICOS DE *Methylobacterium Symbioticum* SB23 NO TOMATEIRO

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Horticultura)

Orientador(a): Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

Botucatu

2026

D724e

dos Santos, Vinicius Alexandre
Efeitos fisiológicos de Methylobacterium Symbioticum SB23 no tomateiro / Vinicius Alexandre dos Santos. -- Botucatu, 2026
70 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu
Orientador: João Domingos Rodrigues

1. Solanum lycopersicum. 2. Methylobacterium symbioticum. 3. Fixação biológica de nitrogênio. 4. Bioinsumos. 5. Eficiência Fotossintética. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Efeitos fisiológicos de Methylobacterium symbioticum SB23 no tomateiro

AUTOR: VINICIUS ALEXANDRE ÁVILA DOS SANTOS
ORIENTADOR: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Agronomia (Horticultura), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES (Participaçao Presencial)
Departamento de Biodiversidade e Bioestatística / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp

Dr. EDUARDO SANTANA AIRES (Participaçao Presencial)
Diretoria Mosaic Biosciences / Mosaic Biosciences

Prof.ª Dr.ª ELIZABETH ORIKA ONO (Participaçao Presencial)
Departamento de Biodiversidade e Bioestatística / UNESP / Câmpus de Botucatu - IBB

Botucatu, 02 de fevereiro de 2026.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Kellen e Fábio, minha fonte diária de inspiração, exemplo de vida e dedicação. A vocês, que sempre me incentivaram e confiaram na minha competência, minha eterna Gratidão.

À minha companheira de vida, Natalia, por todo carinho, suporte e companheirismo durante essa fase tão importante.

Aos meus companheiros de casa, Lucas (Proibido) e Hugo (John Lennon), que são como irmãos, sempre me ajudando a encarar os desafios diários.

A todos os amigos que, mesmo distantes, sempre fizeram questão de estar presentes, garantindo afago e acolhimento nos momentos difíceis.

Aos meus companheiros de quatro patas, Matinta, Sumé, Olivia e, em especial, Charlie e Pimenta, por todo amor incondicional compartilhado.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. João Domingos, que sempre se preocupou comigo e esteve disposto a me ajudar, contribuindo imensamente para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

À professora Beth, por, em muitos momentos, também desempenhar um papel de orientação, sempre incentivando e, claro, preparando ótimos jantares.

Aos companheiros do meu Grupo de pesquisa, Fernanda, Francisco, Eduardo e Matheus, por todo suporte e parceria ao longo dessa jornada.

À Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” – Botucatu, pela oportunidade de alcançar mais uma etapa profissional.

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

RESUMO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é uma das culturas hortícolas mais importantes do mundo, demandando um manejo nutricional eficiente para alcançar altas produtividades. O nitrogênio (N) é um macronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento dessa cultura; contudo, sua aplicação excessiva pode causar impactos ambientais e fisiológicos negativos. Nesse contexto, o uso de microrganismos promotores de crescimento e fixadores biológicos de nitrogênio, como *Methylobacterium symbioticum*, surge como uma alternativa sustentável para otimizar a nutrição nitrogenada e reduzir a dependência de fertilizantes sintéticos. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação de *M. symbioticum* sobre parâmetros fisiológicos, bioquímicos e produtivos do tomateiro cultivado em casa de vegetação. O experimento foi conduzido na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção de São Manuel (UNESP), seguindo delineamento experimental em blocos casualizados, com cinco tratamentos e cinco repetições, sendo estes: T1 (100% da dose recomendada de N), T2 (125% da dose recomendada de N), T3 (100% da dose recomendada de N + *M. symbioticum*), T4 (75% da dose recomendada de N + *M. symbioticum*) e T5 (50% da dose recomendada de N + *M. symbioticum*). Foram avaliadas variáveis relacionadas a fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas, atividade de enzimas antioxidantes e produtividade. Os resultados indicaram que a inoculação com *M. symbioticum*, associada à redução das doses de nitrogênio, promoveu benefícios fisiológicos, incluindo maior taxa de assimilação de CO_2 e eficiência no transporte de elétrons. Além disso, verificou-se redução da peroxidação lipídica e menor acúmulo de H_2O_2, sugerindo um efeito mitigador do estresse oxidativo. Em termos produtivos, o tratamento T5 (50% da dose recomendada de N + *M. symbioticum*) resultou no maior número de frutos e na maior produtividade. Conclui-se que a inoculação de *M. symbioticum* pode ser uma estratégia eficiente para reduzir a aplicação de fertilizantes nitrogenados, melhorando o desempenho fisiológico e produtivo do tomateiro, contribuindo para a sustentabilidade da produção agrícola.

Palavras-chave*:* *Solanum lycopersicum; Methylobacterium symbioticum*; fixação biológica de nitrogênio; bioinsumos; eficiência fotossintética.

ABSTRACT

The tomato plant (*Solanum lycopersicum*) is one of the most important horticultural crops worldwide, requiring efficient nutritional management to achieve high yields. Nitrogen (N) is an essential macronutrient for the growth and development of this crop; however, its excessive application can cause negative environmental and physiological impacts. In this context, the use of plant growth-promoting microorganisms, such as *Methylobacterium symbioticum*, emerges as a sustainable alternative to optimize nitrogen nutrition and reduce dependence on synthetic fertilizers. This study aimed to evaluate the effects of *M. symbioticum* inoculation on physiological, biochemical, and productive parameters of tomato plants grown in a greenhouse. The experiment was conducted at the Teaching, Research, and Production Farm of São Manuel (UNESP), following a randomized block design with five treatments and five replications, as follows: T1 (100% of the recommended N dose), T2 (125% of the recommended N dose), T3 (100% of the recommended N dose + *M. symbioticum*), T4 (75% of the recommended N dose + *M. symbioticum*), and T5 (50% of the recommended N dose + *M. symbioticum*). Variables related to chlorophyll *a* fluorescence, gas exchange,, antioxidant enzyme activity, and productivity were evaluated. The results indicated that *M. symbioticum* inoculation, combined with reduced nitrogen doses, provided physiological benefits, including a higher CO_2 assimilation rate and greater efficiency in electron transport. additionally, a reduction in lipid peroxidation and lower accumulation of H_2O_2 were observed, suggesting a mitigating effect on oxidative stress. In terms of productivity, treatment T5 (50% of the recommended N dose + *M. symbioticum*) resulted in the highest number of fruits and the highest yield. It is concluded that *M. symbioticum* inoculation can be an effective strategy to reduce nitrogen fertilizer application, improving the physiological and productive performance of tomato plants and contributing to the sustainability of agricultural production.

Keywords: *Solanum lycopersicum; Methylobacterium symbioticum*; biological nitrogen fixation; bioinputs; photosynthetic efficiency.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Croqui da área experimental 32
Tabela 2 - Eficiência quântica potencial do Fv/Fm (Fv/Fm), coeficiente de extinção fotoquímico (qP), coeficiente de extinção não-fotoquímico (NPQ) e taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) de plantas de Tomate cv. DaVinci. avaliadas em cinco épocas diferentes após instalação dos tratamentos 38
Tabela 3 - Taxa de assimilação de CO_2 (A, µmol m^{-2} s^{-1}); condutância estomática (gs, mol m^{-2} s^{-1}), concentração interna de CO_2 na folha (Ci, µmol mol^{-1}), taxa de transpiração (E, mmol m^{-2} s^{-1}), eficiência do uso da água (A/E, µmol CO_2 (mmol $H_2O)^{-1}$) e eficiência de carboxilação (A/Ci) de plantas de Tomate cv. DaVinci. avaliadas em cinco épocas diferentes após instalação dos tratamentos.....41
Tabela 4 - Atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT, uKat ug^{-1} de proteína), peroxidase (POD, umol de purpurogalima min^{-1} mg^{-1} de proteina) e superóxido dismutase (SOD, U mg^{-1} de proteína) em folhas de tomateiro avaliadas em três épocas diferentes após instalação dos tratamentos 44
Tabela 5 - MDA (µM H_2O_2 g massa fresca^{-1}) em folhas de tomateiro avaliadas em três épocas diferentes após instalação dos tratamentos.....45
Tabela 6 - Peróxido de hidrogênio (µM H_2O_2 g massa fresca^{-1}) em folhas de tomateiro avaliadas em três épocas diferentes após instalação dos tratamentos 46
Tabela 7 - Número de frutos por planta e massa total dos frutos (g/planta) de plantas de Tomate cv. DaVinci 47
Tabela 8 - Classificação de frutos por tratamento após colheita de plantas de Tomate cv. DaVinci 48
Tabela 9 - Valores de massa seca da parte aeras das plantas de Tomate cv. Da Vinci.....49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
2 REVISÃO DE LITERATURA 17
2.1 Aspectos gerais sobre a cultura do tomate 17
2.2 Nitrogênio 19
2.3 Mudanças Climáticas e Impactos Ambientais 21
2.4 Methylobacterium Symbioticum 23
2.5 Bioinsumos 25
2.6 Fluorescência da Clorofila a e Trocas Gasosas 26
2.7 Resposta aos estresses e enzimas antioxidantes 28
3 MATERIAL E MÉTODOS 31
3.1 Cultivo das plantas de tomate 31
3.2 Aplicação dos Tratamentos 32
3.3 Avaliações Fisiológicas 32
***3.3.1 Fluorescência da Clorofila a* 34**
***3.3.2 Trocas Gasosas* 35**
***3.3.3 Análises bioquímicas* 37**
3.4 Indicadores de produtividade 37
3.5 Análise estatística 38
4 RESULTADOS 38
4.1 Variáveis Fisiológicas 38
***4.1.1 Fluorescência da Clorofila a* 41**
***4.1.2 Trocas Gasosas* 43**
***4.1.3 Análises bioquímicas* 47**
4.2 Indicadores de Produtividade 49
5 DISCUSSÃO 50
5.1 Fluorescência da Clorofila a e Troca Gasosas 50
***5.1.1 Fluorescência da Clorofila a* 50**
***5.1.2 Trocas Gasosas* 51**
5.2 Análises Bioquímicas 53
5.3 Indicadores de Produtividade 54
5.4 Considerações Finais 56
6 CONCLUSÃO 59

REFERÊNCIA 61

1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é uma das hortaliças mais importantes do mundo, sendo a segunda mais cultivada e consumida globalmente (FAOSTAT, 2021). O Brasil ocupa a 8ª posição entre os maiores produtores, com uma colheita de aproximadamente 4,17 milhões de toneladas em 202

3 (Tomato production by country, 2025) e 4,7 milhões de toneladas em 2024 (IBGE, 2025) Os estados de Goiás, São Paulo e Minas Gerais lideram a produção nacional (IBGE, 2021). A produção total de tomate mundialmente chegou a 192 milhões de toneladas em 2023, com um recorde histórico segundo a FAO (Tomato production by country, 2025)

Para atingir altas produtividades, o tomateiro exige manejo nutricional eficiente, pois apresenta elevada demanda por nutrientes, especialmente os macronutrientes essenciais ao crescimento: nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) (Lenhardt; Cassol; Gabriel, 2017; Silva *et al*., 2018). Nesse contexto, o emprego de tecnologias que otimizem a nutrição da cultura é fundamental para o aumento da produtividade, sendo os produtos microbiológicos e bioestimulantes alternativas promissoras (Padri *et al*., 2016).

O nitrogênio, em particular, desempenha papel crucial no desenvolvimento do tomateiro, sendo essencial para diversos processos fisiológicos. No entanto, sua aplicação inadequada pode resultar em efeitos adversos. Segundo Ferraz (2011), tanto a deficiência quanto o excesso de nitrogênio podem causar estresse fisiológico, impactando negativamente a produtividade. A deficiência reduz o crescimento e a produção de biomassa, enquanto o excesso pode levar a alterações metabólicas, reduzindo a eficiência produtiva e aumentando a suscetibilidade da planta a pragas e patógenos. Além disso, o desequilíbrio nutricional pode comprometer processos como a fotossíntese, a respiração e a translocação de fotoassimilados.

Além dos desafios agronômicos, o uso excessivo de fertilizantes nitrogenados representa uma preocupação ambiental significativa. A aplicação indiscriminada de nitrogênio pode levar à emissão de óxido nitroso (N_2O), um gás de efeito estufa com potencial de aquecimento global cerca de 300 vezes maior que o dióxido de carbono (CO_2) (da Silva, 2019). Além disso, perdas de nitrogênio por lixiviação e volatilização

contribuem para a contaminação de lençóis freáticos e corpos d’água, agravando processos como a eutrofização e a degradação da qualidade da água (Cabral, 2007).

Uma alternativa sustentável para o fornecimento de nitrogênio ao tomateiro é a inoculação com *Methylobacterium symbioticum*, bactéria fixadora de nitrogênio atmosférico. Quando aplicada à cultura, essa bactéria coloniza rapidamente as plantas, captando o nitrogênio do ar e convertendo-o em amônio, que é diretamente assimilado e incorporado na síntese de aminoácidos utilizados nos processos fisiológicos da planta (Witt; Weaver, 2022).

Apesar do potencial dessa tecnologia, ainda há poucos estudos sobre os efeitos fisiológicos da inoculação de *Methylobacterium symbioticum* no tomateiro. Diante da necessidade de buscar alternativas eficientes e sustentáveis para a adubação nitrogenada, torna-se essencial investigar as interações dessa bactéria com a cultura e seus impactos na nutrição e no desenvolvimento das plantas.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação de *Methylobacterium Symbioticum* sobre parâmetros fisiológicos, bioquímicos e produtivos do tomateiro cultivado em casa de vegetação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Gerais Sobre a Cultura do Tomate

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é uma hortaliça de origem andina, domesticada e cultivada por civilizações pré-colombianas antes de sua disseminação global. Sua introdução no Brasil ocorreu no final do século XIX, consolidando-se como uma das principais culturas hortícolas em termos de produção e consumo. O tomate destaca-se por sua versatilidade de uso, sendo consumido in natura e processado em diversas formas, como molhos, polpas e temperos. Seu valor nutricional é significativo, fornecendo vitaminas B1, A e C, além de antioxidantes como o licopeno, que contribui para a prevenção de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (Makishima; Mela, 2005; Lana; Tavares, 2010; Pedroso, 2019).

A cultura do tomate tem grande expressão no setor agrícola global, sendo liderada por países como China, Índia e Estados Unidos (FAOSTAT, 2018). A produção e a produtividade do tomateiro são influenciadas por fatores climáticos, avanços tecnológicos e a dinâmica econômica do mercado (CONAB, 2019). O Brasil figura entre os principais produtores, destacando-se tanto na produção de tomates para consumo in natura quanto para processamento industrial com área cultivado de 59 mil ha em 2023 e chegando a 61,7 mil em 2024 segundo IBGE.

A cadeia de valor do tomate é complexa e envolve diversas etapas, desde a produção até a comercialização. A interdependência entre os agentes da cadeia é essencial para a estabilidade do setor. O comércio internacional de produtos derivados do tomate tem se expandido, sendo que, em 2017, o volume de tomates frescos ou refrigerados comercializados globalmente atingiu 6,5 milhões de toneladas, movimentando cerca de US$ 7,9 bilhões (UN Comtrade Database, 2017) e em 2023 o volume global comercializado de tomates frescos/refrigerados chegou a US$ 11,5 bilhões (Tomatoes, fresh or chilled. Imports and Exports 2023)

No Brasil, a safra de 2024 foi estimada em 4,7 milhões de toneladas, com área cultivada tendo um acréscimo de 9,7% em relação ao ano anterior, impulsionada pelo crescimento da produção industrial (IBGE, 2024). O tomate está presente em mais de 72% dos municípios brasileiros, sendo uma cultura relevante para a geração de renda

e emprego. Cerca de 38% da produção nacional provêm de agricultores familiares (IBGE, 2017; HFBrasil, 2021; EMBRAPA, 2022).

Os atributos nutricionais do tomate têm sido amplamente estudados, especialmente sua composição rica em licopeno e antioxidantes, que contribuem para a prevenção de doenças crônicas (Trindade, 2011). Além do impacto positivo na saúde, a cultura tem importância econômica significativa, impulsionando o desenvolvimento regional e a segurança alimentar (Gomes, 2017). Entretanto, a cadeia produtiva enfrenta desafios, como oscilações de preço, variabilidade climática e incidência de pragas e doenças.

O cultivo do tomateiro é tecnicamente exigente, demandando conhecimento sobre nutrição, irrigação e manejo fitossanitário. Um dos principais problemas enfrentados pelos produtores é o alto índice de pragas e doenças, frequentemente combatidos com defensivos químicos. De acordo com Menten e Lourival (2020), o tomateiro é a cultura que mais demanda defensivos agrícolas no Brasil, com uma aplicação média de 46,87 kg de ingredientes ativos por hectare, impactando custos de produção e sustentabilidade.

Para minimizar esses desafios, instituições de pesquisa, como a EMBRAPA, têm investido no desenvolvimento de variedades melhoradas geneticamente, mais produtivas e resistentes a pragas e doenças. O uso de híbridos, associado a avanços em irrigação e manejo nutricional, tem permitido ganhos significativos de produtividade. Entretanto, a influência de fatores ambientais, como temperatura e sazonalidade, impacta diretamente a qualidade e o preço da produção (HFBrasil, 2021; EMBRAPA, 2022).

A fase de colheita e pós-colheita também requer planejamento adequado, pois o tomate apresenta alta taxa metabólica após a colheita, resultando em perdas significativas devido à deterioração rápida. Fatores como colheita manual ou mecanizada, armazenamento, transporte e distância até os mercados consumidores influenciam diretamente a qualidade do produto. No Brasil, estima-se que mais de 70% do tomate transportado não conta com isolamento térmico adequado, o que contribui para elevadas perdas pós-colheita (Stein, 2010; Machado, 2018; EMBRAPA, 2022).

As mudanças nas preferências do consumidor têm impulsionado a demanda por produtos orgânicos e sustentáveis, ampliando o mercado para tomates produzidos com menor impacto ambiental. O crescimento do setor de produtos orgânicos no

Brasil reflete uma tendência global, exigindo estratégias de gestão eficientes para tornar o cultivo do tomate mais sustentável e competitivo (Costa *et al*., 2017; Pedroso, 2019).

2.2 Nitrogênio

O nitrogênio (N) é um macronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo um dos elementos mais demandados na agricultura moderna. Sua importância decorre do papel estrutural e funcional em biomoléculas fundamentais, como aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos e clorofila, sendo diretamente responsável pela manutenção da fotossíntese e pelo crescimento vegetativo (Kluge; Tezotto-Uliana; da Silva, 2015). Apesar de ser o gás mais abundante na atmosfera terrestre (cerca de 78% do ar atmosférico), o N na forma molecular (N_2) não é assimilável pela maioria dos organismos vivos. Para ser utilizado pelas plantas, deve ser convertido em formas assimiláveis, como nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+), processos que ocorrem naturalmente por meio do ciclo biogeoquímico do nitrogênio ou artificialmente via fertilização mineral (Bredemeier; Mundstock, 2000; Malavolta, 2006).

A Revolução Verde, iniciada na década de 1960, impulsionou o uso intensivo de fertilizantes nitrogenados na agricultura, promovendo ganhos expressivos de produtividade. A produção industrial de fertilizantes nitrogenados baseia-se no processo Haber-Bosch, que sintetiza amônia a partir do N_2 atmosférico e gás hidrogênio, sob altas pressões e temperaturas elevadas. Apesar de ser um avanço tecnológico crucial para a segurança alimentar global, esse processo consome Grandes quantidades de combustíveis fósseis, contribuindo para a emissão de gases de efeito estufa e para o aumento dos custos de produção agrícola (Chagas, 2007; FAO, 2019).

No Brasil, aproximadamente 29% dos fertilizantes aplicados contêm nitrogênio, refletindo sua importância para as culturas agrícolas, principalmente nas de alto rendimento. A ureia ($CO(NH_2)_2$) é a fonte nitrogenada mais utilizada mundialmente devido ao seu elevado teor de nitrogênio (46% de N), viabilizando economicamente sua aplicação. No entanto, a ureia apresenta elevado potencial de perdas por volatilização de amônia, processo intensificado sob altas temperaturas, solos alcalinos

e baixa umidade. A hidrólise da ureia é catalisada pela enzima urease, resultando em carbonato de amônio, que rapidamente se decompõe em amônia e bicarbonato, podendo resultar em perdas superiores a 78% do nitrogênio aplicado (Ernani; Steckling; Bayer, 2001; Tasca *et al*., 2011).

O ciclo biogeoquímico do nitrogênio envolve processos interligados que regulam a disponibilidade do elemento no ambiente. A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um dos mecanismos mais relevantes nesse ciclo, realizada por bactérias diazotróficas, que convertem o N_2 atmosférico em amônia (NH_3) por meio da enzima nitrogenase. Essa fixação pode ocorrer em diferentes tipos de associações, desde bactérias de vida livre (ex.: *Azotobacter*), bactérias associativas (ex.: *Herbaspirillum*) e simbiontes (ex.: *Rhizobium*, que forma nódulos radiculares em leguminosas) (Vieira, 2017).

Além da FBN, o ciclo do nitrogênio inclui processos como nitrificação, desnitrificação e lixiviação. A nitrificação ocorre em duas etapas: primeiro, bactérias como *Nitrosomonas* convertem o amônio em nitrito (NO_2^-); em seguida, bactérias como *Nitrobacter* convertem o nitrito em nitrato (NO_3^-), que é altamente solúvel e prontamente absorvido pelas plantas. No entanto, o nitrato também é suscetível à lixiviação, podendo contaminar lençóis freáticos e promover a eutrofização de corpos d'água, afetando a biodiversidade aquática (Andrade *et al*., 2009; Zoppas; Bernardes; Meneguzzi, 2016).

Outro processo crucial é a desnitrificação, que ocorre em ambientes anaeróbios, onde bactérias especializadas utilizam o nitrato como receptor final de elétrons na respiração celular, convertendo-o em óxido nitroso (N_2O) e gás nitrogênio (N_2). O N_2O é um potente gás de efeito estufa, com potencial de aquecimento global aproximadamente 300 vezes maior que o CO_2, destacando-se como um problema ambiental significativo associado à aplicação excessiva de fertilizantes nitrogenados (Rocha; Cardoso, 2021; Erisman *et al*., 2015).

O manejo inadequado do nitrogênio na agricultura tem impactos ambientais e econômicos severos. O excesso de fertilizantes nitrogenados contribui para a acidificação do solo, emissão de gases de efeito estufa e contaminação hídrica. Estudos indicam que a eficiência de uso do nitrogênio na agricultura é relativamente baixa, com menos de 50% do nutriente aplicado sendo efetivamente absorvido pelas plantas. Isso reforça a necessidade de práticas sustentáveis, como o uso de inibidores

da urease e da nitrificação, fertilizantes de liberação controlada e estratégias de manejo integrado da fertilidade do solo (Rezende *et al*., 2023).

Diante dos desafios ambientais e econômicos, a fixação biológica do nitrogênio tem emergido como alternativa sustentável e eficiente, reduzindo a dependência de fertilizantes sintéticos. No Brasil, essa abordagem representa entre 38% e 49% do nitrogênio utilizado na agropecuária na última década. O desenvolvimento de inoculantes à base de bactérias fixadoras de nitrogênio, aliados a sistemas agrícolas inovadores, pode otimizar a nutrição vegetal, reduzir os impactos ambientais e garantir maior sustentabilidade para a agricultura (Rezende *et al*., 2023).

2.3 Mudanças Climáticas e Impactos Ambientais

Os gases de efeito estufa (*GEE*) desempenham papel fundamental na manutenção da temperatura média global, estimada em aproximadamente 30 °C acima do que seria na ausência desses gases. Os principais *GEE* naturais incluem vapor d'água (H_2O), dióxido de carbono (CO_2), ozônio (O_3), metano (CH_4) e óxido nitroso (N_2O) (Seinfeld; Pandis, 2016). O mecanismo do efeito estufa ocorre quando a radiação solar atravessa a atmosfera e aquece a superfície terrestre; parte dessa energia é absorvida e reemitida na forma de radiação infravermelha, sendo capturada pelos GEE, que redirecionam parte do calor de volta à superfície, evitando sua dispersão total para o espaço (Xavier; Kerr, 2013). Esse fenômeno é essencial para a manutenção da vida na Terra; no entanto, atividades humanas têm intensificado a concentração desses gases, exacerbando o efeito estufa e impulsionando o aquecimento global.

A intensificação do efeito estufa está diretamente relacionada ao aumento das emissões antropogênicas de *GEE*, impulsionadas principalmente pela queima de combustíveis fósseis, mudanças no uso da terra e emissões da agropecuária. O Acordo de Paris, firmado na COP21, estabeleceu o compromisso global de limitar o aumento da temperatura terrestre a menos de 1,5 °C acima dos níveis pré-industriais. No entanto, o crescimento contínuo das emissões, especialmente de N_2O, representa desafio para essas metas, podendo elevar a temperatura global em até 3 °C até o final do século (Tian *et al*., 2020). O óxido nitroso destaca-se entre os *GEE* devido ao seu

potencial de aquecimento global cerca de 300 vezes maior que o CO_2, além de contribuir para a degradação da camada de ozônio (da Silva, 2019).

A agricultura é responsável por aproximadamente 66% das emissões globais de N_2O, resultantes principalmente da aplicação excessiva de fertilizantes nitrogenados e do processo industrial de produção de ácido nítrico (HNO_3), essencial para a fabricação de fertilizantes (Sanford *et al*., 2012). Embora esses fertilizantes sejam cruciais para aumentar a produtividade agrícola e atender à crescente demanda global por alimentos, seu uso descontrolado acarreta impactos ambientais severos, incluindo a intensificação do aquecimento global e a degradação dos ecossistemas (Reay *et al*., 2012). A estabilidade química do N_2O na atmosfera, com tempo de residência de aproximadamente 114 anos, reforça sua influência de longo prazo no sistema climático (Rocha; Cardoso, 2021). O conceito de tempo de residência refere-se ao tempo médio que uma molécula de um gás permanece na atmosfera, antes de ser removida por processos químicos ou físicos. No caso do óxido nitroso (N_2O), sua remoção ocorre principalmente na estratosfera, onde ele é decomposto por reações fotoquímicas.

Além das emissões de N_2O, a volatilização de amônia (NH_3) proveniente de fertilizantes nitrogenados contribuem significativamente para a liberação de nitrogênio reativo (Nr) na atmosfera. Esse processo ocorre quando o NH_3 interage com ácidos atmosféricos, como ácido nítrico (HNO_3), ácido nitroso (HNO_2) e ácido clorídrico (HCl), formando partículas secundárias. Essas partículas têm o potencial de influenciar o balanço radiativo global, podendo tanto contribuir para o resfriamento da atmosfera quanto intensificar processos de aquecimento localizados (Krupa, 2003; Kulmala *et al*., 2004). Eventos como o escurecimento do céu em São Paulo em 2019 ilustram a influência dessas partículas na qualidade do ar e na visibilidade, impactando diretamente a saúde humana e os ecossistemas.

A contaminação de águas doces por compostos nitrogenados representa outro impacto ambiental significativo do uso intensivo de fertilizantes. Apesar de apenas 3% da água do planeta ser doce e disponível para consumo, Grande parte dessa reserva está sob crescente ameaça devido à lixiviação de nitrato (NO_3^-) e à contaminação por amônia em rios, lagos e aquíferos subterrâneos. No Brasil, cerca de 52% dos municípios dependem de águas subterrâneas para abastecimento (Ana, 2019).

O excesso de fertilizantes nitrogenados tem elevado os teores de nitrato em lençóis freáticos, contribuindo para a eutrofização de corpos d'água e ameaçando a qualidade da água potável (Cabral, 2007).

A eutrofização ocorre devido ao aporte excessivo de nutrientes, especialmente NO_3^- e NH_4^+, que promovem a proliferação descontrolada de algas e cianobactérias. A formação de uma camada densa de organismos microscópicos impede a penetração de luz no corpo d'água, comprometendo o processo fotossintético de plantas submersas e levando à redução dos níveis de oxigênio dissolvido. Esse processo pode resultar em mortandade de peixes e outros organismos aquáticos devido à hipoxia, além da liberação de toxinas prejudiciais à saúde humana e animal (Barreto *et al*., 2013).

A ingestão de água contaminada por altos níveis de nitrato também está associada a riscos à saúde humana, incluindo a síndrome do bebê azul, causada pela conversão de nitrato em nitrito no organismo, interferindo no transporte de oxigênio pelo sangue (Who, 2002). Além disso, estudos sugerem correlação entre altas concentrações de nitrato em água potável e o aumento da incidência de câncer gástrico e outras doenças metabólicas.

Globalmente, diversos países enfrentam desafios relacionados à contaminação por nitrato. Na China, estima-se que até 57% dos poços artesianos estejam fora dos padrões de potabilidade, enquanto nos Estados Unidos, aproximadamente 45% dos poços rurais apresentam concentrações de NO_3^- acima do limite seguro estabelecido pelas agências reguladoras (Chen *et al*., 2017; Wassenaar; Hendry; Harrington, 2006). No Brasil, ainda há uma carência de dados abrangentes sobre a contaminação por nitrato, mas estudos preliminares indicam que a expansão do uso de fertilizantes nitrogenados tem aumentado significativamente os riscos ambientais e de saúde pública (Haller, 2003).

2.4 *Methylobacterium Symbioticum*

As bactérias do gênero *Methylobacterium* são microrganismos pertencentes à classe *Alphaproteobacteria*, caracterizados como gram-negativos e amplamente distribuídos no ambiente. Esses microrganismos desempenham papéis ecológicos significativos devido à sua capacidade de utilizar compostos de um único átomo de

carbono (C1), como metanol e metilamina, como fonte primária de energia e carbono (Konovalova *et al*., 2007). Essa habilidade lhes confere uma vantagem ecológica em ambientes onde esses compostos estão presentes, como filosfera, rizosfera e ambientes aquáticos (Patt *et al*., 1976).

Uma característica distintiva de *Methylobacterium* é a coloração rosada de suas colônias, resultante da produção de carotenoides, principalmente xantofilas, que auxiliam na proteção contra estresses oxidativos e conferem resistência à radiação UV (Van Dien *et al*., 2003). A espécie *Methylobacterium symbioticum* tem se destacado na pesquisa agrícola por sua capacidade de atuar como promotora de crescimento vegetal, especialmente por meio da fixação biológica de nitrogênio e pela produção de fitormônios (Pascual *et al*., 2020).

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) por *Methylobacterium symbioticum* ocorre através da ação da enzima nitrogenase, que converte o nitrogênio atmosférico (N_2) em formas assimiláveis pelas plantas, como amônio (NH_4^+). Essa conversão ocorre de maneira endofítica, uma vez que essa bactéria tem a capacidade de colonizar tecidos internos das plantas, estabelecendo interações simbióticas que favorecem a nutrição nitrogenada sem necessidade de aplicações externas de fertilizantes sintéticos (Torres *et al*., 2023).

Além da FBN, *M. symbioticum* influencia processos fisiológicos das plantas ao produzir fitormônios, como auxinas e citocininas, que estimulam o crescimento radicular e a absorção de nutrientes. Ensaios realizados com culturas de arroz, milho e videira demonstraram que a inoculação de *M. symbioticum* resultou em aumento de biomassa, maior acúmulo de clorofila e incremento significativo da produtividade (Pascual *et al*., 2020).

Estudos *in vitro* realizados com a cepa *M. symbioticum* SB0023/3 T (=CECT 9862 T) demonstraram sua capacidade endofítica em culturas agrícolas, sendo isolada tanto em raízes quanto em folhas de plantas inoculadas. Além disso, verificou-se um aumento significativo nos valores de SPAD (Soil Plant Analysis Development), indicando uma maior concentração de clorofila nas plantas tratadas (Pascual *et al*., 2020). Isso sugere um efeito positivo da bactéria na eficiência fotossintética e na assimilação de carbono.

Nos experimentos de campo conduzidos com arroz, milho e videiras para vinho, a inoculação da cepa SB0023/3 T resultou em redução da necessidade de fertilizantes nitrogenados em até 42%, mantendo ou aumentando o rendimento da produção em

até 28% (Pascual *et al*., 2020). Esses resultados reforçam o potencial dessa bactéria na promoção de uma agricultura mais sustentável, reduzindo a dependência de insumos químicos e mitigando impactos ambientais associados à aplicação excessiva de fertilizantes sintéticos.

2.5 Bioinsumos

A crescente preocupação com os impactos ambientais e a segurança alimentar tem impulsionado o desenvolvimento e a adoção de bioinsumos na agricultura. Esses insumos biológicos representam uma alternativa sustentável aos agroquímicos convencionais, reduzindo a dependência de fertilizantes sintéticos e pesticidas químicos, além de promoverem melhorias na qualidade do solo e na resistência das plantas a estresses bióticos e abióticos (EMBRAPA, 2021).

Os bioinsumos englobam uma ampla gama de produtos, incluindo microrganismos benéficos (bactérias, fungos e vírus), extratos vegetais e metabólitos secundários, enzimas, macroorganismos (como predadores naturais de pragas), biofertilizantes, bioestimulantes e agentes de controle biológico. Esses produtos podem atuar na melhoria da nutrição vegetal, na promoção do crescimento, no aumento da resistência a estresses ambientais e na proteção contra patógenos (Faria *et al*., 2022). A eficácia desses insumos depende de fatores como a adaptação ao ambiente de aplicação, a formulação adequada e a compatibilidade com as culturas agrícolas.

A produção e a comercialização de bioinsumos demandam rigoroso controle de qualidade para garantir a eficiência e segurança dos produtos. A avaliação de bioinsumos microbiológicos envolve a identificação precisa dos microrganismos utilizados, a quantificação das unidades formadoras de colônias (UFC) por grama ou litro da formulação, testes de virulência e análise de contaminantes. Além disso, fatores como tempo de prateleira, estabilidade sob diferentes condições ambientais e viabilidade biológica são fundamentais para a regulamentação e aplicação em larga escala (Faria *et al*., 2022).

O mercado de bioinsumos tem apresentado crescimento exponencial nos últimos anos. Segundo a Fortune Business Insights, o setor de biopesticidas foi avaliado em US$ 6,51 bilhões (R$ 33,6 bilhões) em 2022, com previsão de crescimento para US$ 18,15 bilhões (R$ 93,7 bilhões) até 2029, refletindo um

aumento de 15,77% ao ano. Da mesma forma, o mercado de biofertilizantes, avaliado em US$ 2,02 bilhões (R$ 10,4 bilhões) em 2022, tem previsão de alcançar US$ 4,47 bilhões (R$ 23,1 bilhões) até 2029, enquanto os bioestimulantes devem crescer de US$ 3,14 bilhões (R$ 16,2 bilhões) para US$ 6,69 bilhões (R$ 34,5 bilhões) no mesmo período, com um aumento de 11,43% (Ondei, 2023).

No Brasil, políticas públicas têm incentivado a adoção de bioinsumos, como o Programa Nacional de Bioinsumos, lançado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Esse programa tem como objetivo fomentar a pesquisa, o desenvolvimento e a produção de bioinsumos para diversas aplicações agrícolas, visando à sustentabilidade da produção e à redução dos impactos ambientais associados ao uso excessivo de agroquímicos (MAPA, 2021). A EMBRAPA, em consonância com essa diretriz, tem desenvolvido estratégias para ampliar a adoção de bioinsumos, buscando a substituição de insumos sintéticos por alternativas biológicas, promovendo práticas agrícolas mais sustentáveis e alinhadas aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU (EMBRAPA, 2021).

Entretanto, apesar dos avanços na adoção de bioinsumos, desafios ainda persistem. A variabilidade na resposta das culturas aos bioinsumos, a necessidade de padronização de produtos e a falta de conhecimento técnico por parte dos produtores são entraves à consolidação dessa tecnologia no campo. Além disso, a formulação e o armazenamento adequados são essenciais para garantir a viabilidade dos microrganismos e a eficácia dos produtos biológicos (Zandonadi, 2018).

2.6 Fluorescência da Clorofila a e Trocas Gasosas

A fotossíntese é um dos processos bioquímicos mais importantes da vida vegetal, sendo responsável pela conversão da energia luminosa em energia química, essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Esse processo ocorre por meio da fixação de dióxido de carbono (CO_2) atmosférico e da produção de compostos orgânicos, utilizando água como fonte de elétrons e liberando oxigênio como subproduto. O mecanismo fotoquímico ocorre em duas fases: a fase fotoquímica, que se desenrola nos tilacoides dos cloroplastos e gera ATP e NADPH, e a fase bioquímica, que ocorre no estroma, promovendo a fixação do carbono pelo ciclo de Calvin-Benson (Taiz; Zeiger, 2017).

A absorção de luz pelas moléculas de clorofila gera estados excitados que podem ser dissipados por três vias: transferência de energia para moléculas vizinhas via ressonância, uso da energia na conversão fotoquímica (transporte de elétrons) ou emissão de fótons na forma de fluorescência. A fluorescência da clorofila *a* é uma ferramenta fundamental para avaliar a eficiência do fotossistema II (*Fv/Fm*), uma vez que fornece informações sobre o estado funcional do aparato fotossintético e sua resposta a fatores ambientais e estresses fisiológicos (Zemri *et al*., 2012).

As análises de fluorescência da clorofila a e de trocas gasosas são métodos fisiológicos amplamente utilizados para mensurar a atividade fotossintética e diagnosticar o impacto de fatores ambientais sobre a eficiência fotossintética das plantas. A fluorescência da clorofila a permite mensurar a eficiência fotoquímica do *Fv/Fm* por meio de parâmetros como rendimento quântico máximo da fotossíntese (*Fv/Fm*), coeficiente de extinção não fotoquímica (*NPQ*) e coeficiente de extinção fotoquímica (*qP*), os quais indicam a capacidade da planta de usar a luz absorvida para conversão de energia ou dissipada como calor (Maxwell; Johnson, 2000).

Já as trocas gasosas são avaliadas por meio de parâmetros como taxa de assimilação de CO_2 (*A*), condutância estomática (*gs*), taxa de transpiração (*E*) e eficiência do uso da água (*EUA*), permitindo inferir a capacidade das plantas de absorver e fixar carbono em diferentes condições ambientais (Oliveira *et al*., 2018).

A eficiência fotossintética pode ser afetada por diversos fatores ambientais, incluindo deficiência de nutrientes, temperatura, déficit hídrico e excesso de luz. O nitrogênio (N) desempenha papel central na regulação da fotossíntese, pois é um componente essencial das clorofilas e enzimas envolvidas no ciclo de Calvin-Benson. O suprimento adequado de N promove o aumento da área foliar, maior teor de clorofila e maior fixação de CO_2. Em contrapartida, a deficiência de nitrogênio reduz a taxa fotossintética, induz a senescência foliar precoce e compromete a eficiência do uso da luz, resultando em menor crescimento e produtividade das plantas (Machado *et al*., 2004).

O excesso de nitrogênio, particularmente na forma amoniacal (NH_4^+), pode provocar toxicidade, gerando um desequilíbrio no metabolismo energético das plantas. Em elevadas concentrações, o NH_4^+ compromete o transporte de elétrons na cadeia fotossintética, alterando a relação entre ATP e NADPH e impactando negativamente o fluxo de energia na fotossíntese. Isso Pode levar a um aumento na dissipação não fotoquímica (*NPQ*), como mecanismo de defesa contra o estresse

oxidativo induzido pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio (*ERO*) nos cloroplastos (Taiz; Zeiger, 2009).

A fluorescência da clorofila a também é um excelente indicador da integridade funcional do *Fv/Fm* sob condições de estresse. Sob estresse hídrico, por exemplo, ocorre fechamento dos estômatos para minimizar a perda de água, reduzindo a absorção de CO_2 e a taxa fotossintética líquida. Essa limitação no transporte de elétrons pode causar acúmulo de energia luminosa excessiva no *Fv/Fm*, aumentando a dissipação de calor e alterando a eficiência quântica do fotossistema (*Fv/Fm*). De forma semelhante, sob estresse térmico, observa-se redução na eficiência da fotossíntese devido à inibição da atividade enzimática no ciclo de Calvin e ao aumento da fotoinibição no *Fv/Fm*, o que se reflete na diminuição da relação *Fv/Fm* e no aumento de *NPQ* (Demi*gs*-Adams; Adams, 1996).

2.7 Resposta aos Estresses e Enzimas Antioxidantes

As plantas estão constantemente expostas a diversos tipos de estresses, que podem ser classificados em bióticos, como ataque de patógenos e herbivoria, e abióticos, incluindo seca, salinidade, temperaturas extremas e excesso de radiação. Em resposta a esses estresses, as plantas ativam uma série de mecanismos fisiológicos e bioquímicos para minimizar os danos e garantir sua sobrevivência e produtividade (Jaspers; Kangasjärvi, 2010).

Um dos principais efeitos dos estresses é o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (*ERO*), como ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH•). Essas moléculas podem causar estresse oxidativo, danificando lipídios, proteínas e DNA, o que pode comprometer o crescimento e desenvolvimento das plantas (Gill; Tuteja, 2010). Nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos, onde ocorrem processos metabólicos intensos, a produção de *ERO* é especialmente relevante e deve ser controlada por mecanismos antioxidantes eficientes (Rossatto *et al*., 2017).

Durante a fotossíntese, as *ERO* Podem ser formadas de três maneiras principais: (i) no fotossistema II, quando a energia luminosa não é adequadamente dissipada, promovendo a formação do estado tripleto da clorofila e subsequente geração de *ERO*; (ii) no fotossistema I, durante a reação de Mehler, em que o oxigênio molecular é reduzido a superóxido na cadeia transportadora de elétrons; e (iii) na

fotorrespiração, em que a ação da Rubisco na oxidação do fosfoglicolato resulta na formação de H_2O_2 (Dinakar; Djilianov; Bartels, 2012).

Para mitigar os efeitos deletérios das *ERO*, as plantas desenvolveram um sofisticado sistema antioxidante que envolve mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. O sistema enzimático inclui superóxido dismutase (*SOD*), catalase (*CAT*), peroxidase de ascorbato (*APX*), glutationa redutase (*GR*) e peroxidase (*POD*), as quais atuam na remoção ou neutralização das *ERO*, impedindo danos celulares (KUMAR *et al*., 2018). A *SOD* converte o superóxido em H_2O_2, que, por sua vez, é decomposto em água e oxigênio pela ação da *CAT* e da *APX* (Alscher *et al*., 2002). A *GR* participa da regeneração da glutationa reduzida, essencial na manutenção do balanço redox celular, enquanto a *POD* atua na detoxificação de peróxidos na parede celular e vacúolo (Barbosa *et al*., 2014; Chen *et al*., 2016).

Além das enzimas antioxidantes, as plantas possuem sistemas de defesa não enzimáticos baseados na ação de metabólitos secundários e antioxidantes, como ácido ascórbico (vitamina C), glutationa, tocoferóis (vitamina E), flavonoides e carotenoides. Esses compostos desempenham papéis essenciais na eliminação de *ERO* e na proteção contra danos oxidativos induzidos por estresses ambientais (Gill; Tuteja, 2010).

O nitrogênio tem um papel crítico na resposta ao estresse oxidativo. Como constituinte da clorofila, proteínas, enzimas e metabólitos secundários, ele influencia diretamente a capacidade antioxidante das plantas (Sharma *et al*., 2012). Em níveis adequados, o nitrogênio pode fortalecer a resposta antioxidante, aumentando a produção de enzimas como *SOD*, *CAT* e *APX*. No entanto, fornecimento excessivo ou deficiente desse nutriente pode comprometer a homeostase redox, promovendo estresse oxidativo. Altas concentrações de NO_3^- Podem se acumular nos vacúolos, enquanto o excesso de NH_4^+ Pode ser tóxico, desregulando a fotossíntese e a respiração celular, além de promover a formação de espécies reativas de nitrogênio (Ernani; Steckling; Bayer, 2001; Souza; Carvalho, 2011).

O óxido nítrico (NO), uma molécula sinalizadora derivada do metabolismo do nitrogênio, também tem papel crucial na regulação da resposta antioxidante. Em baixas concentrações, o NO atua como antioxidante indireto, interagindo com *ERO* e promovendo a ativação de genes relacionados à defesa celular (Magalhães *et al*., 2006). No entanto, em altas concentrações, ele pode reagir com peróxido de

hidrogênio (H_2O_2) e formar peroxinitrito ($ONOO^-$), um composto altamente reativo que causa danos celulares irreversíveis (Souza; Carvalho, 2011).

3 MATERIAL E METODOS

3.1 Cultivo das Plantas de Tomate

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção de São Manuel, município de São Manuel, estado de São Paulo, pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista, UNESP (22°44′ S de, 47°34′ W), no período de Janeiro de 2024 a Abril de 2024. O clima da região é classificado como mesotérmico subtropical úmido (Peel *et al*., 2007). Foi utilizado o híbrido de tomate DaVinci, do tipo italiano com hábito de crescimento indeterminado, desenvolvido pela Sakata®. O cultivo foi conduzido em casa de vegetação tipo arco com 30 m de comprimento, 7 m de largura e pé direito de 3 m, coberto com filme de polietileno de baixa densidade de 150 μM aditivado e fechado nas laterais com tela de sombreamento de 75%. O preparo do solo para plantio foi realizado conforme descrito no Boletim 100 (Trani *et al*., 2022), de acordo com a análise de solo, assim como os cálculos para a fertirrigação.

As mudas de tomateiro foram plantadas com um espaçamento de 1,16 m entre as fileiras e 0,5 m entre as plantas dentro de cada fileira. O cultivo foi realizado em sistema tutorado utilizando bambu, com condução vertical das plantas por meio de uma única haste. A irrigação foi feita por gotejamento, utilizando fitas flexíveis com emissores espaçados a cada 0,2 m e vazão de 1,6 $L.h^{-1}$.

3.2 Aplicação dos Tratamentos

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos casualizados com cinco tratamentos e cinco blocos, sendo cada parcela constituída por sete plantas com três plantas úteis. Os tratamentos utilizados foram (Tabela 1): 100% da dose de Nitrogênio recomendada (T1); 125% da dose de Nitrogênio recomendada (T2); 100% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. symbioticum* (T3); 75% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. symbioticum* (T4) e 50% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. symbioticum* (T5). A aplicação de nitrogênio foi realizada manualmente para cada tratamento ao longo de todo o ciclo da cultura. Já o M. symbioticum (Cepa SB23) foi aplicado 40 dias após o transplante das mudas (DAT), seguindo a recomendação

de 333 g/ha. Esta bactéria é comercializada pela Corteva® sob o nome comercial Utrisha N®, contendo uma concentração de 3 × 10^7 UFC/g. Essa aplicação foi feita utilizando um pulverizador manual de CO_2 pressurizado, operando com pressão constante de 0,3 kgf.cm^{-2} e vazão de 0,2 L.min^{-1}, equipado com bicos de pulverização do tipo cone cheio. Durante a pulverização, toda a planta foi lavada com o produto, assegurando a cobertura completa das folhas, hastes e demais partes aéreas. Durante as aplicações, uma cortina plástica foi posicionada entre as plantas, com o objetivo de evitar ou minimizar a deriva entre os diferentes tratamentos.

Tabela 1 - Croqui da área experimental

Tratamentos				
5	3	1	3	1
4	1	3	5	2
3	2	2	1	3
2	4	5	4	4
1	5	4	2	5
Bloco A	**Bloco B**	**Bloco C**	**Bloco D**	**Bloco E**

Frente do experimento

3.3 Avaliações Fisiológicas

3.3.1 Fluorescência da Clorofila a

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada utilizando um fluorômetro portátil de luz modulada acoplada ao IRGA (OptiSciences, modelo OS1-FL, Hudson, USA), modelo LI-6400, da Li-Cor. As medições foram realizadas pelo método do pulso saturado (Maxwell; Johnson, 2000), seguindo a nomenclatura recomendada por Baker e Rosenqvist (2004).

Para as análises, as folhas totalmente expandias do terço médio da planta foram envolvidas com papel alumínio por 30 minutos para inibição do transporte de elétrons e adaptação ao escuro, garantindo uma avaliação precisa dos parâmetros fotoquímicos. As medições ocorreram no período da manhã, entre 8:00 e 11:00 h, sob luz artificial, sendo determinados os seguintes parâmetros:

1. Fluorescência inicial (F_0): medida sob luz fraca, antes da ativação dos fotossistemas.
2. Fluorescência máxima (F_m): registrada após um pulso de luz saturante.
3. Fluorescência variável ($F_v = F_m - F_0$): diferença entre fluorescência máxima e mínima.
4. Eficiência quântica potencial do *Fv/Fm* (F_v/F_m): indica o rendimento quântico da fase fotoquímica da fotossíntese.
5. Eficiência quântica das antenas (F_v/F_m'): representa a eficiência da captura da excitação dos elétrons pelos centros de reação abertos do *PSII*.
6. Coeficiente de extinção fotoquímica (*qP*): reflete o metabolismo fotossintético do carbono e é uma estimativa do fluxo de elétrons.
7. Coeficiente de extinção não fotoquímica (*NPQ* ou *qNP*): representa as formas de dissipação de energia, principalmente calor.
8. Taxa aparente de transporte de elétrons (*ETR*): estimativa da atividade fotossintética baseada na eficiência do *PSII.*

A equação utilizada para o cálculo da *ETR* foi: $ETR = \Phi PSII \times PAR \times AF \times 0,5$ conforme descrito por Schreiber *et al*. (1986), onde:

- *ΦPSII* (Eficiência quântica efetiva do *PSII*) = (*Fm' - Fs*) / *Fm'*, sendo Fm' a fluorescência máxima na luz (após pulso de saturação) e *Fs* a fluorescência estacionária na luz.
- *PAR*: Densidade de fluxo de fótons fotossintéticos incidente sobre a folha, expressa em μmol fótons m^{-2} s^{-1}.
- *AF*: Absorbância foliar, geralmente considerada como 0,84 para folhas verdes, mas passível de medição direta.
- 0,5: Fator de partição da energia, assumindo distribuição igual de fótons entre *PSII* e *PSI*.

Este método permite a separação entre processos fotoquímicos e não fotoquímicos no *PSII* e oferece uma abordagem não destrutiva, rápida e sensível, essencial para estudos de estresse, produtividade e fisiologia vegetal (Schreiber *et al*., 1986).

Os dados obtidos foram analisados conforme as metodologias descritas por Schreiber *et al*. (1986) e Baker (2008), permitindo uma avaliação detalhada da eficiência fotoquímica e do estado fisiológico do fotossistema II.

Ao todo, foram realizadas cinco coletas de dados, com intervalos quinzenais, iniciando-se aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos.

3.3.2 Trocas Gasosas

As medições das trocas gasosas foram realizadas utilizando um sistema aberto de fotossíntese com analisador de CO_2 e vapor d'água por radiação infravermelha (Infra Red Gas Analyzer - IRGA), modelo LI-6400 (Li-Cor, *EUA*). As avaliações ocorreram no período da manhã, entre 8:00 e 11:00 h, em folhas completamente expandidas no terço médio da planta, sob condições controladas de temperatura e umidade. A intensidade luminosa foi padronizada utilizando uma fonte de luz artificial, com Radiação Fotossinteticamente Ativa (RFA, sigla internacional PAR - Photosynthetically Active Radiation) de 1000 μmol m^{-2} s^{-1}, valor determinado previamente por meio de uma curva de resposta à luz realizada com o próprio IRGA. Durante as medições, a concentração de CO_2 do ambiente variou entre 250 a 350 μmol mol^{-1} de ar.

Os seguintes parâmetros foram quantificados:

- Taxa de assimilação de CO_2 (*A*, μmol CO_2 m^{-2} s^{-1})
- Taxa de transpiração (*E*, mmol H_2O m^{-2} s^{-1})
- Condutância estomática (g_s, mol H_2O m^{-2} s^{-1})
- Concentração interna de CO_2 na folha (C_i, μmol CO_2 mol^{-1} de ar)

A eficiência do uso da água (*EUA*, μmol CO_2 $mmol^{-1}$ H_2O) foi determinada pela relação *A/E*, enquanto a eficiência de carboxilação (*A/Ci*, μmol CO_2 m^{-2} s^{-1}/μmol m^{-2} s^{-1}) foi calculada como a razão entre a taxa de assimilação de CO_2 e a concentração interna de CO_2 na folha. A eficiência de carboxilação reflete a atividade da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco).

Os cálculos foram realizados utilizando o programa de análise de dados do equipamento medidor de fotossíntese, conforme metodologia proposta por von Caemmerer e Farquhar (1981).

Ao todo, foram realizadas cinco coletas de dados, com intervalos quinzenais, iniciando-se aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos.

3.3.3 Análises Bioquímicas

Para as análises bioquímicas, foram coletadas folhas completamente expandidas no terço médio da planta e congeladas instantaneamente em nitrogênio líquido em três épocas diferentes após aplicação do *M. Symbioticum*. Dentro do laboratório, as folhas foram mantidas em um congelador a -80°C. As folhas foram trituradas com o auxílio de nitrogênio líquido até se tornarem um pó fino, e então foram pesadas 300 mg para a extração enzimática, 200 mg para a peroxidação lipídica. Todo o procedimento foi conduzido utilizando tubos previamente resfriados e pinças para evitar o descongelamento das amostras.

A extração enzimática foi executada seguindo a metodologia proposta por Kar e Mishra (1976), incluindo a adição de 5 mL de uma solução contendo tampão fosfato 50 mM (pH 6,7) e polivinilpolipirrolidona 1% (m v^{-1}). O homogeneizado foi centrifugado a 15.000 g por 20 min, e o sobrenadante foi coletado para os ensaios enzimáticos. A quantificação das proteínas solúveis de cada extrato enzimático foi realizada de acordo com Bradford (1976) para determinar a atividade específica das enzimas antioxidantes.

A determinação da atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (*SOD*) foi calculada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do nitroazul tetrazólio (NBT), conforme a metodologia proposta por Giannopolite e Ries (1977), com modificações de Dousseau *et al*. (2016). As leituras de absorbância foram realizadas a 560 nm (espectrofotômetro Biotek Epoch™ Microplate Elisa). Uma unidade de atividade de *SOD* foi definida como a quantidade necessária de enzima para inibir a fotorredução do NBT em 50% sob condições de ensaio, expressa em U mg·proteína $^{-1}$.

Para determinar a atividade da catalase (*CAT*), foi seguida a metodologia proposta por Havir e McHale (1987), adaptada por Dousseau *et al*. (2016), com redução da absorbância a 240 nm a cada 30 segundos durante 4 minutos, monitorizando o consumo de peróxido de hidrogênio por meio de espectrofotômetro (Espectrofotômetro Biotek Epoch™ Microplate Elisa). A unidade de atividade *CAT* foi

definida como a degradação de 1 µM de H_2O_2 minuto^{-1}. Para *CAT*, o coeficiente de extinção molar (ε) será calculado como 36 mM^{-1} cm^{-1} em mKat mg proteína^{-1}.

A atividade da enzima peroxidase (*POD*) foi determinada conforme a metodologia proposta por Teisseire e Guy (2000) com modificações, e as leituras foram realizadas a 430 nm em espectrofotômetro. Para o cálculo da *POD*, foi utilizado o coeficiente de extinção molar (2,5 mmol L^{-1} cm^{-1}) e a atividade expressa em µmol min^{-1} mg proteína^{-1}.

A peroxidação lipídica (*MDA*) foi determinada segundo a técnica proposta por Rama Devi e Prasad (1998). Amostras de folhas frescas trituradas (200 mg) foram homogeneizadas em 5 mL de tampão de extração contendo 0,25% de TBA e 10% de TCA e, em seguida, fervidas a 95°C por 30 min. A mistura reacional foi resfriada em gelo após ser centrifugada a 10.000 g por 5 min, e a absorbância foi medida nos comprimentos de onda de 560 e 600 nm, com os resultados expressos em µmol de *MDA* por grama de massa fresco.

O método descrito por Alexieva *et al*. (2001) foi utilizado para quantificar o conteúdo de H_2O_2 em amostras de tecido vegetal. Inicialmente, amostras frescas do tecido foram trituradas e homogeneizadas em 1 mL de TCA a 0,1%, sendo, em seguida, agitadas em vórtex. Após essa etapa, as amostras foram centrifugadas a 12.000 g por 15 minutos a 4°C. O sobrenadante resultante foi cuidadosamente coletado e utilizado imediatamente para as etapas seguintes da análise.

Para a reação, 0,5 mL do extrato foi misturado com 0,5 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0) e 2,0 mL de solução de KI 1 M. Essa mistura foi incubada no escuro por 1 hora. Após o período de incubação, a leitura foi realizada em um espectrofotômetro ajustado para 390 nm. A concentração de H_2O_2 nas amostras foi calculada com base em uma curva padrão estabelecida no intervalo de 0 a 100 µM. Por fim, foi calculada a relação entre o conteúdo de H_2O_2 e a massa seca do tecido vegetal analisado.

Foram realizadas três coletas de dados em datas distintas: a primeira aos 15 dias, a segunda aos 30 dias e a terceira aos 75 dias após a aplicação dos tratamentos.

3.4 Indicadores de Produtividade

A colheita iniciou-se quando os frutos começaram a atingir o ponto de maturação fisiológica (64 dias após o transplante das mudas). Foram feitas ao todo oito colheitas e em cada colheita os frutos foram colhidos separadamente por plantas uteis em cada tratamento (4 plantas por tratamento).

Após cada colheita foi contabilizado: a produção total de frutos, quantificada pela produção média de frutos por planta, acumulada ao longo das colheitas, com auxílio de balança de precisão e o resultado expresso em kg planta-1; o número total de frutos obtido pela contagem de frutos por planta, com resultado decorrente da somatória de todas as colheitas. Os frutos também foram classificados entre 1A (menor que 100g); 2A (entre 100 e 120g) e 3A (Maior que 120g) de acordo com os padrões de classificação do CEAGESP.

Ao fim do experimento a parte aérea das plantas de tomate foram cortadas e levadas a estufa de secagem com circulação forçada de ar, a 60ºC, por três dias e depois foram pesadas separadamente.

3.5 Análise Estatística

Os dados coletados foram previamente analisados quanto a distribuição de normalidade através do teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov pelo software MINITAB® v.18. Após verificação da normalidade dos dados eles foram submetidos às análises de variância pelo teste F, e as médias foram comparadas pelo teste Tukey 5% de probabilidade utilizando o programa A*GR*OESTAT®. Foram construídos Gráficos através do programa SIGMAPLOT® v.15.0.

4 RESULTADOS

4.1 Variáveis Fisiológicas

4.1.1 Fluorescência da Clorofila a

Tabela 2 – Eficiência quântica potencial do *Fv/Fm* (*Fv/Fm*), coeficiente de extinção fotoquímico (*qP*), coeficiente de extinção não-fotoquímico (*NPQ*) e taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) de plantas de Tomate cv. DaVinci. avaliadas em cinco épocas diferentes após instalação dos tratamentos

Fontes de Variação	**Primeira Coleta**			
	Teste de Médias			
	Fv/Fm	*qP*	*NPQ*	ETR
T1 100% N	0,97 a	0,27 a	1,36 a	114,70 a
T2 125% N	0,98 a	0,33 a	1,45 a	139,76 a
T3 100% N + *M. Symbioticum*	0,97 a	0,35 a	1,53 a	143,11 a
T4 75% N + *M. Symbioticum*	0,97 a	0,38 a	1,50 a	153,67 a
T5 50% N + *M. Symbioticum*	0,98 a	0,35 a	1,53 a	140,98 a
Fontes de Variação	**Segunda Coleta**			
	Teste de Médias			
	Fv/Fm	*qP*	*NPQ*	ETR
T1 100% N	0,96 a	0,26 a	1,36 b	117,23 a
T2 125% N	0,96 a	0,32 a	1,47 ab	134,49 a
T3 100% N + *M. Symbioticum*	0,98 a	0,30 a	1,56 ab	124,46 a
T4 75% N + *M. Symbioticum*	0,97 a	0,34 a	1,75 a	144,57 a
T5 50% N + *M. Symbioticum*	0,96 a	0,23 a	1,35 b	105,58 a
Fontes de Variação	**Terceira Coleta**			
	Teste de Médias			
	Fv/Fm	*qP*	*NPQ*	ETR
T1 100% N	0,96 a	0,24 a	1,41 a	106,53 a
T2 125% N	0,97 a	0,26 a	1,59 a	114,68 a

T3 100% N + *M. Symbioticum*	0,97 a	0,25 a	1,66 a	110,85 a
T4 75% N + *M. Symbioticum*	0,98 a	0,20 a	1,45 a	91,52 a
T5 50% N + *M. Symbioticum*	0,96 a	0,24 a	1,45 a	111,13 a

Fontes de Variação	**Quarta Coleta**			
	Teste de Médias			
	Fv/Fm	*qP*	*NPQ*	ETR
T1 100% N	0,97 a	2,30 a	1,22 a	80,61 a
T2 125% N	0,96 a	2,36 a	1,24 a	80,31 a
T3 100% N + *M. Symbioticum*	0,96 a	2,31 a	1,15 a	83,51 a
T4 75% N + *M. Symbioticum*	0,95 a	2,38 a	1,26 a	84,71 a
T5 50% N + *M. Symbioticum*	0,96 a	2,25 a	1,22 a	87,33 a

Fontes de Variação	**Quinta Coleta**			
	Teste de Médias			
	Fv/Fm	*qP*	*NPQ*	ETR
T1 100% N	0,98 a	0,17 a	1,59 a	81,15 ab
T2 125% N	0,98 ab	0,26 a	1,58 a	75,19 b
T3 100% N + *M. Symbioticum*	0,98 a	0,20 a	1,42 a	98,79 ab
T4 75% N + *M. Symbioticum*	0,96 b	0,25 a	1,55 a	107,10 a
T5 50% N + *M. Symbioticum*	0,97 ab	0,20 a	1,42 a	100,01 ab

Médias seguidas da mesma letra minúscula comparam os tratamentos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. T1=100% da dose recomendada de N; T2=125% da dose de Nitrogênio recomendada; T3=100% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum*; T4=75% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum* e T5=50% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum*.

A fluorescência da clorofila *a* é uma ferramenta fundamental para avaliar o desempenho fotoquímico do fotossistema II (*Fv/Fm*). Os principais parâmetros avaliados foram a eficiência quântica potencial do *Fv/Fm*, o coeficiente de extinção fotoquímica (*qP*), o coeficiente de extinção não fotoquímica (*NPQ*) e a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR).

A eficiência quântica potencial do *Fv/Fm* manteve-se estável ao longo das avaliações, sem diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, indicando que as plantas não apresentaram danos fotoinibitórios severos ao *Fv/Fm*

ao longo do experimento sugerindo que a aplicação de *M. symbioticum* e os diferentes níveis de nitrogênio não comprometeram a integridade funcional do *Fv/Fm*.

O coeficiente de extinção fotoquímica (*qP*), que reflete a proporção de centros de reação do *Fv/Fm* em estado ativo, também não apresentou variações estatisticamente significativas em nenhuma das coletas. Esse resultado sugere que a eficiência da conversão fotoquímica de energia permaneceu relativamente constante entre os tratamentos.

Por outro lado, o coeficiente de extinção não fotoquímica (*NPQ*), que indica a capacidade das plantas em dissipar o excesso de energia absorvida na forma de calor, apresentou diferenças estatisticamente significativas na segunda coleta. O tratamento 4 (75% da dose de Nitrogênio + *M. symbioticum*) apresentou o maior valor de *NPQ*, sugerindo possível aumento da dissipação térmica nesses indivíduos, possivelmente como mecanismo de ajuste fotoprotetor.

A taxa aparente de transporte de elétrons (*ETR*) manteve-se relativamente estável ao longo do experimento, com diferença estatística detectada apenas na última coleta. O tratamento 4 (75% da dose de Nitrogênio + *M. symbioticum*) apresentou os maiores valores de *ETR*, enquanto o tratamento 2 com 125% da dose recomendada de nitrogênio, exibiu os menores valores. Esse resultado sugere que a aplicação de *M. symbioticum* pode ter favorecido maior taxa de transporte de elétrons na cadeia fotoquímica, potencialmente contribuindo para melhor performance fotossintética.

4.1.2 Trocas Gasosas

Tabela 3 - Taxa de assimilação de CO2 (A, µmol m^{-2} s^{-1}); condutância estomática (gs, mol m^{-2} s^{-1}), concentração interna de CO_2 na folha (Ci, µmol mol^{-1}), taxa de transpiração (E, mmol m_{-2} s_{-1}), eficiência do uso da água (A/E, µmol CO_2 (mmol $H_2O)^{-1}$) e eficiência de carboxilação (A/Ci) de plantas de Tomate cv. DaVinci. avaliadas em cinco épocas diferentes após instalação dos tratamentos

Fontes de Variação	**Primeira Coleta**			
	Teste de Médias			
	A	*E*	*gs*	Ci
T1 100% N	8,99 a	7,85 a	0,25 a	195,50 a
T2 125% N	12,34 a	8,84 a	0,28 a	185,27 a
T3 100% N + *M. Symbioticum*	12,68 a	9,10 a	0,30 a	183,82 a
T4 75% N + *M. Symbioticum*	14,10 a	9,39 a	0,30 a	170,87 a
T5 50% N + *M. Symbioticum*	12,85 a	8,97 a	0,29 a	176,79 a
Fontes de Variação	**Segunda Coleta**			
	Teste de Médias			
	A	*E*	*gs*	Ci
T1 100% N	10,45 b	7,98 b	0,27 b	192,47 a
T2 125% N	13,32 a	8,68 ab	0,28 a	183,92 ab
T3 100% N + *M. Symbioticum*	11,84 ab	8,91 ab	0,29 a	181,34 ab
T4 75% N + *M. Symbioticum*	11,66 ab	9,25 a	0,29 a	179,65 ab
T5 50% N + *M. Symbioticum*	12,17 ab	8,73 ab	0,28 a	174,32 b
Fontes de Variação	**Terceira Coleta**			
	Teste de Médias			
	A	*E*	*gs*	Ci
T1 100% N	8,44 a	5,63 b	0,23 a	182,28 a
T2 125% N	8,87 a	5,77 ab	0,23 a	178,80 a
T3 100% N + *M. Symbioticum*	9,99 a	6,35 ab	0,26 a	177,77 a
T4 75% N + *M. Symbioticum*	8,45 a	6,53 a	0,26 a	190,49 a
T5 50% N + *M. Symbioticum*	10,73 a	6,47 ab	0,26 a	175,96 a
Fontes de Variação	**Quarta Coleta**			
	Teste de Médias			
	A	*E*	*gs*	Ci
T1 100% N	6,08 b	3,76 b	0,18 a	193,78 a
T2 125% N	6,04 b	4,13 ab	0,19 a	194,32 a
T3 100% N + *M. Symbioticum*	6,96 ab	4,05 ab	0,19 a	184,00 a

T4 75% N + *M. Symbioticum*	8,51 a	4,96 a	0,24 a	185,52 a
T5 50% N + *M. Symbioticum*	7,81 ab	4,36 ab	0,20 a	181,23 a

Fontes de Variação	**Quinta Coleta**			
	Teste de Médias			
	A	*E*	*gs*	Ci
T1 100% N	5,38 a	4,25 a	0,15 a	184,77 a
T2 125% N	5,64 a	3,56 a	0,13 a	161,85 b
T3 100% N + *M. Symbioticum*	5,05 a	4,29 a	0,15 a	183,82 a
T4 75% N + *M. Symbioticum*	5,75 a	4,39 a	0,15 a	176,65 a
T5 50% N + *M. Symbioticum*	4,53 a	3,95 a	0,13 a	179,06 a

Medias seguidas da mesma letra minúscula comparam os tratamentos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. T1=100% da dose recomendada de N; T2=125% da dose de Nitrogênio recomendada; T3=100% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticu*; T4=75% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum* e T5=50% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum*.

As trocas gasosas foram avaliadas por meio dos seguintes parâmetros fisiológicos: taxa de assimilação de CO_2 (*A*), taxa de transpiração (*E*), condutância estomática (*gs*), concentração interna de CO_2 na folha (*Ci*), eficiência do uso da água (*EUA*) e eficiência de carboxilação (*A/Ci*).

A taxa de assimilação de CO_2 (*A*) apresentou flutuações ao longo das coletas, mas diferenças estatísticas expressivas só foram observadas na quarta coleta, quando os tratamentos contendo *M. symbioticum* (T3, T4 e T5) exibiram os maiores valores médios, enquanto a testemunha (100% da dose de Nitrogênio) e o tratamento 2 (125% da dose de nitrogênio) apresentaram os menores valores.

A taxa de transpiração (*E*) seguiu um padrão semelhante ao observado para a condutância estomática (*gs*). Na primeira coleta, não houve diferenças estatísticas, mas na segunda, terceira e quarta coletas, a testemunha (100% da dose de Nitrogênio) apresentou os menores valores de transpiração, enquanto os tratamentos com *M. symbioticum* apresentaram taxas superiores.

A concentração interna de CO_2 na folha (*Ci*) não apresentou diferenças significativas na maioria das coletas, mas na segunda e quinta coleta a testemunha apresentou os maiores valores médios de *Ci*, indicando possível limitação no uso do CO_2 pela fotossíntese nessas plantas, possivelmente associada a menor desempenho bioquímico do ciclo de Calvin. Esse efeito não foi observado nos tratamentos com *M. symbioticum*, onde os valores de *Ci* foram menores, sugerindo maior consumo de CO_2 nos processos fotossintéticos.

A eficiência do uso da água (*EUA*), expressa pela relação entre *A* e *E*, não apresentou diferenças estatisticamente significativas na maior parte do experimento, mas na primeira e última coleta os tratamentos contendo *M. symbioticum* apresentaram tendência a maiores valores de *EUA*. Esse resultado reforça a hipótese de que a associação com o microrganismo pode ter favorecido melhor performance fotossintética, garantindo maior assimilação de CO_2 sem comprometer excessivamente a taxa de transpiração.

A eficiência de carboxilação (*A/Ci*), embora sem diferença estatística significativa, apresentou valores médios superiores nos tratamentos contendo *M. symbioticum* em comparação à testemunha. Esse resultado indica que a bioquímica da fotossíntese pode ter sido favorecida pela ação do microrganismo, aumentando a eficiência de fixação de CO_2 no ciclo de Calvin.

4.1.3 Análises bioquímicas

A atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (*SOD*), catalase (*CAT*) e peroxidase (*POD*), bem como os níveis de malondialdeído (*MDA*) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), foram monitorados ao longo do experimento, permitindo a avaliação da resposta bioquímica das plantas de tomate aos diferentes tratamentos aplicados.

A atividade da SOD apresentou variações ao longo das coletas, refletindo a influência dos tratamentos na capacidade antioxidante das plantas. Na primeira coleta, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, sugerindo uma resposta inicial homogênea à aplicação das diferentes doses de nitrogênio e do M. symbioticum. Entretanto, na segunda coleta, observou-se aumento significativo da atividade enzimática no tratamento T4 (75% da dose de nitrogênio + M. symbioticum), que apresentou valores superiores aos demais, indicando ativação da defesa antioxidante possivelmente em resposta a estresse oxidativo moderado. Já na terceira coleta, a maior atividade da SOD foi observada no tratamento T1 (100% da dose de nitrogênio), enquanto os tratamentos T3 (100% da dose de nitrogênio + M. symbioticum) e T4 (75% da dose de nitrogênio + M. symbioticum) apresentaram redução significativa, evidenciando regulação diferencial da resposta antioxidante ao longo do tempo.

Tabela 4 - Atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT, uKat ug^{-1} de proteína), peroxidase (POD, umol de purpurogalima min^{-1} mg^{-1} de proteina) e superóxido dismutase (SOD, U mg^{-1} de proteína) em folhas de tomateiro avaliadas em três épocas diferentes após instalação dos tratamentos

Fontes de Variação	**Primeira Coleta**		
	Teste de Médias		
	CAT	*POD*	*SOD*
T1 100% N	0,053a	0,434 a	30,50 a
T2 125% N	0,100 a	0,431 a	36,78 a
T3 100% N + M. Symbioticum	0,047 a	0,404 a	29,49 a
T4 75% N + M. Symbioticum	0,027 a	0,275 a	38,83 a
T5 50% N + M. Symbioticum	0,051 a	0,430 a	29,67 a
CV%	38,50%	32,60%	27,40%
Fontes de Variação	**Segunda Coleta**		
	Teste de Médias		
	CAT	POD	SOD
T1 100% N	0,048 b	0,742 b	26,46 b
T2 125% N	0,209 b	0,591 b	36,89 b
T3 100% N + M. Symbioticum	0,297 ab	0,386 b	30,26 b
T4 75% N + M. Symbioticum	0,351 a	4,943 a	54,98 a
T5 50% N + M. Symbioticum	0,333 ab	0,684 b	45,96 ab
CV%	22,30%	19,70%	18,90%
Fontes de Variação	**Terceira Coleta**		
	Teste de Médias		
	CAT	POD	SOD
T1 100% N	0,264 a	0,449 a	47,55 a
T2 125% N	0,150 a	0,423 a	43,04 b
T3 100% N + M. Symbioticum	0,275 a	0,734 a	33,07 c
T4 75% N + M. Symbioticum	0,158 a	0,339 a	29,67 c
T5 50% N + M. Symbioticum	0,092 a	0,434 a	36,84 bc
CV%	29,10%	28,50%	12,10%

Medias seguidas da mesma letra minúscula comparam os tratamentos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. T1=100% da dose recomendada de N; T2=125% da dose de Nitrogênio recomendada; T3=100% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticu*; T4=75% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum* e T5=50% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum*.

A atividade da CAT oscilou ao longo das coletas, mas não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos em nenhum dos

períodos analisados. Essa ausência de efeito pode indicar que a catalase não foi um fator determinante na regulação do estresse oxidativo nas condições experimentais avaliadas, sugerindo que outras enzimas antioxidantes podem ter assumido papel mais relevante na neutralização das espécies reativas de oxigênio (ERO).

A atividade da POD não apresentou diferenças significativas na primeira e na terceira coleta. Entretanto, na segunda coleta, foi observado aumento expressivo da atividade enzimática no tratamento T4, com valores significativamente superiores aos demais, caracterizando uma resposta transitória ao estresse oxidativo. Esse comportamento indica que a POD pode ter atuado de forma pontual na fase intermediária do experimento, sem manutenção dessa resposta ao longo do tempo.

Tabela 5 - MDA (µM H_2O_2 g massa fresca^{-1}) em folhas de tomateiro avaliadas em três épocas diferentes após instalação dos tratamentos

Fontes de Variação	**Primeira Coleta**
	Teste de Médias
	MDA
T1 100% N	7,38 a
T2 125% N	6,82 a
T3 100% N + M. Symbioticum	7,89 a
T4 75% N + M. Symbioticum	8,71 a
T5 50% N + M. Symbioticum	7,45 a
CV%	21,80%
Fontes de Variação	**Primeira Coleta**
	Teste de Médias
	MDA
T1 100% N	9,30 a
T2 125% N	8,84 a
T3 100% N + M. Symbioticum	9,25 a
T4 75% N + M. Symbioticum	9,73 a
T5 50% N + M. Symbioticum	8,72 a
CV%	14,60%
Fontes de Variação	**Primeira Coleta**
	Teste de Médias
	MDA
T1 100% N	9,54 a
T2 125% N	9,81 a
T3 100% N + M. Symbioticum	10,11 a
T4 75% N + M. Symbioticum	9,42 a
T5 50% N + M. Symbioticum	9,86 a

CV%	7,20%

Medias seguidas da mesma letra minúscula comparam os tratamentos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. T1=100% da dose recomendada de N; T2=125% da dose de Nitrogênio recomendada; T3=100% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticu*; T4=75% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum* e T5=50% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum*.

Os teores de MDA, marcador da peroxidação lipídica e indicador de danos celulares associados ao estresse oxidativo, apresentaram aumento ao longo das coletas, sugerindo intensificação do estresse oxidativo nas plantas. No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos em nenhuma das épocas avaliadas, indicando que, embora tenha ocorrido aumento do estresse ao longo do tempo, os tratamentos não promoveram alterações diferenciais nos níveis de dano oxidativo.

A concentração de H_2O_2 oscilou ao longo das coletas, sem apresentar diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos em nenhum dos períodos avaliados. Embora variações numéricas tenham sido observadas, não foi possível estabelecer um padrão consistente de resposta. Esses resultados sugerem que o H_2O_2 foi mantido em níveis relativamente estáveis, possivelmente devido à atuação de mecanismos antioxidantes capazes de regular o equilíbrio redox celular.

Tabela 6 - Peróxido de hidrogênio (µM H_2O_2 g massa fresca^{-1}) em folhas de tomateiro avaliadas em três épocas diferentes após instalação dos tratamentos

Fontes de Variação	**Primeira Coleta**
	Teste de Médias
	H2O2
T1 100% N	46,51 a
T2 125% N	56,75 a
T3 100% N + M. Symbioticum	72,29 a
T4 75% N + M. Symbioticum	62,46 a
T5 50% N + M. Symbioticum	47,13 a
CV%	29,00%

Fontes de Variação	**Primeira Coleta**
	Teste de Médias
	H2O2
T1 100% N	51,18 a
T2 125% N	51,22 a

T3 100% N + M. Symbioticum	47,61 a
T4 75% N + M. Symbioticum	41,49 a
T5 50% N + M. Symbioticum	40,82 a
CV%	26,00%
Fontes de Variação	**Primeira Coleta**
	Teste de Médias
	H2O2
T1 100% N	42,66 a
T2 125% N	47,00 a
T3 100% N + M. Symbioticum	48,39 a
T4 75% N + M. Symbioticum	42,99 a
T5 50% N + M. Symbioticum	47,18 a
CV%	16,50%

Medias seguidas da mesma letra minúscula comparam os tratamentos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. T1=100% da dose recomendada de N; T2=125% da dose de Nitrogênio recomendada; T3=100% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticu*; T4=75% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum* e T5=50% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum*.

4.2 Indicadores de Produtividade

A produtividade do tomateiro foi avaliada com base no número total de frutos por planta, massa total dos frutos colhidos, classificação comercial dos frutos e massa seca da parte aérea das plantas.

Tabela 7 - Número de frutos por planta e massa total dos frutos (g planta^{-1}) de plantas de Tomate cv. DaVinci.

Teste de Médias		
Tratamento	Nº Frutos	Massa
T1 100% N	59,6 ab	7.010 b
T2 125% N	52,0 b	7.071,4 b
T3 100% N + *M. Symbioticum*	49,8 b	7.068 b
T4 75% N + *M. Symbioticum*	57,4 ab	9.342,2 ab
T5 50% N + *M. Symbioticum*	67,0 a	11.172,6 a

Medias seguidas da mesma letra minúscula comparam os tratamentos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. T1=100% da dose recomendada de N; T2=125% da dose de Nitrogênio recomendada; T3=100% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticu*; T4=75% da dose de Nitrogênio

recomendada + de *M. Symbioticum* e T5=50% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum*.

Os valores médios de número de frutos por planta e massa total dos frutos (g/planta) variaram entre os tratamentos. O tratamento T5 (50% da dose de nitrogênio + *M. symbioticum*) apresentou os maiores valores médios, indicando efeito positivo da inoculação microbiana na produtividade. Os tratamentos T2 (125% da dose de nitrogênio) e T3 (100% da dose de nitrogênio + *M. symbioticum*) tiveram os menores valores médios, sugerindo que doses elevadas de nitrogênio sem a inoculação não foram tão eficazes na promoção do crescimento reprodutivo das plantas.

Os frutos foram classificados em três *Categorias* comerciais:

- *Categoria* 1A (acima de 120 g);
- *Categoria* 2A (100 – 120 g);
- *Categoria* 3A (menores que 100 g).

Tabela 8 - Classificação de frutos por tratamento após colheita de plantas de Tomate cv. DaVinci. Categoria 1A frutos acima de 120g; categoria 2A frutos entre 100 e 120g e categoria 3A frutos menores que 100g.

Tratamento	1A	2A	3A
T1 100% N	10,8 a	2,6 a	45,4 ab
T2 125% N	13,2 a	6,6 a	31,2 b
T3 100% N + *M. Symbioticum*	10,4 a	4,4 a	37,6 ab
T4 75% N + *M. Symbioticum*	4,6 a	3,2 a	44,4 ab
T5 50% N + *M. Symbioticum*	4,6 a	3,8 a	55,0 a

Medias seguidas da mesma letra minúscula comparam os tratamentos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. T1=100% da dose recomendada de N; T2=125% da dose de Nitrogênio recomendada; T3=100% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticu*; T4=75% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum* e T5=50% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum*.

Os tratamentos T1, T2, T3 e T4 não diferiram estatisticamente na proporção de frutos classificados nas *Categorias* 1A e 2A. No entanto, para a *Categoria* 3A, o tratamento T5 (50% da dose de Nitrogênio + *M. symbioticum*) apresentou a maior proporção de frutos, enquanto o tratamento T2 (125% da dose de Nitrogênio) teve a

menor média, indicando que doses elevadas de nitrogênio podem ter favorecido o crescimento de frutos de maior calibre.

Tabela 9 – Médias dos valores de massa seca (ms) em gramas da parte aérea das plantas de Tomate cv. DaVinci.

Tratamento	MS (g)
T1 100% N	180g c
T2 125% N	185g c
T3 100% N + *M. Symbioticum*	214g b
T4 75% N + *M. Symbioticum*	220g b
T5 50% N + *M. Symbioticum*	230g a

Medias seguidas da mesma letra minúscula comparam os tratamentos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. T1=100% da dose recomendada de N; T2=125% da dose de Nitrogênio recomendada; T3=100% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticu*; T4=75% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum* e T5=50% da dose de Nitrogênio recomendada + de *M. Symbioticum*.

A massa seca da parte aérea das plantas apresentou diferenças estatisticamente significativas, com os tratamentos que receberam *M. symbioticum* (T3, T4 e T5) apresentando os maiores valores médios. Esse resultado sugere que a associação do microrganismo à nutrição nitrogenada promoveu maior crescimento vegetativo.

5 DISCUSSÃO

5.1 Fluorescência da Clorofila a e Trocas Gasosas

5.1.1 Fluorescência da Clorofila a

A fluorescência da clorofila *a* é uma ferramenta essencial para avaliar a eficiência do aparato fotossintético, particularmente do fotossistema II (*Fv/Fm*). Os parâmetros avaliados fornecem informações cruciais sobre a eficiência fotoquímica e a dissipação de energia sob diferentes condições nutricionais e ambientais.

A eficiência quântica potencial do *Fv/Fm* manteve-se constante ao longo do experimento, sem diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Esse resultado mostra que, independentemente da dose de nitrogênio aplicada e da inoculação com M. symbioticum, não foram detectados danos fotoinibitórios ao *Fv/Fm*. Segundo Maxwell & Johnson (2000), valores de *Fv/Fm* entre 0,75 e 0,85 são considerados normais para plantas saudáveis, o que confirma que os tratamentos não induziram estresse fotoinibitório severo.

O coeficiente de extinção fotoquímica (*qP*), que reflete a eficiência de uso da energia luminosa na fotossíntese, também se manteve estável entre os tratamentos, indicando que a capacidade de transporte de elétrons pelo *Fv/Fm* foi preservada. A manutenção da eficiência fotoquímica indica que a redução na adubação nitrogenada não comprometeu o aproveitamento da energia luminosa absorvida, inclusive nos tratamentos com *M. symbioticum.*

A taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) apresentou padrões interessantes ao longo do experimento. Na primeira coleta, os tratamentos não diferiram estatisticamente, mas a partir da segunda coleta, observou-se tendência de queda nos valores médios do tratamento T5 (50% N + *M. symbioticum*), o que pode estar associado à menor disponibilidade de nitrogênio no tratamento T5. No entanto, na terceira coleta, o tratamento T4 (75% N + *M. symbioticum*) também apresentou queda, enquanto o T5 (50% N + *M.* symbioticum) registrou aumento, indicando possível variação fisiológica frente ao menor suprimento de nitrogênio.

A partir da quarta coleta, os tratamentos inoculados com *M. symbioticum* passaram a apresentar valores superiores de ETR em comparação aos tratamentos

sem a bactéria. Esse padrão se manteve na quinta coleta, onde os tratamentos inoculados apresentaram diferença estatística significativa, o que está associado a maiores valores de *ETR* nos tratamentos inoculados em estágios mais avançados do ciclo da cultura. Este resultado é consistente com estudos prévios, como o de Torres Vera *et al*. (2024), que observaram maior eficiência fotossintética em milho e morango tratados com *M. symbioticum*, em comparação com as plantas controle.

A dissipação de energia não fotoquímica, avaliada pelo coeficiente de extinção não fotoquímica (*NPQ*), não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, exceto na segunda coleta. Isso indica que todas as plantas utilizaram proporções semelhantes de energia luminosa nos processos fotossintéticos e apresentaram padrões similares de dissipação térmica. A manutenção dos valores de *NPQ* ao longo do ciclo mostra que, mesmo sob menor oferta de nitrogênio, os tratamentos inoculados com *M. symbioticum* apresentaram padrões similares de dissipação de energia em relação aos demais tratamentos. luminosa disponível.

A análise conjunta dos parâmetros *Fv/Fm*, *qP*, ETR e *NPQ* indica que, nos estágios finais do ciclo, os tratamentos inoculados com *M. symbioticum* apresentaram maior capacidade de transporte de elétrons e assimilação de carbono em comparação aos não inoculados.

5.1.2 Trocas Gasosas

A fotossíntese é diretamente influenciada pela capacidade da planta de absorver CO_2 e pela eficiência na conversão da energia luminosa em energia química. A análise das trocas gasosas permitiu avaliar como os tratamentos afetaram o desempenho fotossintético ao longo do tempo.

A taxa de assimilação de CO_2 (*A*) foi superior em todos os tratamentos em relação à testemunha (T1), mostrando efeito da combinação entre disponibilidade de nitrogênio e inoculação com *M. symbioticum* sobre a fotossíntese. No entanto, houve redução progressiva dos valores de *A* ao longo do tempo, sugerindo um processo de senescência natural. Essa redução é esperada, pois, em estágios avançados do ciclo da cultura, há menor demanda metabólica e redução da atividade da enzima Rubisco, conforme relatado por Bhat *et al*. (2017).

A taxa de transpiração (*E*) seguiu padrão semelhante ao da condutância estomática (*gs*). Na segunda coleta, a testemunha apresentou os menores valores de

E e *gs*, indicando menor abertura estomática e, consequentemente, menor assimilação de CO_2. Esse padrão foi mantido ao longo das coletas, com valores de *E* e *gs* mais baixos nos tratamentos sem a bactéria. Como descrito por Pereira Netto *et al*. (2002), o tempo de abertura estomática está diretamente relacionado à eficiência do uso da água (*EUA*), pois, enquanto a planta absorve CO_2 para a fotossíntese, há perda de água por transpiração.

No tratamento T4 (75% N + *M. symbioticum*) foram registrados valores combinados mais altos de *A, E* e *gs*, sugerindo maior absorção de CO_2 acompanhada de manutenção da transpiração.

A concentração interna de CO_2 na folha (*Ci*) foi maior na testemunha em todas as avaliações, sugerindo baixa eficiência da Rubisco na fixação de CO_2. Esse comportamento pode indicar menor capacidade bioquímica da fotossíntese, visto que a Rubisco é a principal enzima responsável pela fixação do CO_2 no ciclo de Calvin-Benson (Bhat *et al*., 2017). Esse padrão é compatível com a possibilidade de maior eficiência bioquímica da fotossíntese nos tratamentos inoculados com *M. symbioticum.*

A variável *A/Ci*, que representa a eficiência bioquímica da fotossíntese, não apresentou diferenças estatísticas significativas, mas os valores médios foram maiores nos tratamentos inoculados com *M. symbioticum*, o que pode estar relacionado a ajustes no metabolismo do nitrogênio e na assimilação de carbono nos tratamentos inoculados, mesmo sob menor disponibilidade de nitrogênio. Essa hipótese é reforçada por estudos como o de Mendes *et al*. (2017), que demonstraram que a atividade da Rubisco pode ser inferida por meio da construção de curvas *A/Ci*, permitindo a identificação de possíveis limitações bioquímicas ou difusivas no processo fotossintético.

A análise integrada das variáveis fotossintéticas mostra que os tratamentos com menores doses de N e aplicação de *M. symbioticum* apresentaram níveis adequados de assimilação de CO_2 e transporte de elétrons, especialmente no final do ciclo da cultura.

5.2 Análises bioquímicas

A resposta antioxidante das plantas está diretamente relacionada à capacidade de neutralização das espécies reativas de oxigênio (*ERO*), prevenindo danos oxidativos às biomoléculas celulares. Entre os mecanismos de defesa, a superóxido dismutase (*SOD*), catalase (*CAT*) e peroxidase (*POD*) desempenham papéis fundamentais na homeostase redox. No presente estudo, as oscilações nos níveis dessas enzimas sugerem variações nas respostas fisiológicas aos tratamentos nitrogenados e à inoculação com *Methylobacterium symbioticum*.

Na segunda coleta, o tratamento T4 (75% N + M. symbioticum) apresentou aumento significativo na atividade da SOD, acompanhado também por elevação expressiva da atividade da POD. Esse padrão indica ativação coordenada do sistema antioxidante, sugerindo maior eficiência na conversão do radical superóxido (O_2^-) em H_2O_2 e sua posterior detoxificação. Apesar desse aumento enzimático, não foram observadas diferenças estatísticas nos níveis de H_2O_2, o que sugere manutenção do equilíbrio redox celular, sem acúmulo desse composto.

A SOD é reconhecida como a primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo, catalisando a dismutação do radical superóxido (O_2^-) em H_2O_2, um subproduto menos reativo, mas ainda potencialmente tóxico quando acumulado (Lee; Lee, 2000). A manutenção de níveis estáveis de H_2O_2 observada neste estudo indica que os mecanismos subsequentes de detoxificação, como a atuação de peroxidases, foram suficientes para evitar seu acúmulo. Em situações de desbalanço, o H_2O_2 pode desencadear reações de Fenton, formando radicais hidroxila ($OH^•$) altamente reativos, capazes de causar danos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (Siegel, 1993).

Na terceira coleta, observou-se mudança no padrão de resposta antioxidante, com maior atividade de SOD no tratamento T1 (100% N), enquanto os tratamentos com inoculação (T3 e T4) apresentaram redução significativa dessa enzima. Esse comportamento sugere alteração na regulação do sistema antioxidante ao longo do tempo, possivelmente associada a mudanças no metabolismo vegetal ou na intensidade do estresse. Apesar dessas variações, não foram observadas diferenças significativas nos níveis de H_2O_2, indicando manutenção do controle redox entre os tratamentos.

Os níveis de malondialdeído (MDA), marcador clássico de peroxidação lipídica (Janero, 1990; Benzie, 1996), aumentaram ao longo das coletas, indicando

intensificação do estresse oxidativo com o avanço do ciclo da cultura. No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, sugerindo que, embora tenha ocorrido aumento do dano oxidativo ao longo do tempo, os tratamentos não influenciaram de forma diferenciada a intensidade da peroxidação lipídica.

A peroxidação lipídica é um processo em cascata no qual as EROs atacam ácidos graxos poli-insaturados das membranas celulares, levando à formação de compostos reativos, como hidroperóxidos lipídicos e aldeídos tóxicos, incluindo o MDA (Benzie, 1996). O aumento observado ao longo do tempo indica possível comprometimento gradual da integridade das membranas celulares, o que pode impactar processos fisiológicos como a fotossíntese.

Embora diferenças numéricas tenham sido observadas entre os tratamentos, não foi possível associar estatisticamente os níveis de MDA a condições específicas de disponibilidade de nitrogênio ou à inoculação com *M. symbioticum*. Da mesma forma, a concentração de H_2O_2 não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos em nenhuma das coletas, indicando que o acúmulo desse composto não foi determinante na diferenciação das respostas fisiológicas observadas.

a redução da atividade metabólica e do fluxo de elétrons na cadeia de transporte fotossintético pode levar à menor geração de espécies reativas de oxigênio, reduzindo a necessidade de ativação de enzimas antioxidantes. Esse comportamento é compatível com a redução progressiva da atividade fisiológica ao longo do ciclo da cultura, refletindo ajustes no metabolismo antioxidante em função do desenvolvimento vegetal.

Assim, os resultados indicam que a resposta antioxidante foi mais evidente na fase intermediária do experimento, especialmente no tratamento com redução de nitrogênio associada à inoculação, sem, contudo, resultar em diferenças nos níveis de dano oxidativo entre os tratamentos ao final do período experimental.

5.3 Indicadores de Produtividade

Os resultados obtidos para os indicadores de produtividade demonstram que o tratamento com 50% da dose recomendada de N associado à inoculação com *Methylobacterium symbioticum* (T5) proporcionou os melhores valores médios tanto

para o número total de frutos quanto para a massa total da produção. Esse resultado sugere que a menor dose de nitrogênio, quando associada à fixação biológica mediada pela bactéria, manteve ou elevou a produtividade da cultura, o que pode estar relacionado a ajustes na assimilação de nutrientes e no metabolismo vegetal em função da interação planta-microrganismo.

A presença de *M. symbioticum* pode estar associada ao crescimento e enchimento dos frutos, bem como a alterações na eficiência do uso de nitrogênio e na partição de fotoassimilados para os órgãos reprodutivos. Segundo estudos recentes, a fixação biológica de nitrogênio mediada por *M. symbioticum* contribui significativamente para o desenvolvimento da planta e incremento da produtividade, particularmente sob condições de deficiência nutricional (Afonso Carreira, 2023). Esse efeito pode estar associado a mecanismos de síntese de fitohormônios, melhoria da eficiência fotossintética e aumento da absorção de nutrientes, conforme descrito por Koskey *et al*. (2021).

Por outro lado, os tratamentos T2 (125% da dose recomendada de N) e T3 (100% da dose recomendada de N + *M. symbioticum*) apresentaram os menores valores médios para esses indicadores, um resultado distinto da expectativa inicial, considerando que, em geral, o aumento das doses de nitrogênio está associado a incrementos no número de frutos comercializáveis por planta, na massa média dos frutos e na produção total (Djidonou *et al*., 2013). No entanto, a disponibilidade elevada de N Pode ter causado efeitos fisiológicos adversos, como o atraso no estabelecimento e maturação dos frutos, além de maior incidência de desordens fisiológicas (Warner; Zhang; Hao, 2004). Esse fenômeno ocorre porque o excesso de nitrogênio pode favorecer excessivo crescimento vegetativo em detrimento do desenvolvimento reprodutivo, prejudicando o balanço fonte-dreno da planta (Taiz *et al*., 2017).

A classificação dos frutos em diferentes *Categorias* comerciais revelou que para as classes 1A (frutos menores que 100 g) e 2A (frutos entre 100 e 120 g), não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos, sugerindo que a distribuição de frutos pequenos e médios foi relativamente homogênea. Entretanto, para a classe 3A (frutos maiores que 120 g), houve diferença estatística, com o tratamento T5 (50% da dose recomendada de N + *M. symbioticum*) apresentando a maior média, enquanto T2 (125% da dose recomendada de N) obteve o menor valor. Nesse caso, o tratamento T5 (50% da dose recomendada de N + *M. symbioticum*) apresentou maior

número total de frutos e maior média de frutos de calibre superior, resultado que pode estar associado à alocação de fotoassimilados e ao metabolismo do nitrogênio.

A massa fresca da parte aérea (MS) apresentou diferença estatística significativa, mostrando efeito da aplicação de *M. symbioticum* sobre o crescimento e desenvolvimento da planta. Os tratamentos inoculados com a bactéria apresentaram resultados compatíveis com maior contribuição da fixação biológica de nitrogênio, sobretudo em condições de menor oferta desse nutriente, como observado nos tratamentos T4 (75% da dose recomendada de N + *M. symbioticum*) e T5 (50% da dose recomendada de N + *M. symbioticum*). Esses resultados são coerentes com os obtidos por Afonso Carreira (2023), que verificou que *M. symbioticum* contribuiu para um aumento na biomassa total e na produtividade de tomateiros, especialmente em plantas submetidas a estresse hídrico e deficiência nutricional.

A relação entre crescimento vegetativo e produtividade reprodutiva é amplamente discutida na literatura. Lino (2011) enfatiza que a produtividade de culturas agrícolas não depende de um único fator isolado, mas sim da interação de múltiplos fatores fisiológicos e ambientais, incluindo a eficiência da relação fonte-dreno, a genética da cultivar e as condições ambientais. A fixação biológica de nitrogênio pode desempenhar um papel relevante nesse contexto, promovendo uma nutrição mais equilibrada e um uso mais eficiente dos recursos disponíveis, resultando em maior produtividade.

Os resultados obtidos neste estudo mostram que a inoculação com *M. symbioticum*, associada à redução da adubação nitrogenada, esteve relacionada a incrementos em produtividade e pode representar uma alternativa de interesse para o cultivo do tomateiro.

5.4 Considerações Finais

Os resultados deste estudo evidenciam que a inoculação com *Methylobacterium symbioticum* tem potencial significativo para reduzir a dependência da adubação nitrogenada na cultura do tomateiro, sem comprometer a funcionalidade fisiológica e bioquímica das plantas. Embora o fornecimento exógeno de nitrogênio continue sendo essencial para atingir altas produtividades, a inoculação demonstrou ser uma alternativa promissora ao promover benefícios fisiológicos, reduzir impactos

do estresse oxidativo e manter a integridade dos processos metabólicos ao longo do ciclo da cultura.

As análises fisiológicas indicaram que os tratamentos com *M. symbioticum* promoveram maior eficiência fotossintética, contribuindo para melhor assimilação de CO_2 e maior eficiência no uso da água. A menor concentração interna de CO_2 (*Ci*) nos tratamentos inoculados reforça a hipótese de maior eficiência da enzima Rubisco nesses tratamentos, otimizando o metabolismo do carbono e reduzindo potenciais limitações difusivas à fotossíntese. No que tange à fluorescência da clorofila *a* os tratamentos com *M. symbioticum* permitiram a manutenção da eficiência quântica potencial do *Fv/Fm* e da taxa aparente de transporte de elétrons (*ETR*), sugerindo que a bactéria teve papel positivo na estabilidade do aparato fotossintético. A ausência de diferenças significativas na dissipação não fotoquímica (*NPQ*) entre os tratamentos indica que a homeostase energética das plantas foi preservada, mesmo nas condições de menor adubação nitrogenada.

As análises bioquímicas reforçaram os efeitos observados nas respostas fisiológicas, demonstrando que a atividade da superóxido dismutase (*SOD*) e os níveis de peroxidação lipídica (*MDA*) variaram ao longo das coletas, sugerindo regulação dinâmica do sistema antioxidante em resposta à disponibilidade de nitrogênio. Nos tratamentos inoculados com *M. symbioticum*, a menor ativação das enzimas catalase (*CAT*) e peroxidase (*POD*) sugere que as plantas não enfrentaram estresse oxidativo severo, indicando que a fixação biológica de nitrogênio contribuiu para reduzir a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (*ERO*) e, consequentemente, a necessidade de mecanismos antioxidantes compensatórios.

Em termos produtivos, os tratamentos inoculados com *M. symbioticum* associaram-se a aumento no número de frutos e na massa total da produção, com destaque para o tratamento que combinou 50% da dose recomendada de N com a inoculação. Além disso, a inoculação favoreceu maior proporção de frutos classificados como 3A (acima de 120 g), sugerindo que a bactéria pode ter influenciado positivamente a alocação de fotoassimilados resultando em frutos de maior diâmetro e qualidade superiores.

No entanto, para viabilizar sua adoção em larga escala, recomenda-se a realização de estudos adicionais sobre sua interação com diferentes cultivares de tomateiro, persistência no solo, impacto em ciclos sucessivos de cultivo e sinergia com outros microrganismos benéficos. Além disso, investigações sobre sua eficácia sob

diferentes regimes de adubação e em condições de estresse abiótico podem fornecer informações essenciais para otimizar sua aplicação e maximizar seus benefícios agronômicos.

Dessa forma, este estudo contribui para o avanço do conhecimento sobre a fixação biológica de nitrogênio e destaca a inoculação com *M. symbioticum* como uma estratégia promissora para o manejo sustentável da cultura do tomateiro, aliando produtividade e sustentabilidade ambiental.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que *M. symbioticum* apresenta potencial como bioinsumo para sistemas agrícolas sustentáveis, podendo reduzir a dependência de fertilizantes nitrogenados e promover benefícios fisiológicos e produtivos no tomateiro. Os tratamentos inoculados apresentaram maior eficiência fotossintética, melhor assimilação de CO_2 e maior estabilidade das trocas gasosas, além de redução dos impactos do estresse oxidativo. Os resultados também indicaram melhor desempenho produtivo, com aumento no número total de frutos e na produção de frutos de maior diâmetro nos tratamentos com *M. symbioticum*. Levando em consideração todos os resultados apresentados, o tratamento 4 (75% de N + *M. symbioticum*) destacou-se como o mais eficiente entre os avaliados.

REFERÊNCIAS

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (*SOD*s) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p. 1331-1341, 2002.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. D.; BORTOLINI, C. G. Clorofila na folha como indicador do nível de nitrogênio em cereais. **Ciência Rural**, v. 31, p. 715–722, 2001.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. ***Journal of Experimental Botany***, v. 55, n. 403, p. 1607-1621, 2004.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. G. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, p. 453-460, 2014.

BARCELO, A. R.; PEDRENO, A.; MUNOZ, R.; SABATER, F. Physiological significance of the binding of acidic isoperoxidases to cell walls of lupin. **Physiologia Plantarum**, v. 75, p. 267-274, 1989.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BELLENGER, J. P.; WICHARD, T.; XU, Y.; KRAEPIEL, A. M. L. Essential metals for nitrogen fixation in a free-living N_2 bacterium: chelation, homeostasis and high use efficiency. **Environmental Microbiology**, v. 13, n. 6, p. 1395-1411, 2011.

BHAT, J. Y. *et al*. Rubisco activases: AAA+ chaperones adapted to enzyme repair. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 4, p. 20, 2017.

BRADFORD, M. M. Um método rápido e sensível para a quantificação de quantidades de microgr*ama*s de proteína utilizando o princípio da ligação proteína-corante. **Bioquímica Analítica**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, p. 365–372, 2000.

CAIXETA, K. F.; FELIX, A. C. A.; DE ASSIS CHAVIER, F. Perda de nutrientes por lixiviação em Latossolo cultivado com diferentes híbridos de meloeiro sob ambiente protegido. **Acesso Digital**, 2015.

CAMARGO, F. P. de *et al*. Previsões e Estimativas das Safras Agrícolas do Estado de São Paulo, Ano Agrícola 2021/22, junho de 2022. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, São Paulo, v. 17, n. 8, ago. 2022, p. 1-19. Disponível em: http://www.iea.sp.gov.br/out/TerTexto.php?codTexto=16071. Acesso em: 20 jan. 2024.

CANTARELLA, H. *et al*. Ammonia volatilisation from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agrícola**, v. 65, p. 397–401, 2008.

CEPEA - CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. Os caminhos do tomate até o prato do brasileiro. **Revista Hortifruti Brasil**, v. 20, n. 213, 2021.

CHEN, J.; LI, X.; ZHOU, J.; LIU, J.; JIANG, L.; SHI, T.; SHANG, L.; YANG, A.; DING, Z. Nitric oxide alleviates salt stress by regulating ion homeostasis, antioxidant defense and phytohormone signaling in cucumber. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 109, p. 56-67, 2016.

CONAB — COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Tomate: análise dos indicadores da produção e comercialização no mercado mundial, brasileiro e catarinense**. 2019.

CONLEY, D. J.; PAERL, H. W.; HOWARTH, R. W.; BOESCH, D. F.; SEITZINGER, S. P.; HAVENS, K. E.; LANCELOT, C.; LIKENS, G. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. **Science**, v. 323, p. 1014–1015, 2009.

COSTA, M. B. B.; SOUZA, M.; JÚNIOR, V. M.; COMIN, J. J.; LOVATO, P. E. A*GR*oecology development in Brazil between 1970 and 2015. **Agroecology and Sustainable Food Systems**, v. 41, p. 276-295, 2017.

DA SILVA, V. L. *et al*. Doses de NPK em tomateiro cv. Marmande e seu desempenho a campo no Cerrado. **Journal of Neotropical Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 54-59, 2018.

DAM, B. V. *et al*. **A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização**. Agrodok, 2006.

DE ALMEIDA, R. F. Adubação nitrogenada de tomateiros. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 5, p. 4, 2011.

DE. IBGE prevê safra de 322,6 milhões de toneladas para 2025, com crescimento de 10,2% frente a 2024 | Agência de Notícias. **Acesso Digital**. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/42436-ibge-preve-safra-de-322-6-milhoes-de-toneladas-para-2025-com-crescimento-de-10-2-frente-a-2024>.

DEMMIG, B.; BJÖRKMAN, O**.** Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O_2 evolution in leaves of higher plants. ***Planta***, v. 171, n. 2, p. 171-184, 1987.

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. The response of the desication tolerant plant *Craterostigma plantagineum* to salt stress – changes in the expression of genes involved in redox homeostasis. **Plant Cell and Environment**, v. 35, n. 2, p. 338-356, 2012.

DJIDONOU, D.; ZHAO, X.; SIMONNE, E. H.; KOCH, K. E. Yield, water-, and nitrogen-use efficiency in field-Grown, Grafted tomatoes. **HortScience**, v. 48, n. 4, p. 485-492, Apr. 2013.

DOMÍNGUEZ, M. J. *et al*. Design, synthesis, and biological evaluation of phosphoramide derivatives as urease inhibitors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 3721–3731, 2008.

DOUSSEAU, S. *et al*. Aplicação exógena de quitosana no sistema antioxidante de jaborandi. **Ciência Rural**, v. 46, p. 191-197, 2015.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Como plantar tomate de mesa**. Brasília, DF, 2022.

EMBRAPA. **Insumos Biológicos - Portal Embrapa**. Disponível em: https://www.embrapa.br/portfolio/insumos-biologicos#:~:text=Bioinsumos%20e%20tecnologias&text=Os%20insumos%20biol%C3%B3gicos%20s%C3%A3o%20os. Acesso em: 20 jan. 2024.

ENGEL, R.; JONES, C.; WALLANDER, R. Ammonia volatilization from urea and mitigation by NBPT following surface application to cold soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 75, p. 2348–2357, 2011.

ERISMAN, J. W. *et al*. How a century of ammonia synthesis changed the world. **Nature Geoscience**, v. 1, p. 636–639, 2008.

ERISMAN, J. W. *et al*. **Nitrogen: too much of a vital resource: Science Brief**. [S.l.]: WWF Netherlands, 2015.

ERNANI, P. R.; STECKLING, C.; BAYER, C. Soil chemical characteristics and corn dry mass yield as affected by application methods of phosphate fertilizers, at two soil pH levels. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 939–946, 2001.

FACRE, W. R. Três formas de fertilizantes nitrogenados e o futuro. **Informações Agronômicas**, v. 120, p. 5–6, 2007.

FAOSTAT – ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. **Dados de produção e cultivo**. 2019. Disponível em: https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL. Acesso em: 20 jan. 2024.

FAOSTAT. **Roma: FAO, 2018**. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/en/#home. Acesso em: 22 jan. 2024.

FAOSTAT. **Roma: FAO, 2019**. Disponível em: https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL. Acesso em: 20 jan. 2024.

FAOSTAT. **Roma: FAO, 2021**. Disponível em: https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV. Acesso em: 20 jan. 2024.

FARIA, M.; LOPES, R. B.; SOUZA, D. A.; WRAIGHT, S. P. Conidial vigor vs. viability as predictors of virulence of entomopathogenic fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 125, p. 68-72, 2015.

FELIX, E. P.; CARDOSO, A. A. Amônia (NH_3) atmosférica: fontes, transformação, sorvedouros e métodos de análise. **Química Nova**, v. 27, p. 123–130, 2004.

FERNANDES, F. C. S. **Dinâmica do nitrogênio na cultura do milho (*Zea mays* L.) em cultivo sucessivo com aveia-preta (*Avena strigosa*), sob implantação do sistema plantio direto**. 2006. 197 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2006.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiology Plant**, v. 119, p. 355-364, 2003.

GARCIA, G.; CARDOSO, A. A.; SANTOS, O. A. M. D. Da escassez ao estresse do planeta: um século de mudanças no ciclo do nitrogênio. **Química Nova**, v. 36, p. 1468–1476, 2013.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GILL, S. S.; ANSARI, M. W.; MAURYA, S. L.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. In: **ABIOTIC STRESS RESPONSES IN PLANTS**. New York: Springer, 2015. p. 173-203.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-910, 2010.

GOMES, S. K. S.; DE CASTRO, M. T. Monitoramento de insetos em plantio de tomate com adubação silicatada. **Biodiversidade**, v. 16, n. 3, 2017.

GUELFI, D. **Fertilizantes nitrogenados estabilizados, de liberação lenta ou controlada**. Piracicaba: IPNI, 2017.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Caracterização bioquímica e de desenvolvimento de múltiplos de Catalaseem folhas de tabaco. **Fisiologia Vegetal**, v. 84, p. 450-455, 1987.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEO*GR*AFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal – PAM – 2020**. Brasília: IBGE, 2021. Disponível em: https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457. Acesso em: 20 jan. 2024.

INTERNATIONAL FERTILIZER ASSOCIATION. **International Fertilizer Association**. Fertilizer, 2024.

JASPERS, P.; KANGASJÄRVI, J. Reactive oxygen species in plant signaling. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, p. 405-426, 2010.

JOÃO, A. C. **A pegada de azoto na produção agrícola de tomate indústria em Portugal**. 2023. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2023.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976.

KIEHL, J. D. C. Distribuição e retenção da amônia no solo após aplicação de uréia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 13, p. 75–80, 1989.

KIRKBY, J. *et al*. Role of sulphuric acid, ammonia and galactic cosmic rays in atmospheric aerosol nucleation. **Nature**, v. 476, p. 429–433, 2011.

KLUGE, R. A.; TEZOTTO-ULIANA, J. V.; DA SILVA, P. P. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. **Revista Virtual de Química**, v. 7, p. 56–73, 2015.

KONOVALOVA, H. M.; SHYLIN, S. O.; ROKYTKO, P. V. Characteristics of carotenoids of methylotrophic bacteria of *Methylobacterium* genus. **MikrobiolZ**, v. 69, p. 35–41, 2007.

KOSKEY, G.; ONYANGO, P.; WACHIRA, P.; NYARIBARI, V.; MAINA, J. Rhizosphere microbiome: plant *GR*owth promotion and its role in abiotic stress management. In: **SINGH, P.; GUPTA, V. K.; PASSARI, A. K.** (Eds.). *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering: microbial symbionts and plant health: trends and applications*. 1. ed. Amsterdam: Elsevier, 2020. cap. 13, p. 189-204. ISBN 978-0-12-818469-1.

KRUPA, S. V. Effects of atmospheric ammonia (NH_3) on terrestrial vegetation: a review. **Environmental Pollution**, v. 124, p. 179–221, 2003.

KULMALA, M. *et al*. Formation and Growth rates of ultrafine atmospheric particles: a review of observations. **Journal of A*ERO*sol Science**, v. 35, p. 143–176, 2004.

KUMAR, M. *et al*. Unraveling the role of transcription factors in oxidative stress response and abiotic stress tolerance in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.

KWAK, M. J.; JEONG, H.; MADHAIYAN, M.; LEE, Y.; SA, T. M.; OH, T. K.; KIM, J. F. Genome information of *Methylobacterium oryzae*, a plant-probiotic methylotroph in the phyllosphere. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, 2014.

LARIMER, F. W. *et al*. Complete genome sequence of the metabolically versatile photosynthetic bacterium *Rhodopseudomonas palustris*. **Nature Biotechnology**, v. 22, n. 1, p. 55-61, 2004.

LAZZARINI, P. Nitrogênio para as plantas: para que serve e quais as vantagens na adubação mineral? **Nutrição de Safras**, maio 2022.

LENHARDT, E. R.; CASSOL, S. P.; GABRIEL, V. J. Comportamento agronômico do tomate em ambiente protegido. **Revista de Ciências Agroveterinárias e Alimentos**, n. 2, 2017.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. [S.l.]: Agronômica Ceres, 2006.

MALIK, A.; MOR, V. S.; TOKAS, J.; PUNIA, H.; MALIK, S.; MALIK, K.; SANGWAN, S.; TOMAR, S.; SINGH, P.; SINGH, N.; KOSKEY, G.; *et al*. Biostimulant-treated seedlin*gs* under sustainable agriculture: a global perspective facing climate change. *AGRonomy*, v. 11, n. 1, p. 14, 2021. Disponível em: . Acesso em: 10 mar. 2025.

MARTINEZ-ROM*ERO*, E. Dinitrogen-fixing prokaryotes. In: ROSENBERG, E.; DeLONG, E. F.; LORY, S.; STACKEBRANDT, E.; THOMPSON, F. (Ed.). **Prokaryotes**. Berlin: Springer, 2006. v. 2, p. 798-817.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N**.** Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MENDES, K. R.; MARENCO, R. A.; NASCIMENTO, H. C. S. Velocidade de carboxilação da rubisco e transporte de elétrons em espécies arbóreas em resposta a fatores do ambiente na Amazônia Central. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 3, p. 947-959, 2017.

MILLER, G. *et al*. Plant NADPH oxidases are involved in different physiological processes. **Plant and Cell Physiology**, v. 51, p. 171-179, 2010.

NAZ, M. Y.; SULAIMAN, S. A. Slow release coating remedy for nitrogen loss from conventional urea: a review. **Journal of Controlled Release**, v. 225, p. 109–120, 2016.

OMER, Z. S.; TOMBOLINI, R.; GERHARDSON, B. Plant colonization by pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria (PPFMs). **FEMS Microbiology Ecology**, v. 47, n. 3, p. 319–326, 2004.

ONDEI, V. O mercado de bioinsumos vai para onde no Brasil? **Acesso Digital**. Disponível em: https://forbes.com.br/forbesa*GR*o/2023/01/o-mercado-de-bioinsumos-vai-para-onde-no-brasil/. Acesso em: 22 Jan. 2024.

PASCUAL, J. A. *et al*. *Methylobacterium symbioticum* sp. nov., a new species isolated from spores of *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum*. **Current Microbiology**, v. 77, n. 9, p. 2031–2041, 2020.

PATT, T. E.; COLE, G. C.; HANSON, R. S. *Methylobacterium*, a new genus of facultatively methylotrophic bacteria. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 26, p. 226–229, 1976.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences**, v. 11, p. 1633-1644, 2007.

RAMA DEVI, S.; PRASAD, M. N. V. Toxicidade do cobre em *Ceratophyllum demersum* L. (*Coontail*), uma macrófita flutuante: resposta de enzimas antioxidantes e antioxidantes. **Ciência Vegetal**, v. 138, p. 157-165, 1998.

REAY, D. S. *et al*. Global agriculture and nitrous oxide emissions. **Nature Climate Change**, v. 2, p. 410–416, 2012.

REETZ, H. F. **Fertilizantes e o seu uso eficiente**. São Paulo: ANDA, v. 178, 2017.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 123-130, 2003.

REZENDE, T.; SEGUNDO, J. B. **Balanço geral de nitrogênio e fósforo na agropecuária brasileira no período de 1990 a 2020**. p. 356–361, 17 out. 2023.

RITCHIE, H. How many people does synthetic fertilizer feed? **Acesso digital**. Disponível em: https://ourworldindata.org/how-many-people-does-synthetic-fertilizer-feed. Acesso em: 15 Jan 2025.

RITTMANN, B. E.; LANGELAND, W. E. Simultaneous denitrification with nitrification in single-channel oxidation ditches. **Water Pollution Control Federation Journal**, p. 300–308, 1985.

ROCHA, C. G.; CARDOSO, A. A. Gases de nitrogênio reativo como precursores do aerossol atmosférico: reações de formação, processos de crescimento e implicações ambientais. **Química Nova**, v. 44, p. 460–472, 2021.

ROCHETTE, P. *et al*. Banding of urea increased ammonia volatilization in a dry acidic soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 38, p. 1383–1390, 2009.

ROCÍO TORRES VERA *et al*. Application and effectiveness of *Methylobacterium symbioticum* as a biological inoculant in maize and strawberry crops. **Folia Microbiologica**, 1 ago. 2023.

ROSSATTO, T. *et al*. Gene expression and activity of antioxidant enzymes in rice plants, cv. BRS AG, under saline stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, n. 4, p. 865-875, 2017.

SANFORD, R. A. *et al*. Unexpected nondenitrifier nitrous oxide reductase gene diversity and abundance in soils. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, p. 19709–19714, 2012.

SANZ-COBENA, A. *et al*. An inhibitor of urease activity effectively reduces ammonia emissions from soil treated with urea under Mediterranean conditions. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 126, p. 243–249, 2008.

SCHREIBER, U.; SCHLIWA, U.; BILGER, W**.** Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. ***Photosynthesis Research***, v. 10, n. 1-2, p. 51-62, 1986.

SEINFELD, J. H.; PANDIS, S. N. **Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change**. New York: John Wiley & Sons, 2016.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanisms in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, 2012.

SHI, Jiang; SHI, Guoan; TIAN, Zhen**.** Effect of exogenous hydrogen peroxide or ascorbic acid on senescence in cut flowers of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.). ***The Journal of Horticultural Science and Biotechnology***, v. 90, n. 6, p. 689-694, 2015.

SIGNOR, D.; CERRI, C. E. P.; D. E. O. N., M. D. Emissões de N_2O de um latossolo após a aplicação de fertilizantes nitrogenados, 2011.

SILVA, A. L. **Eficiência agronômica da ureia estabilizada com inibidores de urease e nitrificação na cultura do milho**. 2016. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

SILVA, D. F. D. *et al*. Volatilização de amônia do solo após doses de ureia com inibidores de urease e nitrificação na cultura do abacaxi. **Revista Ceres**, v. 64, p. 327–335, 2017.

SNYDER, C. S.; BRUULSEMA, T. W.; JENSEN, T. L.; FIXEN, P. E. Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects. Agriculture, Ecosystems & Environment, v. 133, n. 3-4, p. 247-266, 2009.

SOUZA, L. A. D. **Brasil Escola**. Disponível em: https://brasilescola.uol.com.br. Acesso em: 2024.

SPOONER, D. M.; PERALTA, I. E.; KNAPP, S. Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes (*Solanum* L. Section *Lycopersicon* (Mill) Wettst). **Taxon**, Utrecht, v. 54, p. 43-61, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A**.** *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TASCA, F. A. *et al*. Volatilização de amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de urease. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 493–502, 2011.

TECNOLOGIA, C. D. Z. - CEAGESP. **Hortipedia: tomate**. Disponível em: https://ceagesp.gov.br/hortiescolha/hortipedia/tomate/. Acesso em: 22 jan. 2024.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Alterações induzidas pelo cobre nas atividades de enzimas antioxidantes em folhas de lentilha-d'água (*Lemna minor*). **Ciência Vegetal**, v. 153, p. 65-72, 2000.

TEIXEIRA, J. **Considerações sobre o prazo de validade de concentrados e molhos à base de tomate**. Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, Bromatologia em Saúde, 2011.

TIAN, H. *et al*. A comprehensive quantification of global nitrous oxide sources and sinks. **Nature**, v. 586, p. 248–256, 2020.

TIMILSENA, Y. P. *et al*. Enhanced efficiency fertilisers: a review of formulation and nutrient release patterns. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 1131–1142, 2015.

Tomato Production by Country 2025. **Acesso Digital**. Disponível em: https://worldpopulationreview.com/country-rankings/tomato-production-by-country?utm

TRANI, P. E. *et al*. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: **Instituto Agronômico de Campinas**, 2022. p. 419-424. (IAC. Boletim Técnico, 100).

TRENKEL, M. **Slow-and controlled-release and stabilized fertilizers: an option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture**. [S.l.]: International Fertilizer Industry Association (IFA), 2021.

TRINDADE, M.; MARTUCCI, R. Efeitos do licopeno na saúde cardiovascular. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 10, n. 3, 2011.

TRIVELIN, P. C. O. *et al*. Perdas do nitrogênio da uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 193–201, 2002.

UN COMTRADE DATABASE. **United Nations International Trade Statistics Database**. [S.l.], 2018. Disponível em: https://comtrade.un.org/. Acesso em: 22 jan. 2024.

VAN DIEN, S. J.; OKUBO, Y.; HOUGH, M. T.; KOROTKOVA, N.; TAITANO, T.; LIDSTROM, M. E. Reconstruction of C3 and C4 metabolism in *Methylobacterium extorquens* AM1 using transposon mutagenesis. **Microbiology**, v. 149, p. 601–609, 2003.

VENDRUSCOLO, E. P.; MARTINS, A. P. B.; SELEGUINI, A. Promoção no desenvolvimento de mudas olerícolas com uso de bioestimulante. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v. 5, n. 2, p. 73-82, 2016.

VIEIRA, R F. *Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas*. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 163 p. ISBN 978-85-7035-780-9.

VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G. D**.** Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. ***Planta***, v. 153, n. 4, p. 376-387, 1981.

WARNER, J.; ZHANG, T. Q.; HAO, X. Effects of nitrogen fertilization on fruit yield and quality of processing tomatoes. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 84, n. 8, p. 865-871, jul. 2004.

WATSON, C. J. *et al*. Rate and mode of application of the urease inhibitor N-(n-butyl) thiophosphoric triamide on ammonia volatilization from surface-applied urea. **Soil Use and Management**, v. 24, p. 246–253, 2008.

WELLNER, S. A.; LODDERS, N.; KAMPFER, P. *Methylobacterium cerastii* sp. nov., isolated from the leaf surface of *Cerastium holosteoides*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 2012.

WITT, M.; WEAVER, A. On-Farm Demonstration Trial: Growth Promoter Studies Soybean Plant Health Trials. **Iowa State University Research and Demonstration Farms Pro*GR*ess Reports**, v. 2021, n. 1, 2022.

XAVIER, M. E. R.; KERR, A. A. F. S. O efeito estufa e as mudanças climáticas globais. **FAP IF USP**, 2013.

ZAMAN, M.; BLENNERHASSETT, J. D. Effects of the different rates of urease and nitrificaton inhibitors on gaseous emissions of ammonia and nitrous oxide, nitrate

leaching and pasture production from urine patches in an intensive *GR*azed pasture system. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 136, p. 236–246, 2010.

ZANDONADI, D. B. **Bioestimulantes e produção de hortaliças**. **Embrapa Hortaliças**. Artigo de divulgação na mídia. **INFOTECA-E**, 2018.

ZEMRI, K.; AMAR, Y.; BOUTIBA, Z.; ZEMRI, M.; POPOVIC, R. Use of chlorophyll fluorescence to evaluate the effect of chromium on activity photosystem II at the alga Scenedesmus obliquus. **International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences,** v. 12, p. 304-314, 2012.

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, Á. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 21, p. 29–42, 2016.