

## EFEITO DE TRÊS FORMULAÇÕES DE *Bacillus amyloliquefaciens* ICBB200 SOBRE O CRESCIMENTO DE PLANTAS DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) EM CINCO CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS

Aida Terezinha Santos Matsumura<sup>1\*</sup>; Isabel Cristina Padula Paz<sup>1</sup>; Alexandre Martins Guimarães<sup>1</sup>; Marcia Eloisa da Silva<sup>1</sup>; Ana Paula Ott<sup>2</sup>; Valmir Duarte<sup>2</sup>

SAP 13093 Data envio: 28/10/2015 Data do aceite: 26/01/2016

Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 15, n. 2, abr./jun., p. 146-152, 2016

**RESUMO** - A produção convencional de hortaliças se baseia no uso de fertilizantes e defensivos químicos, os quais contribuem para o aumento da produção de alimentos. Porém, o uso exagerado e inadequado desses produtos pode causar vários problemas à saúde e ao meio ambiente. O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas, como *Bacillus amyloliquefaciens*, surge como uma alternativa, já que as mesmas atuam diretamente no crescimento vegetal por alterações nas concentrações hormonais e maior aporte de nutrientes, como nitrogênio, fósforo e ferro, além de também atuar indiretamente pela supressão de doenças. Com isso, este trabalho objetiva avaliar o efeito da bactéria *B. amyloliquefaciens* ICBB200, apresentada em três diferentes formulações, sobre o crescimento de plantas de alface, em cinco condições edafoclimáticas diferentes. Ensaios em campo com três diferentes formulações de *B. amyloliquefaciens* ICBB200 foram conduzidos em áreas de cultivo de alface, em cinco condições edafoclimáticas distintas, na cidade de Porto Alegre, RS. Após 34 dias de cultivo, as plantas foram coletadas e avaliadas quanto à circunferência e peso de massa fresca de parte aérea. *B. amyloliquefaciens* ICBB200 promoveu o crescimento de parte aérea de plantas de alface, em qualquer uma de suas formulações testadas, em todas as diferentes condições edafoclimáticas testadas.

**Palavras-chave:** hortaliças, inoculantes agrícolas, promoção de crescimento, rizobactéria.

## EFFECT OF THREE FORMULATIONS OF *Bacillus amyloliquefaciens* ICBB200 ON LETTUCE GROWTH (*Lactuca sativa* L.) IN FIVE SOIL AND CLIMATE CONDITIONS

**ABSTRACT** - Conventional vegetable production is based on the use of chemical fertilizers and pesticides, which contribute to increased food production. However, excessive and inappropriate use of these products can cause several problems to health and the environment. The use of bacteria promoting plant growth, such *Bacillus amyloliquefaciens* ICBB200 is an alternative, since they act directly on the plant growth due to changes in hormonal levels and increased intake of nutrients such as phosphorus and iron, and also act indirectly by suppressing diseases. Field tests with three different formulations of *B. amyloliquefaciens* ICBB200 were conducted in lettuce growing areas, in five different soils and climatic conditions in the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul State. After 34 days of cultivation, the plants were collected and evaluated for circumference and fresh weight of aerial part. *B. amyloliquefaciens* ICBB200 promoted shoot growth of lettuce plants in any of their formulations tested, at all the different conditions tested.

**Key words:** vegetables, agricultural inoculants, growth promotion, rhizobacteria.

### INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no mundo. Diante de sua sensibilidade às condições climáticas, até o final da década de 70 do século passado, o cultivo se restringia às regiões de clima temperado. Entretanto, o desenvolvimento de novas variedades com maior resistência ao calor permitiu que a alface fosse cultivada em todo o Brasil (SALA; COSTA, 2012; MALDONADE et al., 2014).

A produção convencional de hortaliças se baseia no uso de fertilizantes e defensivos químicos, os quais

contribuíram para o aumento da produção de alimentos. Porém, o uso exagerado e inadequado desses produtos pode causar vários problemas à saúde e ao meio ambiente (ADESEMOYE et al., 2009). Portanto, a busca de alternativas que possam reduzir a introdução desse tipo de insumo nas lavouras é primaz para a manutenção sustentável dos cultivos.

O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), como *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* sp., impacta a produção agrícola, pelo aumento no rendimento (PII et al., 2015). As BPCP atuam indiretamente pela

<sup>1</sup>ICB BIOAGRITEC LTDA, Rua Arabutã 386, Bairro Navegantes, CEP 90240-470, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: [detec@icb.bio.br](mailto:detec@icb.bio.br) \*Autor para correspondência

<sup>2</sup>Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Avenida Bento Gonçalves 7712, Bairro Agronomia, CEP 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

supressão de doenças e diretamente pela produção ou alteração da concentração de fitohormônios, fixação de nitrogênio atmosférico, solubilização de fosfatos minerais ou outros nutrientes do solo, oxidação do enxofre, aumento de permeabilidade das raízes e produção de sideróforos (LUGTENBERG; KAMILOVA, 2009; PII et al., 2015). Associada a diversidade de metabólitos produzidos por bactérias do gênero *Bacillus* e a inocuidade à animais e humanos, há a capacidade de formação de esporos, estruturas que viabilizam o preparo de formulações com maior estabilidade, o que torna essas bactérias ainda mais interessantes para o desenvolvimento de produtos inoculantes (BOER; DIDERICKSEN, 1991; TIAGO et al., 2004; PÉREZ-GARCIA, 2011; LAGERLÖF et al., 2015).

*Bacillus amyloliquefaciens* é uma bactéria cosmopolita, habitante natural de solos e comumente associadas ao ambiente rizosférico e endofítico de plantas (FAN et al., 2012; MENG et al., 2012; XU et al., 2013).

*B. amyloliquefaciens* vem sendo associada à proteção de plantas, mostrando resultados positivos na promoção de crescimento (STAVROPOULOU, 2011; HAO et al., 2012; KASIM et al., 2013; NAUTIYAL et al., 2013), assim como na redução das perdas causadas por fungos e nematoides fitopatogênicos (BURKET-CADENA et al., 2008; LOBNA; ZAWAM, 2010; ALFONZO et al., 2012; BÉRIC et al., 2012; SOLANKI et al., 2012; DIHAZI et al., 2012; MYRESIOTIS et al., 2012; WANG et al., 2012; ALVAREZ et al., 2012).

O uso de *B. amyloliquefaciens* em nível comercial como promotoras de crescimento vegetal já é uma realidade em alguns países, como os produtos Rhizovital® produzido na Alemanha, Taegro® na Dinamarca, e Quickroots® nos Estados Unidos (PÉREZ-GARCIA et al., 2011; CHOWDHURY et al., 2013; MONSANTO, 2015). No caso do Brasil, não foram encontradas referências de que haja produtos comerciais registrados à base de *B. amyloliquefaciens* como promotores de crescimento.

Na legislação brasileira, produtos contendo microrganismos promotores de crescimento vegetal se enquadram como inoculantes agrícolas (BRASIL, 2004).

Nesse sentido, este trabalho se propõe a demonstrar a efetividade de *B. amyloliquefaciens* ICBB200, sob formulação líquida, pó e pastilha efervescente, como inoculante para a cultura da alface, por

meio da promoção de crescimento, em cinco condições edafoclimáticas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Agente biológico

Bactéria rizosférica *B. amyloliquefaciens* isolado ICBB200, pertencente à bacterioteca da empresa ICB BIOAGRITEC LTDA, sob três formulações (líquido, pó e pastilha efervescente), numa concentração de  $1 \times 10^9$  esporos mL<sup>-1</sup> ou esporos g<sup>-1</sup>, de acordo com a natureza da formulação.

### Ensaio em condições de campo

Os ensaios foram conduzidos entre janeiro e março de 2013, em cinco áreas experimentais, na cidade de Porto Alegre, RS.

As áreas experimentais representam cinco condições edáficas diferentes, como segue: área 1: Lat. 30° 11' 16,83" S, Long. 51° 08' 22,27" O (Associação de PLANOSSOLOS HIDROMÓRFICOS, GLEISSOLOS HÁPLICOS e PLINTOSSOLOS ARGILÚVICOS); área 2: Lat. 30° 07,419' S, Long. 51° 02,674' O (ARGISSOLO VERMELHO AMARELO Distrófico); área 3: Lat. 30° 13,052' S, Long. 51° 04,582' O (Associação de GLEISSOLOS HÁPLICOS e PLANOSSOLOS HIDROMÓRFICOS), área 4: Lat. 30° 08,589' S, Long. 51° 05,644' O (Grupo indiferenciado de ARGISSOLOS VERMELHOS e ARGISSOLOS VERMELHO-AMARELOS) e área 5: Lat. 30° 14,840' S, Long. 51° 08,158' O (Associação de NEOSSOLOS QUARTZARÊNICOS e GLEISSOLOS).

Em cada uma das áreas experimentais, mudas de alface crespa, cultivar Vera, marca comercial SAKATA, com tamanho médio de parte aérea de 5 cm, foram transplantadas em canteiros (20 cm de altura e 120 cm de largura) sem nenhum tipo de cobertura.

Logo após o plantio, realizaram-se as aplicações dos tratamentos discriminados na Tabela 1. A aplicação foi realizada com um pulverizador costal manual, com volume de calda ajustado para 250 mL de calda por m<sup>2</sup>, com pulverização total da superfície do canteiro. Previamente e após a aplicação dos tratamentos efetuou-se a irrigação dos mesmos. Como controle negativo (testemunha) foi realizada a aplicação de água esterilizada.

**TABELA 1.** Especificações dos tratamentos avaliados nas diferentes áreas experimentais.

Nome comercial	Agente biológico	Formulação	Dose utilizada (g ha <sup>-1</sup> ou mL ha <sup>-1</sup> )*
Testemunha	-	-	-
ICB Nutrisolo <i>Bacillus</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> cepa ICBB200	Líquido	50
		Pó	50
		Pastilha efervescente	50

\*: g ha<sup>-1</sup> para produtos sólidos; mL ha<sup>-1</sup> para produtos líquidos.

Os tratamentos culturais empregados nos ensaios seguiram as recomendações técnicas para a cultura da alface. O manejo das plantas daninhas foi realizado com

capina manual a cada dez dias. Em nenhuma das áreas experimentais houve ocorrência de insetos-praga e/ou doenças, não sendo necessária aplicação de agroquímicos.

A adubação seguiu as recomendações técnicas para a cultura da alface (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC, 2004), sendo realizada adubação de base para a correção dos níveis dos macro e micronutrientes e adubação nitrogenada de cobertura parcelada em duas aplicações. Não foi necessário a correção do pH do solo em nenhuma das áreas experimentais. Todas as áreas experimentais foram irrigadas via aspersores conforme a necessidade para a cultura.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com cinco blocos, contendo três parcelas cada. Cada parcela foi constituída de quatro linhas, com 1,5 m de comprimento e espaçamento de 0,25 m, sendo consideradas como parcela útil as duas linhas centrais, desprezando-se 0,5 m de cada extremidade da parcela.

As avaliações da massa fresca e do diâmetro de parte aérea foram realizadas 34 dias após a instalação dos experimentos, coletando-se seis plantas por parcela.

Após a lavagem individual das plantas em água corrente e retirada do excesso de umidade com papel absorvente, foram avaliados o peso fresco e o diâmetro da parte aérea, utilizando-se balança digital e régua graduada em mm, respectivamente.

#### Análises estatísticas

Os valores foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Para a identificação do efeito dos

tratamentos sobre os parâmetros avaliados foi aplicado o teste de separação de médias Duncan a 5% de probabilidade, com auxílio do pacote estatístico SPSS 16.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito promotor de crescimento vegetal por isolados de *B. amyloliquefaciens* já foi verificado nas culturas de tomate, milho, alface e algodão (EL HUSSEINI et al., 2012; FAN et al., 2012; ALMAGHRABI et al., 2013; TAN et al., 2013; CHOWDHURY et al., 2013). Inclusive, há produtos inoculantes à base desses microrganismos registrados e comercializados no mercado mundial (PÉREZ-GARCIA, 2011; CHOWDHURY et al., 2013).

Neste trabalho, parâmetros como diâmetro de parte aérea e massa fresca de plantas de alface foram significativamente influenciados pelo uso de *B. amyloliquefaciens* ICBB200, em todas as suas formulações e condições edafoclimáticas testadas.

Nas áreas 1, 4 e 5, o aumento no diâmetro de parte aérea foi verificado em plantas tratadas com *B. amyloliquefaciens* ICBB200 disponibilizada nas formulações pastilha efervescente, líquido e pó, não sendo verificadas diferenças significativas entre as diferentes formulações, somente entre plantas tratadas ou não com a rizobactéria (Tabela 2).

**TABELA 2.** Diâmetro de parte aérea de plantas de alface submetidas ao tratamento com *Bacillus amyloliquefaciens* ICBB200 em cinco áreas experimentais, com respectivo efeito em percentual dos tratamentos sobre a testemunha.

Tratamentos	Diâmetro (cm) de parte aérea/ (Porcentual de incremento)				
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4	Área 5
Testemunha	28,7 ± 3,7 a*	33,7 ± 2,2 a	34,7 ± 2,5 a	31,23 ± 3,2 a	32,4 ± 2 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> líquido	33 ± 2,2 b (14,75%)	42,34 ± 4,7 c (25,54%)	39,1 ± 2,3 c (12,6%)	35,2 ± 4,6 b (12,57%)	37,7 ± 3,6 b (16,48%)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> pó	33,2 ± 3,2 b (15,4%)	39,1 ± 5,6 b (16%)	37,7 ± 2,9 b (8,43%)	34,9 ± 3,7 b (11,54%)	38,7 ± 2 b (19,35%)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> pastilha efervescente	32,7 ± 2,6 b (13,9%)	38,7 ± 6,4 b (14,7%)	37,6 ± 3,1 b (8,14%)	34,5 ± 3,8 b (10,32%)	38,3 ± 2,6 b (18,4%)

\*Colunas seguidas de mesma letra, não diferiram entre si pelo teste de Duncan 5%.

Nas áreas 2 e 3, os tratamentos com *B. amyloliquefaciens* ICBB200 indicaram efeito positivo semelhante ao obtido nas demais áreas, com aumento significativo no diâmetro de parte aérea. Entretanto, nessas áreas, foi verificado um comportamento diferencial da formulação líquida do produto biológico, onde as plantas tratadas apresentaram incremento significativamente superior no diâmetro de parte aérea, em relação às outras duas formulações e à testemunha (Tabela 2).

Assim como no diâmetro de parte aérea, todas as formulações do produto proporcionaram aumento da massa fresca de plantas de alface, independente da

condição edafoclimática em que o ensaio foi conduzido (Tabela 3).

Neste trabalho foi possível observar que as condições edafoclimáticas avaliadas não interferiram na interação entre os tratamentos e os parâmetros avaliados. Esse comportamento também foi verificado por Schreiter et al. (2014), os quais verificaram que a colonização rizosférica e a promoção de crescimento por *Pseudomonas jessenii* RU47 e *Serratia plymuthica* 3Re418 em alface, não foram alteradas nas três condições edáficas distintas testadas (dois tipos de solos aluviais e um sedimentar).

A promoção de crescimento de plantas mediada por rizobactérias é resultado basicamente da produção de

hormônios vegetais e da fixação e solubilização de nutrientes muitas vezes indisponíveis no solo, como nitrogênio, fósforo e ferro (PÉREZ-GARCIA, 2011), mas

para que tais processos ocorram é primordial que ocorra a colonização bacteriana das raízes (BUDIHARJO et al., 2014).

**TABELA 3.** Massa fresca de parte aérea de plantas de alface submetidas ao tratamento com *Bacillus amyloliquefaciens* ICBB200 em cinco áreas experimentais, com respectivo efeito em percentual dos tratamentos sobre a testemunha.

Tratamentos	Massa fresca (g) de parte aérea/ (Porcentual de incremento)				
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4	Área 5
Testemunha	220,3 ± 45,4 a*	335,8 ± 56,5 a	365,5 ± 89,5 a	225 ± 79,5 a	325,1 ± 76,4 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> líquido	278,6 ± 57,3 b (26,5%)	380,2 ± 62,2 b (13,22%)	472,8 ± 86,1b (29,4%)	291,4 ± 54,9 b (29,5%)	453,2 ± 105,9 b (39,4%)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> pó	260,0 ± 59,5 b (18,02%)	379,1 ± 66,6 b (12,9%)	443,5 ± 97,5 b (21,3%)	288,7 ± 59,6 b (28,3%)	429,9 ± 95,5 b (32,2%)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> pastilha efervescente	257,5 ± 68,6 b (16,9%)	376,5 ± 89,4 b (12,10%)	443,1 ± 114,3 b (21,25%)	282,7 ± 73,1 b (25,6%)	418,8 ± 114,4 b (28,81%)

\*Colunas seguidas de mesma letra, não diferiram entre si pelo teste de Duncan 5%.

Nesse sentido, os exsudatos radiculares parecem atuar como moléculas sinalizadoras importantes no processo de reconhecimento e estabelecimento da interação benéfica entre a rizobactéria e a planta hospedeira (PII et al., 2015).

Neumann et al. (2014) concluíram que a composição dos exsudatos radiculares de alface cultivadas sob diferentes condições edáficas se mantém qualitativamente a mesma, com alterações principalmente em nível de concentração dos compostos presentes, tais como os açúcares de baixo peso molecular, glicose, frutose, maltose, sacarose e trealose.

O fato de que o perfil dos exsudatos radiculares nos diferentes tipos de solo varia mais em concentração de compostos do que diferem quanto à diversidade, indica que os exsudatos que servem como sinais para as bactérias rizosféricas encontram-se presentes em diferentes condições (NEUMANN et al., 2014; SCHREITER et al., 2014). Isso é corroborado pelos nossos resultados de campo, onde verificou-se a uniformidade no aumento de biomassa das plantas de alface tratadas com *B. amyloliquefaciens* ICBB200, nos cinco diferentes tipos de solo, indicando que a bactéria conseguiu reconhecer e se estabelecer na rizosfera.

Um incremento de 16,9%, 18,0% e 26,5% na massa fresca foi obtido quando aplicado *B. amyloliquefaciens* ICBB200 nas formulações pastilha efervescente, pó e líquida, respectivamente, com um aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ), na área 1 (Tabela 3). Já na área 2, o aumento corresponde a 13,2%, 12,9% e 12,1% com as formulações líquida, pó e pastilha efervescente, respectivamente.

Na área 3, incrementos de 29,4%, 21,3% e 21,2% foram verificados quando as plantas foram tratadas com a bactéria nas formulações líquida, pó e pastilha efervescente, respectivamente. Na área 4, as taxas de aumento na massa fresca de parte aérea correspondem a 29,5%, 28,3% e 25,6%, quando as plantas foram tratadas

com as formulações líquida, pó e pastilha efervescente de *B. amyloliquefaciens* ICBB200.

Na área 5 observou-se o maior incremento nas plantas de alface, com massa fresca 39,4%, superior à testemunha, fazendo-se uso da formulação líquida de *B. amyloliquefaciens* ICBB200, seguido de 32,2% com a formulação pó e 29,4%, com a formulação pastilha efervescente.

O efeito benéfico similar entre as diferentes formulações da bactéria *B. amyloliquefaciens* ICBB200 sobre o crescimento das plantas de alface indicam que as tecnologias utilizadas no desenvolvimento do produto foram adequadas para disponibilizar as bactérias em quantidade e viabilidade adequada para o estabelecimento da interação benéfica com a planta (DE BELLIS; ERCOLANI, 2001; BARRET et al., 2011; GHIRARDI et al., 2012).

A formulação de produtos inoculantes é um dos pontos cruciais no desenvolvimento de novas tecnologias. Em parte, este pode ser um dos fatores que expliquem a baixa relação entre a descoberta de cepas microbianas promissoras para a agricultura e a disponibilização de novos produtos biológicos no mercado, ou seja, talvez em alguns casos, por conta de formulações não otimizadas, cepas promissoras acabam por serem descartadas (BASHAN et al., 2014).

Os incrementos percentuais na massa fresca de parte aérea variaram entre 12,1% a 39,4%, nas cinco diferentes áreas, o que indica que o microrganismo pode interagir diferencialmente com a planta, sob diferentes condições de clima e solo. Entretanto, cabe ressaltar, que independente das taxas de aumento no parâmetro, o uso do produto sempre mostrou dados significativamente maiores do que os obtidos na testemunha.

A promoção de crescimento vegetal elicitada por bactérias decorre principalmente da capacidade das mesmas de produzirem hormônios vegetais e de facilitarem a entrada de nutrientes, via fixação de

nitrogênio atmosférico, solubilização de fósforo e síntese de sideróforos (ADESEMOYE et al., 2009; BENEDUZI et al., 2012; PAZ et al., 2012).

O efeito direto de *Bacillus* sobre o crescimento vegetal envolve a modulação do desenvolvimento através da produção de fitohormônios (TSAVKELOVA et al., 2006; PAZ et al., 2012). Assim, várias espécies de *Bacillus*, incluindo *B. amyloliquefaciens*, produtoras de ácido indol acético, giberelinas, citocininas e ácido jasmônico são capazes de estimular diretamente o crescimento vegetal (PÉREZ-GARCIA, 2011).

A promoção de crescimento mediada por *Bacillus* também incluem processos indiretos, como o aumento da disponibilidade de nutrientes. Para citar, a fixação no solo de nutrientes essenciais como o fósforo e o ferro em sua forma indisponível, torna os fatores limitantes ao crescimento vegetal.

No solo, o fósforo orgânico é estocado principalmente como hexafosfato mio-inositol ou fitato, ambas formas indisponíveis para as plantas, entretanto diversas cepas de *Bacillus* são capazes de produzir enzimas como as fitases que catalisam a hidrólise de fitato a seus derivados de mio-inositol menos fosforilados e fosfato inorgânico (JORQUEIRA et al., 2008). Além do

efeito direto sobre a disponibilização de fósforo às plantas, as fitases podem eliminar os fitatos que atuam como quelantes de minerais importantes como  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  e  $Ca^{2+}$  (PÉREZ-GARCIA, 2011). Outra forma de disponibilização de fósforo para as plantas mediada por *Bacillus* sp. é via acidificação do meio circundante, levando a consequente solubilização do fosfato (ANZUAY et al., 2015).

Estes mecanismos de ação devem estar envolvidos na ação promotora de crescimento das plantas pelo agente biológico testado, o que culmina em um maior acúmulo de carboidratos. Isto pode explicar a maior influência verificada dos tratamentos no parâmetro massa fresca, com índices de incremento relativo superiores aos obtidos com o parâmetro diâmetro de parte aérea.

Fazendo-se uma avaliação geral dos experimentos, independente da área avaliada, constata-se que os tratamentos aumentaram significativamente os parâmetros associados à promoção de crescimento vegetal, com incrementos de 25,3%, 21,0% e 18,7%, na massa fresca de parte aérea e de 12,5%, 13,8% e 15,7% no diâmetro de parte aérea, com o uso de *B. amyloliquefaciens* ICBB200 na formulação líquida, pó ou pastilha efervescente, respectivamente (Tabela 4).

**TABELA 4.** Diâmetro (cm) e massa fresca (g) de parte aérea de plantas de alface obtidas a partir da análise conjunta dos dados das cinco áreas experimentais, com respectivo efeito em percentual dos tratamentos com *Bacillus amyloliquefaciens* ICBB200 sobre a testemunha.

Tratamentos	Diâmetro de parte aérea (cm)	Incremento (%)	Massa fresca de parte aérea (g)	Incremento (%)
Testemunha	32,4 a*	-	301,9 a	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> líquido	37,5 b	15,70	378,0 b	25,22
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> pó	36,8 b	13,73	365,1 b	20,95
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> pastilha efervescente	36,4 b	12,47	358,3 b	18,68

\*Colunas seguidas de mesma letra, não diferiram entre si pelo teste de Duncan 5%.

## CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos conclui-se que *Bacillus amyloliquefaciens* ICBB200, em qualquer das formulações testadas, apresenta resultados positivos sobre o crescimento das plantas de alface, podendo ser enquadrado pela legislação brasileira como inoculante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESEMOYE, A.O.; TORBERT, H.A.; KLOPPER, J.W. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*, Cambridge, v.58, p.921-929, 2009.
- ALFONZO, A.; PICCOLO, S.L.; CONIGLIARO, G.; VENTORINO, V.; BURRUANO, S.; MOSCHETTI, G. Antifungal peptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* AG1 active against grapevine fungal pathogens. *Annals of Microbiology*, Milão, v.62, n.4, p.1593-1599, 2012.
- ALMAGHRABI, O.A.; MASSOUD, S.I.; ABDELMONEIM, T.S. Influence of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on tomato plant growth and nematode reproduction under

- greenhouse conditions. *Saudi Journal of Biological Science*, Amsterdã, v.20, n.1, p.57-61, 2013.
- ALVAREZ, F.; CASTRO, M.; PRÍNCIPE, A.; BORIOLI, G.; FISCHER, S.; MORI, G.; JOFRÉ, E. The plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP218 and ARP23 capable of producing the cyclic lipopeptides iturin or surfactin and fengycin are effective in biocontrol of sclerotinia stem rot disease. *Journal of Applied Microbiology*, Bedford, v.112, n.1, p.159-174, 2012.
- ANZUAY, M.S.; LUDUENA, L.M.; ANGELINI, J.G.; FABRA, A.; TAURIAN, T. Beneficial effects of native phosphate solubilizing bacteria on peanut (*Arachis hypogaea* L.) growth and phosphorus acquisition. *Symbiosis*, Seattle, v.66, n.2, p.89-97, 2015.
- BARRET, M.; MORRISSEY, J.P.; O'GARA, F. Functional genomics analysis of plant growth-promoting rhizobacterial traits involved in rhizosphere competence. *Biology and Fertility of Soils*, Firenze, v.47, p.729-743, 2011.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E.; PRABHU, S.R.; HERNANDEZ, J.P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). *Plant and Soil*, Dordrecht, v.378, p.1-33, 2014.
- BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L.M.P. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and

- biocontrol agents. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.35, n.4, p.1044-1051, 2012.
- BERIĆ, T.; KOJIĆ, M.; STANKOVIĆ, S.; TOPISIROVIĆ, L.; DEGRASSI, G.; MYERS, M.; FIRA, D. Antimicrobial activity of *Bacillus* sp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v.50, n.1, p.25-31, 2012.
- BOER, A.S.; DIDERICHSEN, B. On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens*: a review. **Applied and Microbial Biotechnology**, Washington, v.36, n.1, p.1-4, 1991.
- BRASIL, 2004. Decreto 4.954, de 14 de janeiro de 2004.
- BUDI HARJO, A.; CHOWDHURY, S.P.; DIETEL, K.; BEATOR, B.; DOLGOVA, O.; FAN, B.; BLEISS, W.; ZIEGLER, J.; SCHMID, M.; HARTMANN, A.; BORRIS, R. Transposon mutagenesis of the plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* FZB42 revealed that the *nfrA* and *RBAM17410* genes are involved in plant-microbe-interactions. **Plos One**, San Francisco, v.9, n.5, p.1-13, 2014.
- BURKETT-CADENA, M.; KOKALIS-BURELLE, N.; LAWRENCE, K.S.; VAN SANTEN, E.; KLOPPER, J.W. Suppressiveness of root-knot nematodes mediated by rhizobacteria. **Biological Control**, v.47, p.55-59, 2008.
- CHOWDHURY, S.P.; DIETEL, K.; RANDLER, M.; SCHMID, M.; JUNGE, H.; BORRIS, R.; HARTMANN, A.; GROSCH, R. Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 on lettuce growth and health under pathogen pressure and its impact on the rhizosphere bacterial community. **Plos One**, San Francisco, v.8, n.7, p.1-10, 2013.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10.ed. Porto Alegre: SBCS, Núcleo Regional Sul, 2004. 400p.
- DE BELLIS, P.; ERCOLANI, G.L. Growth interactions during bacterial colonization of seedling rootlets. **Applied Environment and Microbiology**, Washington, v.67, p.1945-1948, 2001.
- DIHAZI, A.; JAITI, F.; JAOUA, S.; DRIOUICH, A.; BAAZIZ, M.; DAAFY, F.; SERGHINI, M.A. Use of two bacteria for biological control of bayoud disease caused by *Fusarium oxysporum* in date palm (*Phoenix dactylifera* L) seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, Versailles, v.55, p.7-15, 2012.
- EL-HUSSEINI, M.M.; BOCHOW, H.; JUNGE, H. The biofertilising effect of seed dressing with pgr *Bacillus amyloliquefaciens* FZB 42 combined with two levels of mineral fertilising in african cotton production. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, Quebec, v.45, n.19, p.2261-2271, 2012.
- FAN, B.; CARVALHAIS, L.C.; BECKER, A.; FEDOSEYENKO, D.; VON WIREN, N.; BORRIS, R. Transcriptomic profiling of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 in response to maize root exudates. **BMC Microbiology**, Londres, v.12, p.116, abr./jun. 2012.
- GHIRARDI, S.; DESSAINT, F.; MAZURIER, S.; CORBERAND, T.; RAAJIMAKERS, J.M.; MEYER, J.M.; DESSAUX, Y.; LEMANCEAU, P. Identification of traits shared by rhizosphere-competent strains of fluorescent *Pseudomonads*. **Microbial Ecology**, Cambridge, v.64, n. 3, p.725-737, 2012.
- HAO, K.; HE, P.; BLOM, J.; RUECKERT, C.; MAO, Z.; WU, Y.; HE, Y.; BORRIS, R. The genome of plant growth-promoting *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* strain YAU B9601-Y2 contains a gene cluster for mersacidin synthesis. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.194, n.12, p.3264-3265, 2012.
- JORQUERA, M.; MARTINEZ, O.; MURUYAMA, F.; MARSCHNER, P.; LUZ MORA, M. Current and future biotechnological applications of bacterial phytases and phytase-producing bacteria. **Microbes and Environment**, Taiwan, v.23, p.182-191, 2008.
- KASIM, W.A.; OSMAN, M.E.; OMAR, M.N.; EL-DAIM, I.A.A.; BEJAI, S.; MEIJER, J. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. **Journal of Plant Growth Regulation**, Verona, v.32, n.1, p.122-130, 2013.
- LAGERLÖF, J.; AYUKE, F.; BEJAI, S.; JORGE, G.; LAGERQVIST, E.; MEIJER, J.; JOHNMUTURI, J.; SÖDERLUND, S. Potential side effects of biocontrol and plant-growth promoting *Bacillus amyloliquefaciens* bacteria on earthworms. **Applied Soil Ecology**, v.96, p.159-164, 2015.
- LOBNA, M.; ZAWAM, H. Efficacy of some biocontrol agents on reproduction and development of *Meloidogyne incognita* infecting tomato. **Journal of American Science**, Lansing, v.6, n.11, p.495-509, 2010.
- LUGTENBERG, B.; KAMILOVA, F. Plant growth-promoting rhizobacteria. **Annual Review of Microbiology**, v.63, p.541-556, 2009.
- MALDONADE, I.R.; MATTOS, L.M.; MORETTU, C.L. **Documentos 142 - manual de boas práticas agrícolas na produção de alface**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2014. 41p. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie\_documentos/publicacoes20c14/doc\_142.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2015.
- MENG, Q.X.; JIANG, H.H.; HANSON, L.E.; HAO, J.J. Characterizing a novel strain of *Bacillus amyloliquefaciens* BAC03 for potential biological control application. **Journal of Applied Microbiology**, Bedford, v.113, n.5, p.1165-1175, 2012.
- MONSANTO. **Quickroots**. Estados Unidos. Disponível em: <http://www.monsanto.com/products/pages/quickroots-us.aspx>. Acesso em: 26 out. 2015.
- MYRESIOTIS, C.K.; KARAOGLANIDIS, G.S.; VRYZAS, Z.; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Evaluation of plant-growth-promoting rhizobacteria, acibenzolar-S-methyl and hymexazol for integrated control of *Fusarium* crown and root rot on tomato. **Pest Management Science**, Londres, v.68, n.3, p.404-411, mar. 2012.
- NAUTIYAL, C.S.; SRIVASTAVA, S.; CHAUHAN, P.S.; SEEM, K.; MISHRA, A.; SOPORY, S.K. Plant growth-promoting bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* NBRISN13 modulates gene expression profile of leaf and rhizosphere community in rice during salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, Versailles, v.66, p.1-9, 2013.
- NEUMANN, G.; BOTT, S.; OHLER, M.; MOCK, H.; LIPPMAN, R.; GROSCH, R.; SMALLA, K. Root exudation and root development of lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Tizian) as affected by different soils. **Frontiers of Microbiology**, Lausanne, v.5, p.1-6, 2014.
- PAZ, I.C.; SANTIN, R.C.; GUMARÃES, A.M.; ROSA, O.P.; DIAS, A.C.; QUECINE, M.C.; AZEVEDO, J.L.; MATSUMURA, A.T. Eucalyptus growth promotion by endophytic *Bacillus* spp. **Genetic and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.11, n.4, p.3711-3720, 2012.
- PÉREZ-GARCIA, A.; ROMERO, D.; VICENTE, A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. **Current Opinion in Biotechnology**, Cambridge, v.22, n.2, p.187-193, 2011.
- PII, Y.; MIMMO, T.; TOMASI, N.; CESCO, S.; CRECCHIO, C. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. a review. **Biology and Fertility of Soils**, Firenze, v.51, p.403-415, 2015.
- SALA, F.C.; COSTA, C.P. Retrospectiva e tendência da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v.30, n.2, p.187-194, 2012.
- SCHREITER, S.; DING, G.C.; GROSCH, R.; KROPF, S.; ANTWEILER, K.; SMALLA, K. Soil type-dependent effects of a potential biocontrol inoculant on indigenous bacterial communities in the rhizosphere of field-grown lettuce. **Plos One**, San Francisco, v.9, n.8, p.718-730, 2014.
- SOLANKI, M.K.; KUMAR, S.; PANDEY, A.K.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, R.K.; KASHYAP, P.L.; ARORA, D.K. Diversity and antagonistic potential of *Bacillus* spp. associated to the rhizosphere of tomato for the management of *Rhizoctonia solani*. **Biocontrol Science and Technology**, Lethbridge, v.22, n.2, p.203-217, 2012.
- STAVROPOULOU, A. About the action of metabolites of plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis* on plant salt tolerance (I). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, Quebec, v.44, n.19, p.1867-1882, 2011.
- TAN, S.; DONG, Y.; LIAO, H.; HUANG, J.; SONG, S.; XU, Y.; SHEN, Q. Antagonistic bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* induces resistance and controls the bacterial wilt of tomato. **Pest and Management Science**, Londres, v.69, n.11, p.1245-1252, 2013.
- TIAGO, I.; TEIXEIRA, I.; SILVA, S.; CHUNG, P.; VERISSIMO, A.; MANAIA, C.M. Metabolic and genetic diversity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from composted municipal sludge on poly-epsilon-caprolactones. **Current Microbiology**, Heidelberg, v.49, p.407-414, 2004.
- TSAVKELOVA, E.A.; KLIMOVA, S.Y.; CHERDYNTSEVA, T.A.; NETRUSOV, A.I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, Leninsky, v.42, p.117-126, 2006.
- WANG, X.; LUO, C.; CHEN, Z. Genome sequence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus* sp. strain 916. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.194, n.19, p.5467-5468, 2012.

Efeito de três formulações de *Bacillus*...

MATSUMURA, A. T. S. et al. (2016)

XU, Z.; SHAO, J.; LI, B.; YAN, X.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Contribution of bacillomycin D in *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to antifungal

activity and biofilm formation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.79, n.3, p.808-815, 2013.