

**14302 - Utilização da rizobactéria *Bacillus amyloliquefaciens* na promoção de crescimento de alface (*Lactuca sativa* L.), em cultivo agroecológico.**

*Use of rhizobacteria *Bacillus amyloliquefaciens* in growth-promoting of lettuce (*Lactuca sativa* L.), in agroecological farming.*

GUIMARÃES, Alexandre M.<sup>1</sup>; PAZ, Isabel C. P.<sup>1</sup>; SANTIN, Rita C. M.<sup>1</sup>; PAULI, Gerson<sup>1</sup>;

SILVA, Marcia E.<sup>1</sup>; SOUZA, Rodrigo V.<sup>1</sup>; MATSUMURA, Aida T. S.<sup>1</sup>; SILVA, Eliseu R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ICB BIOAGRITEC LTDA, Rua Arabutan, 386. CEP 90240-470. Porto Alegre/RS; <sup>2</sup>Sítio do Tio Juca, Porto Alegre/RS

**Resumo**

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças folhosas mais consumidas, e a mesma é cultivada principalmente pelo sistema convencional de cultivo, onde faz-se uso de grandes quantidades de insumos. Entretanto, o mercado consumidor busca cada vez mais alimentos livres de agroquímicos. Nesse sentido, a atividade da bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* como promotora de crescimento de alface, cultivada sob sistema agroecológico foi avaliada. O experimento foi montado no Sítio Tio Juca, em Porto Alegre/RS, e a rizobactéria aplicada na cova no momento do plantio das mudas de alface, numa dose de 50 mL/ha. A aplicação de *B. amyloliquefaciens* aumentou significativamente o peso fresco e o diâmetro de parte aérea das plantas de alface tratadas, em relação as plantas testemunha. *Bacillus amyloliquefaciens* ICB200 atua positivamente sobre o crescimento de plantas de alface, conduzidas em sistema agroecológico. Assim, o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal pode ser uma ferramenta útil em propriedades que fazem uso do sistema agroecológico de cultivo.

**Palavras-chave:** alface; *Bacillus amyloliquefaciens*; promoção de crescimento vegetal

**Abstract:** Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is one of the most commonly consumed leafy vegetables, and it is mainly cultivated by conventional system, which makes use of large amounts of inputs, however, the consumer market looking increasingly free foods agrochemicals. Accordingly, the activity of *Bacillus amyloliquefaciens* as a promoter of growth of lettuce, grown under agroecological system was evaluated. The experiment was conducted in Sítio Tio Juca, in Porto Alegre / RS, and the rhizobacteria applied at planting of lettuce, a dose of 50 mL / ha. The application of *B. amyloliquefaciens* significantly increased fresh weight and diameter of the shoots of lettuce treated, compared to control plants. *Bacillus amyloliquefaciens* ICB200 acts positively on the growth of lettuce plants, conducted in agroecological system. Thus, the use of plant growth promoting bacteria can be a useful tool for properties that use agroecological farming system.

**Keywords:** lettuce; *Bacillus amyloliquefaciens*; plant growth-promotion

**Introdução**

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças folhosas mais consumidas. Áreas produtoras se concentram próximas dos grandes centros urbanos. Na região da zona sul do Município de Porto Alegre-RS, encontra-se um pólo produtor desta hortaliça e o sistema de produção predominante é o convencional, com emprego do monocultivo, adubação química pesada e agroquímicos. Todavia, é crescente o desenvolvimento da Agroecologia na região. O Sítio do Tio Juca é uma propriedade agroecológica de referência. O agricultor Eliseu Rosa da Silva vem a mais de 15 anos trabalhando esta ciência em seus cultivos de hortaliças. Muitos trabalhos de pesquisa já foram realizados em sua propriedade com o objetivo de estudar e sistematizar seu trabalho do dia-a-dia. Todavia, a utilização de microrganismos promotores de crescimento vegetal em seu manejo é uma pratica recente.

Vários estudos com microrganismos promotores de crescimento vegetal tem sido realizados em cultivos agroecológicos. Dentre os microrganismos mais estudados se encontram as rizobactérias do gênero *Bacillus*. *Bacillus amyloliquefaciens* é uma bactéria cosmopolita habitante natural de solos e comumente associadas ao ambiente rizosférico e endofítico de plantas (Meng et al., 2012; Xu et al., 2012). Esta espécie possui uma grande afinidade filogenética com *Bacillus subtilis*, tendo por muito tempo recebido o status de subespécie, como *B. subtilis* subsp. *amyloliquefaciens*, ou incluída na espécie *B. subtilis* como uma variante que produz grande quantidade de enzimas extracelulares.

*B. amyloliquefaciens* vem sendo associado a proteção de plantas, mostrando resultados positivos na promoção de crescimento (Ng et al., 2012; Kasim et al., 2012; Stavropoulou, 2011; Nautiyal et al., 2013), assim como na redução do impacto causados por fungos e nematóides fitopatogênicos (Alfonzo et al., 2012; Béric et al., 2012; Burket-Cadena et al., 2008; Wang et al., 2012; Lobna & Zawam, 2010).

A promoção de crescimento vegetal elicitada por bactérias decorre principalmente da capacidade das mesmas de produzirem hormônios vegetais e de facilitarem a absorção de nutrientes pelas plantas, via fixação de nitrogênio atmosférico, solubilização de fósforo e síntese de sideróforos, o que permite o sequestro do ferro e disponibilização deste nutriente para a planta (Beneduzi et al., 2012; Paz et al., 2012).

A empresa ICB BIOAGRITEC LTDA, apoiada pela EMATER/RS - ASCAR e Centro Agrícola Demonstrativo/Prefeitura Municipal – SMIC de Porto Alegre, vem desenvolvendo a prática de testes em propriedades rurais atendendo a sua filosofia de tríplice atuação “pesquisa – extensão- produção” visando a seleção, identificação, formulação e aplicação de agentes biológicos. Para atender a esta finalidade a empresa possui um banco de cepas que compreende fungos e bactérias. A coleção de bactérias conta com mais de 200 cepas obtidas da rizosfera de plantas. Assim, selecionou para ensaios de campo a cepa ICBB200, que apresentou resultados altamente promissores em ensaios de laboratório e casa de vegetação. Este isolado se mostrou produtor do hormônio vegetal ácido indol acético (AIA), solubilizador de fosfato e fixador de nitrogênio atmosférico *in vitro*, além de promover aumento dos índices de germinação e promoção de crescimento, em ensaios de casa de vegetação. A cepa ICBB200 foi caracterizado molecularmente como sendo *Bacillus amyloliquefaciens*.

Nesse sentido, este trabalho se propõe a demonstrar a efetividade de *B. amyloliquefaciens* ICBB 200, na promoção de crescimento de alface, em cultivo agroecológico.

## Metodologia

O presente estudo foi conduzido em uma unidade de produção agroecológica denominada Sítio Tio Juca, localizada no Município de Porto Alegre-RS. O agente biológico testado, bactéria *Bacillus amyloliquefacies* isolado ICBB200, foi proveniente do produto ICB NUTRISOLO BACILLUS (em fase de teste da eficiência agrônômica), aplicado via solo. Na Tabela 1 encontram-se informações sobre os tratamentos utilizados.

Tabela 1. Especificações dos tratamentos.

|    | Tratamentos            | Formulação | Dose utilizada ( mL/ha) | Concentração utilizada em UFC (i.a./ha) <sup>2</sup> |
|----|------------------------|------------|-------------------------|------------------------------------------------------|
| T1 | Testemunha             | -          | zero                    | zero                                                 |
| T2 | ICB NUTRISOLO BACILLUS | líquido    | 50                      | 5 x 10 <sup>10</sup>                                 |

O experimento foi implantado no dia 30 de janeiro de 2013, com alface crespa, cultivar Vera, marca comercial SAKATA, obtidas do Viveiro de Produção de Mudanças Sítio Vida Nova, sediado em Campo Bom, RS. Para aplicação dos tratamentos utilizou-se o pulverizador costal manual, com volume de calda ajustado para 250 ml de calda por m<sup>2</sup> pulverizando toda a superfície do canteiro. Previamente e após a aplicação dos tratamentos efetuou-se a irrigação dos canteiros. O preparo da calda de pulverização deu-se apenas com água. O tratamento testemunha constitui-se de somente água. O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, com cinco repetições. As avaliações foram realizadas 34 dias após a implantação do experimento, avaliando-se o peso fresco e o diâmetro da parte aérea. Os valores médios foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Para a identificação do efeito dos tratamentos sobre os parâmetros avaliados foi aplicado o teste de separação de médias Duncan 5%, com o auxílio do pacote estatístico SPSS 16.0.

### Resultados e discussões

Os parâmetros diâmetro da parte aérea das plantas de alface, assim como o peso de parte aérea foram utilizados como indicadores da qualidade das plantas. Caracteres relacionados ao sistema radicular não foram considerados, pois a perda de material durante a coleta pode levar a subestimativa dos resultados.

A partir da análise dos resultados verificou-se o efeito significativamente positivo da aplicação da rizobactéria sobre o diâmetro de parte aérea das plantas de alface, com aumento de 14,75% (Tabela 2).

TABELA 2. Diâmetro médio (cm) de parte aérea de plantas de alface, com respectivo efeito em porcentual do tratamento sobre a testemunha.

| Tratamento             | Diâmetro médio da parte aérea (cm) ( $\pm$ desvio padrão)* | Incremento (%) |
|------------------------|------------------------------------------------------------|----------------|
| Testemunha             | 28,74 $\pm$ 3,71 <sup>a</sup>                              | -              |
| ICB NUTRISOLO BACILLUS | 32,98 $\pm$ 2,22 <sup>b</sup>                              | 14,75          |

|      |       |
|------|-------|
| C.V. | 10,5% |
|------|-------|

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

Já em relação ao peso médio da massa fresca verificou-se um incremento de 26,5%, em relação à testemunha, quando aplicado o produto ICB NUTRISOLO BACILLUS (Tabela 3).

Tabela 3. Peso médio (gr) de parte aérea de plantas de alface, com o efeito em percentual sobre a testemunha.

| Tratamento             | Peso médio de parte aérea (g) ( $\pm$ desvio padrão)* | Incremento (%) |
|------------------------|-------------------------------------------------------|----------------|
| Testemunha             | 220,29 $\pm$ 45,45a                                   | -              |
| ICB NUTRISOLO BACILLUS | 278,6 $\pm$ 57,33b                                    | 26,5           |
| C.V.                   | 24%                                                   |                |

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

Assim como nesse trabalho, a atividade promotora de crescimento vegetal por bactérias do grupo *Bacillus subtilis* já foi constatado por diversos grupos de pesquisa em todo o mundo (Kim & Song, 2010; Lamsal et al., 2012; Leite et al., 2012; Kumar et al., 2012; Zhao et al., 2012), tendo inclusive produtos inoculantes a base desses microrganismos registrados e comercializados em todo o mundo (Bettiol et al., 2012). *Bacillus amyloliquefaciens* ICB200 atua positivamente sobre o crescimento de plantas de alface, conduzidas em sistema agroecológico.

### Conclusões

Baseado nesses resultados é possível concluir que o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal pode ser uma ferramenta útil em propriedades que fazem uso do sistema agroecológico de cultivo.

### Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao Senhor Eliseu Rosa da Silva (Tio Juca) pela concessão da área experimental e ao Senhor Luis Paulo Vieira Ramos, da EMATER/RS-ASCAR por intermediar a interação com os produtores.

### Referências bibliográficas:

Alfonzo, A., Piccolo, S. L., Conigliaro, G., Ventrino, V., Burruano, S., & Moschetti, G. (2012). Antifungal peptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* AG1 active against grapevine fungal pathogens. *Annals of microbiology*, 62(4), 1593-1599.

- Beneduzi, A.; Ambrosini, A.; Passaglia, L.M.P. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. **Genetics and Molecular Biology**, 35 (4): 1044-1051.
- Berić, T., Kojić, M., Stanković, S., Topisirović, L., Degrassi, G., Myers, M., Fira, D. (2012). Antimicrobial Activity of *Bacillus* sp. Natural Isolates and Their Potential Use in the Biocontrol of Phytopathogenic Bacteria. **Food Technology and Biotechnology**, 50(1), 25-31.
- Bettiol, W. Morandi, M.A.B.; Pinto, Z.V.; Paula Júnior, T.J.de V.; Corrêa, E.B.; Moura, A.B.; Lucon, C.M.M.; Costa, J.C.B.; Bezerra, J.L. 2012. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna, SP : Embrapa Meio Ambiente, 155 p. — (Documentos / Embrapa Meio Ambiente; 88). Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/66628/1/Doc-88-1.pdf>
- Burkett-Cadena, M.; Kokalis-Burelle, N.; Lawrence, K.S.; van Santen, E.; Kloepper, J.W. 2008. Suppressiveness of root-knot nematodes mediated by rhizobacteria. **Biological Control** 47: 55–59
- Kasim, W. A., Osman, M. E., Omar, M. N., El-Daim, I. A. A., Bejai, S., & Meijer, J. (2013). Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. **Journal of Plant Growth Regulation**, 32(1), 122-130.
- Kim, K. -, & Song, H. -. (2010). Plant growth promotion by isolated strain of *Bacillus subtilis* for revegetation of barren lakeside area. *Korean Journal of Microbiology*, 46(1), 33-37.
- Lamsal, K., Kim, S. W., Kim, Y. S., & Lee, Y. S. (2012). Application of rhizobacteria for plant growth promotion effect and biocontrol of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* on pepper. **Mycobiology**, 40(4), 244-251.
- Leite, H. A. C., Silva, A. B., Gomes, F. P., Gramacho, K. P., Faria, J. C., de Souza, J. T., & Loguercio, L. L. (2012). *Bacillus subtilis* and *Enterobacter cloacae* endophytes from healthy *Theobroma cacao* L. trees can systemically colonize seedlings and promote growth. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 1-13.
- Lobna, M.; Zawam, H. 2010. Efficacy of some Biocontrol Agents on Reproduction and Development of *Meloidogyne incognita* Infecting Tomato. **Journal of American Science** 6(11):495-509
- Meng, Q. X., Jiang, H. H., Hanson, L. E., Hao, J. J. (2012). Characterizing a novel strain of *Bacillus amyloliquefaciens* BAC03 for potential biological control application. **Journal of applied microbiology**, 113(5), 1165-1175.
- Nautiyal, C. S., Srivastava, S., Chauhan, P. S., Seem, K., Mishra, A., & Sopory, S. K. (2013). 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**.
- Ng, L. C., Sariah, M., Sariam, O., Radziah, O., & Abidin, M. Z. (2012). Rice seed bacterization for promoting germination and seedling growth under aerobic cultivation system. **Australian Journal of Crop Science**, 6(1), 170.
- Paz, I.C.; Santin, R.C.; Guimarães, A.M.; Rosa, O.P.; Dias, A.C.; Quecine, M.C.; Azevedo, J.L.; Matsumura, A.T. 2012. Eucalyptus growth promotion by endophytic *Bacillus* spp. **Genetic and Molecular Research** 11(4): 3711-3720.
- Stavropoulou, A. (2011). About the action of metabolites of plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis* on plant salt tolerance (I). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, 44(19), 1867-1882.
- Wang, X., Luo, C., Chen, Z. (2012). Genome sequence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus* sp. strain 916. **Journal of Bacteriology**, 194(19): 5467-5468.

Zhao, Q., Shen, Q., Ran, W., Xiao, T., Xu, D., & Xu, Y. (2011). Inoculation of soil by bacillus subtilis Y-IVI improves plant growth and colonization of the rhizosphere and interior tissues of muskmelon (*Cucumis melo* L.). **Biology and Fertility of Soils**, 47(5): 507-514.