



## INFLUÊNCIA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *Bacillus* SOBRE O CRESCIMENTO DE FEIJÃO COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.)

Wilza Fagundes Cerqueira<sup>1</sup>; Jildemar Santos de Morais<sup>1</sup>; Jean Santana Miranda<sup>1</sup>; Izis Katarina Santana Mello<sup>1</sup>; Adailson Feitoza de Jesus Santos<sup>2\*</sup>;

<sup>1</sup>Graduandos em Engenharia Agrônoma, Universidade do Estado da Bahia, Departamento de Ciências Humanas e Tecnologias – Campus XXII - Euclides da Bahia, BA.

<sup>2</sup>Professor da Universidade do Estado da Bahia, Departamento de Ciências Humanas e Tecnologias – Campus XXII - Euclides da Bahia, BA.

\*Endereço para correspondência: adailsonmicrobiologia@gmail.com

Recebido em: 20/02/2015 – Aprovado em: 10/03/2015 – Publicado em: 30/03/2015

### RESUMO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das principais culturas produzidas no Brasil, sendo seu consumo considerado um fator de segurança alimentar para as populações carentes, sobretudo no semiárido nordestino. Entretanto, sua produção tem sido insuficiente para atender o consumo interno, devido a pouca disponibilidade de nutrientes e o déficit hídrico em alguns solos dessa região. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de plantas de feijão inoculadas com diferentes estirpes de *Bacillus*. Os isolados foram testados quanto a sua capacidade em produzir fatores de crescimento vegetal *in vitro*, AIA, ARA, ACC Deaminase, solubilização de fosfato, produção de EPS, e inoculados em sementes de feijão comum para avaliar seu desempenho em promover crescimento vegetal. Foram avaliados os seguintes parâmetros: comprimento da parte aérea e da raiz, número de folhas, número de vargens, número de sementes, massa fresca da parte aérea e da raiz e massa seca da parte aérea e massa seca da raiz. O isolado S3.5 apresentou incremento significativo quando avaliadas: massa fresca da parte aérea, massa fresca da raiz e massa seca da parte aérea. Quanto ao número de sementes todos os tratamentos obtiveram um incremento em relação ao controle. A utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal, que não pertençam ao gênero *Rhizobium*, poderá ser uma alternativa viável para incrementar a produção dessa cultura e ainda possibilitar a utilização de co-inoculação.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Bacillus*, Bactérias, Feijão Comum, Promoção de Crescimento.

## BACTERIA OF THE GENUS *Bacillus* INFLUENCE ON THE COMMON BEAN GROWTH (*Phaseolus vulgaris* L.)

### ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the main crops grown in Brazil, and its consumption is considered a food safety factor for poor people, especially in semi-arid northeast. However, its production has been insufficient to meet internal demand, due among other factors, the limited availability of nutrients and water deficit in some soils of this region. The aim of this study was to evaluate the development of bean plants inoculated with different strains of *Bacillus*. The isolates were tested for their ability to produce in vitro plant growth factors, AIA, ARA, ACC Deaminase, phosphate solubilization, EPS production, and inoculated in common bean seeds to evaluate their performance in promoting plant growth. The following parameters were evaluated: length of shoot and root, leaf number, number of string beans, number of seeds, fresh weight of shoot and root and dry weight of shoot and root dry mass. The isolated S3.5 presented a significant increase when evaluated, fresh weight of shoots, fresh root mass and dry mass of shoots. As for the number of seeds all treatments had increased compared to the control. The use of plant growth promoting bacteria, which do not belong to the genus *Rhizobium*, may be a viable alternative to increase the production of this crop and still allow the use of co-inoculation.

**KEYWORDS** : *Bacillus*, Bacteria, Common Bean, Growth Promotion.

### INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de feijão, apresentando uma produção de 3,7 milhões de toneladas em uma área de 3,3 milhões de hectares (IBGE, 2014). O consumo alimentar de feijão dos brasileiros combina a tradicional dieta à base de feijão com arroz (IBGE, 2010). Seu teor de proteínas varia entre 15% a 33%, sendo que a maioria das culturas nacionais apresentam apenas aproximadamente 20% a 25% desse nutriente (FANCELLI, 1990).

Segundo YOKOYAMA (2003), o plantio de feijão é estendido a vários estados Brasileiros, no sistema solteiro ou consorciado com outras culturas. Entretanto, a produtividade média nacional de feijão é baixa e um dos fatores que afetam esta produção é a pouca disponibilidade de nutrientes, sobretudo fósforo e nitrogênio, nos solos agrícolas (LAZZARETTI & MELO, 2005). O feijoeiro também é considerado uma espécie com pouca tolerância a déficit hídrico, sendo que 60% da produção mundial está submetida a este fator, tornando a seca o segundo fator que mais limita a produção dessa cultura, que é superada somente pela susceptibilidade às doenças (WHITE, 1993 ; BEEBE et al., 2008).

Um dos métodos que é utilizado para viabilizar o aumento da produtividade agrícola no Brasil é o uso de fertilizantes químicos, que por sua vez causam prejuízos aos ecossistemas naturais e danos diretos à saúde humana (ANACKER et al., 2012). Na cultura do feijoeiro em especial, o consumo de agrotóxicos, embora não seja tão expressivo quanto em culturas como a soja e o tomate, alcança valores elevados (JÚNIOR & ROMEIRO, 2007). Nas últimas décadas, enormes esforços tem sido feitos na tentativa de se utilizar métodos alternativos, visando à redução do uso de controles químicos tradicionais e de fertilizantes químicos, como a utilização de agentes biológicos (CAMPANHOLA & BETTIOL, 2003; LIMA, 2010).

A ação dos micro-organismos sobre as plantas é ampla, incluindo os efeitos benéficos na germinação, emergência de plântulas, crescimento, produtividade de grãos e estresses abióticos (LIMA, 2010). As bactérias, consideradas como promotoras do crescimento de plantas (BPCPs) (KLOEPPER et al., 1989) podem atuar, indiretamente, através da 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 da permeabilidade das raízes e produção de sideróforos (MARIANO & KLOEPPER, 2000).

A inoculação destas bactérias no solo pode trazer benefícios diretos às culturas, podendo representar uma medida alternativa de cultivo com redução da utilização de insumos agrícolas (LAVIE & STOTZKY.,1986; ICHIWAKI., 2012). Além dos benefícios econômicos com a redução nos custos de produção, a redução nas aplicações de fertilizantes leva a uma melhoria da qualidade ambiental - com menor quantidade de contaminações das águas superficiais e subterrâneas - e à sustentabilidade dos agroecossistemas (OLIVEIRA et al., 2012).

As bactérias do gênero *Bacillus* estão entre as mais abundantes na rizosfera, sua atividade como promotora de crescimento vegetal e os mecanismos desenvolvidos por elas, vêm sendo estudadas a muito tempo (SAHARAN, 2011). A utilização de bactérias promotoras do crescimento vegetal que não pertençam ao gênero *Rhizobium*, poderá ser uma alternativa viável para incrementar a produção dessa cultura. O objetivo desse estudo foi caracterizar cepas do gênero *Bacillus* isoladas de plantas de sisal quanto ao seu potencial em promover crescimento vegetal *in vitro* e avaliar o desenvolvimento de plantas de feijão inoculadas com estas estirpes.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do Semiárido - LAMSA, no Departamento de Ciências Humanas e Tecnologias- DCHT- XXII- UNEB. Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas as estirpes bacterianas do gênero *Bacillus* (S3.5, Fo1.1, Fo1.7, Fo5.7), previamente identificadas molecularmente e pertencentes a coleção de cultura de bactérias isoladas da região semiárida da Bahia em associação com plantas de sisal, cedidas pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

### Promoção de crescimento *in vitro*

As bactérias foram ativadas em meio de cultura TSA (15 g de Triptone, 5 g de Peptone, 5 g NaCl, 15 g de Agar e 1000 mL de água destilada) e incubadas por 24 horas à 28±2° C.

### Produção de ácido indol acético (AIA)

Para determinação dos isolados capazes de produzir AIA, foi utilizado o método colorimétrico proposto por GORDON & WEBER (1951). Tubos de ensaio contendo 5 mL de meio Dyg's suplementados com 5 mM de L-Triptofano, foram inoculados com 10 µL de inóculo bacteriano ( $OD_{600nm} = 0,5$ ) a 30° C sob agitação constante (180 rpm), em triplicata. Após 72 horas de cultivo, foram retirados 500 µL da suspensão e centrifugados a 10000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, e adicionado 500 µL de solução de Salkowisk (2%

de  $\text{FeCl}_3$  0,5M em 35% de ácido perclórico). Esta mistura foi mantida no escuro e em temperatura ambiente por 30 minutos (HARTMANN et al., 1983). Em seguida foi feita a leitura para a produção de AIA em espectrofotômetro a  $\text{OD}_{535\text{nm}}$ , a mudança da coloração para rosa, indica a produção de AIA. A concentração da produção de AIA foi determinada utilizando uma curva padrão preparada com meio de cultura esterilizado não inoculado e quantidades conhecidas de ácido indol acético de 0, 1, 5, 10, 15 e 20  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de acordo com a equação  $y = 0,1167x + 0,1809$  ( $R^2 = 0,9806$ ).

### **Ensaio de Redução de acetileno (ARA)**

O ensaio de redução de acetileno foi realizado como descrito por THULER et al., (2003). Cada isolado bacteriano foi inoculada em 4 mL de meio Burk's semi-sólido livre de nitrogênio, em frascos de 10 mL de vidro, tipo penicilina. Todos os isolados foram inoculados em triplicata e foram incubadas a 30° C por 72 h. Após o crescimento bacteriano 0,6 mL da fase de ar foi substituído com o acetileno, as culturas foram incubadas em triplicata, em seguida um mL da fase de ar do frasco foram amostrados para determinar a quantidade de etileno, por um período de uma hora. Foi utilizado cromatografia em fase gasosa (Shimadzu GC-14A) com um Porapak-N 80/100 para determinação do acetileno.

### **Solubilização de fosfato inorgânico (IS)**

Os isolados foram testados quanto à sua capacidade de solubilizar fosfato inorgânico. O inóculo bacteriano de 5  $\mu\text{L}$  de  $10^9$  células  $\text{mL}^{-1}$  ( $\text{DO}_{600\text{nm}} = 0,2$ ) de cada isolado foi inoculada em meio de cultura GL (10 g de glucose, 2 g de extrato de levedura e 15 g de ágar) (SYLVESTER-BRADLEY et al. 1982). Duas soluções, a primeira contendo 0,57 M de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  e a segunda, contendo 0,90 M de  $\text{CaCl}_2$  foram adicionados a este meio de cultura e o pH foi ajustado para 6,5, a fim de formar fosfato de cálcio precipitado (HARA & OLIVEIRA, 2004). As placas foram incubadas a 30° C durante 10 dias. Um halo claro ao redor da colônia das bactérias foi considerado positivo para a solubilização do fosfato.

### **ACC Deaminase**

Atividade de ACC-desaminase foi determinada como descrito por GLICK et al., (1995). Um inóculo bacteriano de 5  $\mu\text{L}$   $10^9$  células  $\text{mL}^{-1}$  ( $\text{DO}_{600\text{nm}} = 0,2$ ) de cada isolado foi inoculada em meio de cultura contendo 0,25 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,05 g de  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,025 g  $\text{SO}_4\text{Fe}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,25 g de  $\text{CaCO}_3$ ; NaCl 0,05 0,0012  $\text{NaMoO}_4$  0,2  $\text{H}_2\text{O}$ , 2,5 g de glicose; 3,75 g de agar; de 240 mL de água destilada, e 0,03% de ACC como única fonte de nitrogênio. As placas foram incubadas a 30° C durante quatro dias. As colônias que cresceram foram repicadas em meio fresco contendo ACC e incubados sob as mesmas condições para confirmar o crescimento. O desenvolvimento de colônias bacterianas indica que as bactérias produzem a enzima ACC deaminase.

### **Produção de exopolissacarídeos (EPS)**

A capacidade de produzir EPS foi determinada de acordo com PAULO et al., (2012). Inóculo bacteriano  $10^9$  células  $\text{mL}^{-1}$  (5  $\mu\text{L}$  a  $\text{DO}_{600\text{nm}} = 0,2$ ) foi inoculada em discos de papel de filtro esterilizados de 5 mm  $\varnothing$  colocados sobre a superfície do meio de cultura modificado por GUIMARÃES et al., (1999) (2% de extrato de levedura, 1,5 % de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,02% de  $\text{MgSO}_4$ , 0,0015% de  $\text{MnSO}_4$ , 0,0015% de  $\text{FeSO}_4$ , 0,003% de  $\text{CaCl}_2$ , 0,0015% de NaCl, 1,5% de agar e 10% de sacarose),

com o pH ajustado para 7,5. As culturas foram incubadas a 30°C durante 48 h, e a produção de EPS foi observado com base na formação de uma camada mucóide ao redor dos discos de papel de filtro inoculados com as bactérias. Esta camada mucóide foi removida com uma alça de platina e misturada em dois mL de etanol absoluto. A formação de um precipitado confirma a presença de EPS (PAULO et al., 2012).

### **Promoção de crescimento *in vivo***

As bactérias foram ativadas e após o crescimento, os isolados foram repicados para placas de Petri contendo meio TSA e incubados à  $28 \pm 2^\circ$  C por 48 horas. Para produção do inóculo foi feita uma suspensão bacteriana e ajustada a densidade ótica para 0,2 ( $OD_{600nm}$ ) ( $10^9$  UFC. mL<sup>-1</sup>). Em seguida, foi realizada desinfestação superficial das sementes de feijão (2' álcool 70%; 2' hipoclorito de sódio e três lavagens sucessivas com água destilada estéril).

As sementes foram microbiolizadas com as suspensões bacterianas (S3.5, Fo1.1, Fo1.7 e Fo5.7 ) durante duas horas. A testemunha absoluta consistiu da imersão das sementes em água estéril. Em seguida foram plantadas cinco sementes por vaso contendo dois kg de solo, utilizando 12 repetições por tratamento em delineamento inteiramente casualizado. A umidade do solo foi mantida através de regas diárias durante todo o experimento. A taxa de germinação foi determinada através de avaliações durante seis dias. Após a germinação das sementes foi realizado o desbaste, mantendo-se apenas uma planta por vaso.

As plantas foram mantidas em condições de campo durante 75 dias, e posteriormente realizadas as avaliações, onde foram determinadas a massa fresca da raiz e da parte aérea, comprimento da raiz e parte aérea, número de folhas, vargens e sementes, em seguida as plântulas foram levadas para estufa onde permaneceram por 48h a 50° C, até atingir massa seca constante, para determinação da massa seca da raiz e parte aérea. A análise estatística foi feita utilizando o teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os isolados testados apresentaram algumas das características relacionadas com a promoção de crescimento vegetal *in vitro*. Isolados pertencentes a este gênero são capazes de produzir AIA, ACC- deaminase, EPS, além da capacidade de solubilizar fosfato inorgânico, e a de redução de acetileno, características que podem afetar significativamente a fisiologia da planta, uma vez que podem promover o crescimento vegetal, direta ou indiretamente, podendo ainda conferir tolerância a condições de seca como, o déficit hídrico, altas temperaturas e estresse salino, condições características da região semiárida (KLOPPER, 1993; NEHL et al., 1996; WHIPPS, 2001).

Os isolados testados foram positivos para produção de AIA, ARA e EPS. Apenas o isolado FO1.1 não foi capaz de produzir ACC Deaminase. Já em relação a solubilização de fosfato inorgânico, nenhum dos isolados produziu este composto (Tabela 01). É importante selecionar isolados com diferentes características de promoção de crescimento vegetal, uma vez que a associação de diferentes características pode possibilitar maior incremento no desenvolvimento das plantas, devido aos distintos mecanismos responsáveis pela alteração na planta.

**TABELA 1:** Características de promoção de crescimento, *in vitro*, por isolados de *Bacillus*

Isolados	AIA ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	ARA	ACCDeaminase	(SF)	EPS
S3.5	0,83 a	+	+	-	+
Fo1.1	1,60 b	+	-	-	+
Fo1.7	0,67 a	+	+	-	+
Fo5.7	0,58a	+	+	-	+

Ácido indol acético (AIA), Atividade de redução de acetileno (ARA), Solubilização de fosfato inorgânico (SF), Exopolissacarídeo (EPS). Letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

O ácido indol acético é considerado o fitohormônio mais importante entre as auxinas (MARCHIORO, 2005). Segundo YANG et al., (2009), ele funciona dentro das células dos vegetais, como uma importante molécula sinal, responsável, pela expansão das células, divisão e diferenciação, e regulação de genes, melhorando a arquitetura da raiz, estimulando o crescimento radicular e o número de pelos radiculares, conferindo a planta, melhor capacidade de absorção de nutrientes e água do solo. Embora, os isolados testados sejam positivos para produção de AIA, não foi verificado incremento para comprimento e massa seca da raiz neste trabalho (Tabela 02). SAHARAN (2011) verificou que espécies de *Bacillus* contribuem para melhoria de diferentes parâmetros de raiz (enraizamento, comprimento de raízes e teor de matéria seca), sendo que a inoculação com isolados produtores de AIA, aumentou a absorção de N, P, K, Ca e Mg, promovendo o crescimento de batata doce, e o enraizamento e matéria seca de mudas de eucalipto.

**TABELA 2:** Efeito do tratamento de sementes de feijão com bactérias promotoras de crescimento vegetal.

TRATAMENTOS	MFPA	MFR	CPA	CR	MSPA	MSR	NF	NV	NS
T0- CONT	12. a	2.7 a	26.3 a	41.3 a	4.0 a	0.9 a	7.6 a	1.9 a	5.2 a
T1- S3.5	23.1 b	4.5 b	33.3 a	40.3 a	6.7 b	1.3 a	11.0 a	3.8 a	11.7 b
T2 - Fo1.1	16.7 a	2.9 a	28.2 a	42.1 a	5.4 a	0.9 a	7.4 a	3.3 a	12.0 b
T3 - Fo1.7	15.9 a	2.7 a	31.3 a	33.3 a	5.1 a	0.9 a	9.2 a	2.8 a	8.3 b
T4- Fo5.7	14.7 a	1.5 a	30.6 a	40.3 a	4.6 a	0.6 a	7.7 a	3.0 a	9.8 b

Massa fresca da parte aérea (MFPA), Massa fresca da raiz (MFR), Comprimento da parte aérea (CPA), Comprimento da raiz (CR), Massa seca da parte aérea (MSPA), Massa seca da raiz (MSR), Número de folhas (NF), Número de vargens (NV) e Número de sementes (NS). Letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

O nitrogênio é um elemento requerido em grandes quantidades pelas plantas, sendo fundamental para a síntese de proteínas e ácidos nucleicos (TOSTA, 2009). A sua deficiência inibe rapidamente o crescimento do vegetal, além de causar sintomas de clorose e queda das folhas (MENDES, 2007). Grupos de bactérias têm sido estudados quanto a sua capacidade de fixação de nitrogênio, sendo o grupo dos rizóbios, o mais estudado. Estes colonizam as raízes de leguminosas, tais como, feijão, grão de bico, soja e amendoim, sendo caracterizados por formar nódulos, numa interação simbiótica entre micro-organismo – planta (COSTA, 2011). A fixação biológica de nitrogênio (FBN) não simbiótica é de grande valor econômico, sendo já encontrados na literatura

bactérias diazotróficas com tal potencial, dentre elas isolados pertencentes ao gênero *Bacillus* (DALLA SANTA et al., 2004). A aplicação da FBN, pode promover redução na utilização de combustíveis fósseis, diminuindo a emissão de gases poluentes na atmosfera, além de reduzir o custo de produção (SANTOS & EPOSITO, 2014). O fato de todos os isolados testados apresentarem atividade de redução de acetileno (ARA) é um forte indicativo para fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento vegetal, uma vez que esta detecta a atividade da enzima nitrogenase, o que evidencia a possibilidade de inoculação destas cepas como fertilizantes biológicos em substituição aos fertilizantes químicos industriais.

Em condições de estresse, principalmente em condições desfavoráveis no ambiente: secas, salinidade, fitopatógenos, a planta é estimulada a produzir grandes quantidades de etileno, porém o excesso deste pode ocasionar inibição do crescimento ou ainda resultar na morte da planta (BARBOSA, 2010). No entanto, a inoculação de culturas com bactérias promotoras do crescimento vegetal, que produzem a ACC-deaminase, reduzem os efeitos deletérios desse hormônio, uma vez que o precursor do etileno é degradado pela ação desta enzima, permitindo o crescimento normal da planta (YANG et al., 2009; SAHARAN, 2011). A produção de ACC-deaminase observada nos isolados (Tabela 01) pode auxiliar a sobrevivência das plantas, tornando-as menos susceptíveis a estresses bióticos e abióticos, podendo ser aplicada para melhorar a produtividade, sobretudo em áreas limitadas de produção, como as existentes no semiárido.

Os exopolissacarídeos (EPS) são polissacarídeos extracelulares, produzidos por micro-organismos, como fungos e bactérias, podendo ser encontrados, aderido às superfícies celulares ou externamente, excretado no meio (SEESURIYACHAN et al., 2012). A produção de (EPS) pela interação micro-organismo - planta, pode formar um biofilme, que limita a difusão de compostos secretados pelas raízes e também pelas bactérias, o que possibilita uma melhor aderência e colonização às superfícies nos quais os nutrientes se acumulam, além de contribuir na fixação de nutrientes e minerais, retenção de água e proteção a planta contra estresses ambientais, tais como, dessecação, salinidade e variação de temperatura (BARRETO et al., 2011; LIU et al., 2013; SANTOS & ESPOSITO, 2014). De acordo com SILVA et al., (2013), a exploração desses micro-organismos e a produção de compostos de interesse econômico, ajudará na aplicação da biotecnologia na agricultura.

O fósforo assim como o nitrogênio é um macronutriente exigido em grandes quantidades pelas plantas (SANTOS, 2013). A carência desse elemento pode limitar a produção agrícola, uma vez que é constituinte essencial de biomoléculas, como ácidos nucléicos e coenzimas (SANTOS, 2013). Esse nutriente pode ser disponibilizado à planta, através de micro-organismos solubilizadores de fosfato (SAHARAN, 2011). O fato dos isolados testados não serem positivos pra solubilização de fosfato inorgânico (Tabela 01), pode ter sido um fator limitante para o incremento na produção de feijão (Tabela 02), uma vez, que o fósforo é o nutriente mais exigido por essa cultura. Segundo SAHARAN (2011), espécies de *Bacillus* quando inoculados em solos com poucas disponibilidades de minerais, aumentam a absorção de nutrientes fosfatados em plantas de pimenta e pepino, sugerindo o uso de inoculantes como fertilizantes naturais.

A inoculação de *Bacillus* na cultura de melão apresentou diferença significativa quando analisados os graus brix, consistência, produção de biomassa, aumento do número de flores e frutificação, favorecendo o crescimento de várias partes da planta, tais como caule e área foliar (CASTILLO et al., 2013). Nesse trabalho, foi observado destaque quando avaliou-se número de sementes, onde todos os tratamentos inoculados com *Bacillus* apresentaram diferença estatística em relação ao controle (Tabela 02).

O fato de apenas o isolado S3.5 ter apresentado incremento significativo quando avaliadas, massa fresca da parte aérea, massa fresca da raiz e massa seca da parte aérea (Tabela 02), pode estar relacionado com o fato deste ter sido isolado da região rizosférica de sisal e os demais terem sido isolados endofiticamente das folhas. A habilidade destes micro-organismos em colonizar o sistema radicular é essencial para que sejam consideradas promotoras de crescimento vegetal (MAFIA et al., 2009). Desta forma este isolado além de apresentar as características promotoras de crescimento *in vitro*, pode ter colonizado o sistema radicular do feijão favorecendo o crescimento da planta.

Embora, o conhecimento e aplicação de *Rhizobium* na cultura de leguminosas favorecendo o seu crescimento, esteja já consolidado, a associação de outras bactérias, como *Bacillus-Rhizobium* (KARANJA et al., 2007), podem assegurar um maior rendimento para estas culturas, abrindo caminho para desenvolvimento de novos inoculantes.

### CONCLUSÃO

- As cepas de *Bacillus* isolados de sisal cultivado no semiárido da Bahia, apresentaram características de crescimento *in vitro*.

- O isolado S3.5 foi o que obteve melhores resultados, incrementando significativamente, número de sementes, massa fresca da parte aérea e da raiz e massa seca da parte aérea.

- Todos os isolados promoveram incremento quanto ao número de sementes.

- Nenhum dos isolados contribuiu para o aumento do comprimento da parte aérea, comprimento da raiz, número de folhas, número de vargens e massa seca da raiz.

### AGRADECIMENTOS

Ao Centro Vocacional Tecnológico em Tecnologias Sociais do Semiárido do Instituto Federal de Ciência, Educação e Tecnologia – IFBaiano/Senhor do Bonfim, ao Centro Vocacional Tecnológico em Agroecologia e Produção Orgânica – IFPiauí e a Universidade do Estado da Bahia – UNEB, pela concessão de bolsas e apoio ao desenvolvimento do trabalho.

### REFERÊNCIAS

ANACKER, L. F.; CORRÊA, B. O.; NUNES, R. B.; MOURA, A. B. **Promoção do crescimento de plantas de feijão pela associação de rizóbios e rizobactérias biocontroladora**. XIV ENPOS, Universidade Federal de Pelotas, 2012.

BARBOSA R. R. **Participação das vias de produção e percepção do hormônio etileno durante a interação entre *Gluconacetobacter***



***diazotrophicus* e plantas de Cana-de-Açúcar e Arabidopsis thaliana.** Campos dos Goytacazes-RJ, 2010.

BARRETO, M. C. S.; FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; SILVA, M. L. R. B.; LIMA-FILHO, J. L. Produção e comportamento reológico de biopolímeros produzidos por rizóbios e caracterização genética. **Revista Brasileira Agrociência**, v.17, n.2-4, p.221-227, 2011.

BEEBE, S. E.; IDUPULAPATI, R. A. O.; MATTHEW, W. B.; BUTARE, L. Selection for drought resistance in common bean also improves yield in phosphorus limited and favorable environments. **Crop Science, Madison**, v. 48, n. 2, p. 582-592, 2008.

CAMPANHOLA, C. & BETTIOL, W.(eds.) **Métodos alternativos de controle fitossanitário**, Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p.79-96,2003.

CASTILLO H. F.D., REYES C. F., MORALES G. G., HERRERA R R., AGUILAR C. **Biological Control of Root Pathogens by Plant-Growth Promoting *Bacillus* spp.** **Weed and Pest Control - Conventional and New Challenges**, 2013.

COSTA F. M. **Caracterização morfofisiológica e genética de bactérias isoladas de nódulos de guandu [(*Cajanus cajan* (L.) mil sp.)], cultivado na borda oeste do pantanal sul - mato - grossense.** Mato Grosso do Sul, 2011

DALLA SANTA, O.R.; HERNÁNDEZ, R.F.; ALVAREZ, G.L.M.; RONZELLI JUNIOR, P. & SOCCOL, C.R. *Azospirillum* sp. inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 2004.

FANCELLI, A. L. **Fenologia e exigências climáticas do feijoeiro.** In: FANCELLI, A. L. (Coord.). Feijão irrigado. Piracicaba: ESALQ-FEALQ, 1990. p.7-24.

GLICK, B. R.; KARATUROVIC, D. M.; NEWELL, P. C. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *Pseudomonas*. **Can J Microbiol** 41:533–536, 1995.

GORDON, S. A.; WEBER, R. P. **Colorimetric estimation of indol acetic acid.** **Plant Physiol.** 26:192-195, 1951.

GUIMARÃES, D. P.; COSTA, F.; RODRIGUES, M. J.; MAUGERI, F. Optimization of dextran synthesis and acid hydrolis by surface response analysis. **Braz. J. Chem. Eng.** 16:129-139, 1999.

HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, L. A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas. **Pesqui Agropecu Bras** 40:667-672, 2004.

HARTMANN, A.; SING, M.; KLINGMULLER, W. **Isolation and characterization of *Azospirillum mutants* excreting high amounts of indol acetic acid.** **Can. J. Microbiol.** 29:916-923, 1983.

IBGE. **Levantamento da produção de feijão safra**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) 2014. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/>> Acesso em: 20 de janeiro de 2015.

IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008/2009 – Despesas, Rendimentos e Condições de Vida**. Rio de Janeiro , 2010.

ICHIWAKI, S. **Efeitos da inoculação de *Enterobacter sp.* ICB481 sobre o crescimento e acúmulo de proteico em plântulas de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*) submetidas a fertilização orgânica e convencional**. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

JÚNIOR, J. R. V.; ROMEIRO, R. S. **Resistencia sistêmica induzida em feijoeiro como mediada por *Bacillus cereus*, uma bactéria residente de filo plano da cultura**. Indução de resistência em plantas a patógenos, cap. 5. Viçosa- MG, 2007.

KARANJA, N. K.; MUTUA, G. K.; KIMENJU, J. W. **Evaluating the effect of *Bacillus* and *Rhizobium* bi-inoculant on nodulation and nematode control in *Phaseolus vulgaris* L.** Advances in Integrated Soil Fertility Management in sub-Saharan Africa: Challenges and Opportunities. Springer Netherlands, p.865-872. 2007.

KLOEPPER, J. W. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In: Soil Microbial Ecology, Applications in Agricultural and Environmental Management. **New York: Ed. FBJ meeting**, 1993. p. 255-274.

KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacteria inocula for enhancing crop productivity. Trends in Biotechnology, **Amsterdam**, v. 7, n. 1, p. 39-43, 1989.

LAVIE, S.; STOTZKY, G. Interactions between clay minerals and siderophores affect the respiration of *Histoplasma capsulatum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 51, p. 74-79, 1986.

LAZZARETTI, E. ; MELO I. S. **Influência de *Bacillus subtilis* na Promoção de Crescimento de Plantas e Nodulação de Raízes de Feijoeiro**. EMBRAPA, Jaguariúna, SP 2005.

LIMA, F. F. ***Bacillus subtilis* e níveis de nitrogênio sobre o desenvolvimento e a produtividade do milho**, UFPI, Teresina - PI, 2010.

LIU, S.; CHEN, X.; HE, H.; ZHANG, X.; XIE, B.; YU, Y.; CHEN, B.; ZHOU, B.; ZHANG, Y. Structure and ecological roles of a novel exopolysaccharide from the arctic sea ice bacterium *Pseudolateromonas sp.* Strain SM20310. **Appl. Environ. Microbiol.**v.1. p.224. 2013.

MAFIA, R. G.; ALFENA, A. C.; FERREIRA, E. M.; BINOTI, D. H. B.; MAFIA, G. M. V.; MOUNTEER, A. H. Root colonization and interaction among growth promoting rhizobacteria isolates and eucalypts species. **Rev. Árvore** v. 33, n.1, p. 1-9. 2009.

MARCHIORO, L. E. T. **Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio**. Curitiba, 2005.

MARIANO, R. L. R.; KLOEPPER, J. W. Método alternativo de biocontrole: resistência sistêmica induzida por rizobactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, n. 8, p. 121-137, 2000.

MENDES A. M. S. **Introdução a fertilidade do solo**, UFBA, Barreiras-BA, 2007.

NEHL, D.B.; BROWN, J.F. Deleterius rhizosphere bacteria: an integrating perspective. **Applied Soil Ecology**, v. 5, p. 1-20, 1996.

OLIVEIRA A. M. R.; BANGEL E. V.; HUNGRIAI M.; SILVEIRA J. R. P.; VARGAS L. K. LISBOA B. B. Caracterização da região espaçadora 16-23S rDNA para diferenciação de estirpes de rizóbios utilizadas na produção de inoculantes comerciais no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.8, 2012.

PAULO, E. M.; VASCONCELOS, M. P.; OLIVEIRA, I. S.; AFFE, H. M. J.; NASCIMENTO, R.; MELO, I. S.; ROQUE, M. R. A.; ASSIS, S. A. An alternative method for screening lactic acid bacteria for the production of exopolysaccharides with rapid confirmation. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 32:710-714, 2012.

SAHARAN, B. S. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. **Life Sciences and Medicine Research**, 2011.

SANTOS, A. F. J.; ESPOSITO E. **Interação entre micro-organismos x biotecnologia sócio-ambiental**. In.: Políticas públicas: estudos e casos. Org. CIANCIARULLO, T. I.; PANHOCA, I.; BONINI, L. M. M. 1 ed. – São Paulo: Ícone. 680 p., 2014.

SANTOS, M. P. Fixação de N<sub>2</sub>, **Solubilização de Fosfato e Produção de AIA por Estirpes de *Bradyrhizobium* Simbióticas em Angico Vermelho e Tamboril**. UFLA. Lavras, 2013 .

SEESURIYACHAN, P.; KUNTIYA, A.; HANMOUNGJAI, P.; TECHAPUN, C.; CHAIYASO, T.; LEKSAWASDI, N. Optimization of Exopolysaccharide Overproduction by *Lactobacillus confuses* in solid State Fermentation under High Salinity Stress. **Biosci. Biotechol. Biochem.** v.76, n.5, p. 912-917, 2012.

SILVA, S.; BARGHINI, P.; AQUILANTI, A.; JUAREZ-JIMENEZ, B.; FENICE, M. Physiologic and metabolic characterization of a new marine isolate (BM39) of *Pantoea* sp. producing high levels of exopolysaccharide. **Microbial Cell Factories**, 2013.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. N.; OLIVEIRA, L.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de

microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazônica** 12:15-22, 1982.

THULER, D. S.; FLOH, E. I. S.; HANDRO, W.; BARBOSA, H. R. *Beijerinckia dextrii* releases plant growth regulators and amino acids in synthetic media independent of nitrogenase activity. **J App Microbiol.** 95: 799-806, 2003.

TOSTA, M. S. **Adubação nitrogenada na produção e na qualidade de frutos de maracujazeiro 'amarelo'**. Mossoró- RN, 2009.

WHIPPS, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.

WHITE, J. W. **Implications of carbon isotope discrimination studies for breeding common bean under water deficits.** In: EHLRINGER, J. R.; HALL, A. E.; FARQUHAR, G. D.; SAUGIE, B. (Ed.). Stable isotopes and plant carbon-water relations. San Diego: Academic Press, 1993.

YANG J. , KLOEPPER J. W., RYU C. M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science** Vol.14 No.1, 2009.

YOKOYAMA L. P. **Cultivo do feijoeiro comum-Importância econômica.** EMBRAPA, Embrapa Arroz e Feijão Sistemas de Produção, versão eletrônica, 2003.