



Efeito de bactérias promotoras de crescimento na alface crespa cultivar Veneranda

Effect of growth-promoting bacteria on curly lettuce cultivar Veneranda

Leiliane Pinheiro Venceslau¹; Esmeralda Aparecida Porto Lopes²; João Pedro Ferreira Barbosa³; Noêmia Cristina Gama dos Santos Cardozo⁴; Renato de Almeida Silva⁵.

- (1) Pós-Graduanda do curso *Lato Sensu* em Tecnologias e Inovações em Sistemas Socioambientais / Universidade Estadual de Alagoas, Campus I Arapiraca, E-mail: leiliane-19@hotmail.com,
- (2) Professora Adjunta da Universidade Estadual de Alagoas, Campus I Arapiraca
E-mail: esmeralda.porto@uneal.edu.br
- (3) Mestrando do curso de Pós-Graduação *stricto sensu* em Agronomia (Produção Vegetal),
Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Rio Largo,
E-mail: barbosapedro112@gmail.com
- (4) Graduanda do curso de Ciências Biológicas /Bolsista PIBIC, Universidade Estadual de Alagoas,
Campus I Arapiraca. E-mail: noemia_cristina_@hotmail.com
- (5) Doutorando do curso de Pós-Graduação *stricto sensu* em Proteção de Plantas/ Universidade
Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Rio Largo,
E-mail: renatoalmeidabio@gmail.com

E-mail do autor correspondente: E-mail: leiliane-19@hotmail.com

Resumo - Diversos grupos de bactérias são capazes de se associar com plantas, sendo essas interações patogênicas ou prejudiciais ao tecido vegetal, ou interações benéficas que se baseiam na troca de favores entre bactéria e planta. Entre as associações benéficas destacam-se as bactérias associativas, capazes de associar às plantas de diferentes formas e com isso, estimular o desenvolvimento vegetal. As bactérias diazotróficas além de fixar nitrogênio atmosférico, produzem fitohormônios que contribuem para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Contudo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta da alface crespa quanto a eficácia das bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCP). O experimento foi instalado em casa de vegetação no Polo Tecnológico Agroalimentar, município de Arapiraca/AL. A cultivar da alface crespa (*Lactuca sativa* L.) e as BPCP utilizadas foram Veneranda, *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175) e *Glucanoacetobacter diazotrophicus* (BR 11281), respectivamente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos: alface + solo (TA), alface + substrato (TS), alface + BR 11175 + solo e alface + BR 11175 + BR 11281 + solo, com 3 repetições. As variáveis analisadas no experimento foram: biomassa verde das folhas (BVF), biomassa verde do caule (BVC), biomassa verde da raiz (BVR), biomassa verde total (BVT), altura da planta (AP), comprimento do caule (CC), comprimento da raiz (CR) e número de folhas (NF). Nos resultados constatou-se que as BPCP isolada e em dupla inoculação inibiram a altura da planta, a biomassa verde do caule e a biomassa verde da raiz da alface crespa.

Palavras-chave: BPCP. *Lactuca sativa* L. Inoculação. Biomassa



Abstract - Several groups of bacteria are capable of associate with plants, these interactions can be pathogenic or harmful to plant tissue, or benefits interactions that are based on the exchange of favors between bacteria and plant. Among the beneficial associations, associative bacteria stand out, capable of associating with plants in different ways, stimulating plant development. Diazotrophic bacteria, in addition to fixing atmospheric nitrogen, determine phytohormones that contribute to plant growth and development. However, the aim of this work was to evaluate the response of crisp lettuce regarding the effectiveness of plant growth promoting bacteria (PGPB). The experiment was installed in a greenhouse at the Polo Tecnológico Agroalimentar, municipality of Arapiraca/AL. The crispy lettuce cultivar (*Lactuca sativa* L.) and the PGPB used were Veneranda, *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175) and *Glucanacetobacter diazotrophicus* (BR 11281), respectively. The experimental design was a DIC (completely randomized design) containing four treatments: lettuce + soil (TA), lettuce + substrate (TS), lettuce + BR 11175 + soil and lettuce + BR 11175 + BR 11281 + soil, with 3 replications. The variables analyzed in the experiment were: green leaf biomass (GLB), green stem biomass (GSB), green root biomass (GRB), plant height (PH), root length (RL) and number of leaves (NL). The results showed that PGPB alone and in double inoculation inhibited plant height, green stem biomass and green root biomass of crisp lettuce.

Keywords: PGPB. *Lactuca sativa* L. Inoculation. Biomass

Introdução

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta pertencente à família Asteraceae e amplamente cultivada em diversos países por ser uma das folhosas mais consumidas no mundo. No Brasil, é considerada a hortaliça folhosa mais importante na alimentação, o que assegura seu expressivo potencial econômico. É cultivada geralmente em condições de agricultura familiar, de maneira intensiva, em pequenas propriedades situadas em áreas periurbanas ou nos cinturões verdes dos grandes centros urbanos (COSTA & SALA, 2005).

De acordo com Filgueira (2008), a alface pode ser cultivada durante todo o ano, floresce em dias longos, preferivelmente, em altas temperaturas, mas vegeta, principalmente, em condições de dias curtos e temperaturas mais baixas. Só no território Alagoano, são 700 estabelecimentos agropecuários que cultivam esta planta, sendo 33,4% concentrados na microrregião de Arapiraca (IBGE, 2017).

Nos últimos anos, o cultivo orgânico de hortaliças tem crescido gradualmente, tendo em vista o aumento significativo de concessão de selos de certificadoras ano após ano em Alagoas. A alface orgânica tem se destacado principalmente, no Agreste, sendo a comercialização realizada em supermercados, lojas de produtos naturais e feiras agroecológicas.

Uma das tecnologias alternativas para melhorar o desenvolvimento de plantas é a inoculação de microrganismos benéficos que, isolados ou combinados, exercem funções importantes para a sobrevivência, crescimento e desenvolvimento vegetal, impactando a produção agrícola. As principais bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) usadas na agricultura incluem principalmente, as estirpes dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Acetobacter*, *Herbaspirillum*, *Agrobacterium radiobacter* e *Enterobacter cloacae*, entre outras (MARIANO et al., 2004) que podem ser isoladas de diversos ambientes (CHANWAY et al., 2014) possuindo a capacidade de colonizar a superfície de raízes, a rizosfera e a filosfera, bem como os tecidos vegetais internos (KLOEPPER et al., 1989; FIGUEIREDO et al., 2010), modulando o metabolismo da planta e estimulando seu crescimento e produtividade por mecanismos diretos e/ou indiretos.



A ação direta envolve a produção de compostos fitoestimuladores pelas bactérias e/ou sua atuação em alguns processos que resultam no aumento da disponibilidade de certos nutrientes. O efeito direto envolve a fixação de N_2 (BODDEY & DOBEREINER, 1995), produção de fitohormônios (PÉREZ-GARCÍA; ROMERO; VICENTE, 2011) e solubilização de fosfatos (KUMAR & DUBEY, 2012).

Os mecanismos indiretos são relacionados à proteção da planta a microrganismos patogênicos (SHANAHAN et al., 1992). Os gêneros *Herbaspirillum* e *Gluconoactobacter* são bactérias diazotróficas endofíticas, aeróbias, gram negativas, fixadoras de nitrogênio e promotoras de crescimento vegetal. A estirpe *H. seropedicae* foi isolada das raízes de milho, arroz, sorgo, cana-de-açúcar e ainda de espécies frutíferas como a bananeira e abacaxizeiro (BALDANI et al., 1986). Tem a capacidade de colonizar os tecidos internos das plantas sem causar prejuízos à planta hospedeira (BALDANI et al., 1992; SCHMIDT et al., 2011).

Já a estirpe *Gluconacetobacter diazotrophicus* é uma bactéria que foi isolada inicialmente de cana-de-açúcar (CAVALCANTE & DÖBEREINER, 1988) e posteriormente encontrada associada a batata-doce (PAULA; SIQUEIRA; DÖBEREINER, 1993), *Pennisetum purpureum* (REIS; OLIVARES; DÖBEREINER, 1994), café (JIMENÉZ-SALGADO et al., 1997), abacaxi (TAPIA-HERNÁNDEZ et al., 2000), insetos como cochonilhas, que habitam a bainha foliar da cana-de-açúcar (FRANKE et al., 1999), sendo capaz de oxidar etanol a ácido acético (CAVALCANTE & DÖBEREINER, 1988).

O *Herbaspirillum* e *Gluconoactobacter* constituem gêneros muito bem estudados, sendo diversos os estudos relacionados com a produção de fitormônios que induzem o crescimento radicular e melhoram a absorção de água e nutrientes pelas plantas.

Objetivou-se com este estudo avaliar a resposta da alface crespa cv. Veneranda quanto a eficácia das bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCP) *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175) e *Glucanoacetobacter diazotrophicus* (BR 11281), em casa de vegetação.

Material e métodos

A pesquisa foi realizada no laboratório de Microbiologia do Polo Tecnológico Agroalimentar de Arapiraca (9°50'36.4"S 36°34'33.0"W) localizado na zona rural da Vila Bananeiras na cidade de Arapiraca-AL. O clima da região, segundo Koppen, é do tipo As", com uma estação seca no verão e chuvas de outono/inverno (LIMA, 1965). O município é caracterizado por temperaturas elevadas, com a média anual de 25°C, e totais anuais de precipitação segundo o intervalo de 750 a 1000 mm. Os meses mais chuvosos são maio, junho e julho, concentrando geralmente mais de 50% do total anual, e os mínimos pluviométricos são registrados na primavera ou no verão, possuindo de 4 a 5 meses secos NIMER (1977).

Para análise de fertilidade do solo foram encaminhadas amostras da camada arável (0-20 cm) ao laboratório Central Analítica em Maceió-AL. De acordo com a análise granulométrica, o solo apresentava 18,4%, 23,2%, 28,5% e 29,9% de argila, silte, areia fina e areia grossa, respectivamente. Já o substrato comercial Bioplant® apresentou um pH de (6,2), condutividade elétrica (0,7 μ S/cm), densidade (150 kg/m³) e capacidade de retenção de água (100%).

Tabela 1. Características físicas¹ e químicas¹ do solo utilizado no experimento.

Solo	Características químicas													
	pH	P	K	Na	Mg	Ca	Al	H	S	CTC	V	m	M.O	
Prof.(cm)	H ₂ O													%



0-20	5,20	2	40	17	0,70	0,70	0,27	4,63	1,6	4,18	37,7	14,6	0,94
Características físicas													
Solo	Areia grossa		Areia Fina		Areia total		Silte		Argila		Classe text*		
Prof.(cm)													
0-20	299		285		584		232		184		FA***		

¹ Análises realizadas pelo Laboratório Central Analítica LTDA, pH H₂O; Na, P, K: Melhlich; Ca, Mg,Al: KCl; M.O.: S. Sulfurosa. Análises físicas (Embrapa, 2009). S: soma de bases; CTC: capacidade de troca catiônica; V: Saturação por bases; M: Saturação por alumínio; *tex=textural, ***FA= Franco Arenoso

As características químicas na fase de pré-instalação do experimento estão representados na Tabela 1. Evidenciou-se uma baixa fertilidade do solo, visto que, a saturação (V) por bases (37,7%) foi < 50%. Uma saturação por base baixa indica que o solo está, provavelmente ácido e podendo conter alumínio em nível tóxico (RONQUIM, 2010), confirmando o pH em H₂O do solo da pesquisa. Quanto a percentagem de saturação de Alumínio (Al), apresentou uma baixa saturação de m=14,6% e pouco teor de Al trocável. Com base nos resultados foi necessário corrigir o pH do solo com CaCO₃ que após a correção ficou pH = 6,6.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos: alface + solo (TA), alface + substrato (TS), alface + BR 11175 + solo e alface + BR 11175 + BR 11281 + solo, com 3 repetições, em casa de vegetação. As BPCPs utilizadas foram: *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175), *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR 11281), e em mistura com dupla inoculação (*H. seropedicae* + *G. diazotrophicus*) (Tabela 2).

Tabela 2. Estirpes de bactérias provenientes da coleção do Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB), código, planta a qual foi isolada e referências.

Estirpes	Código CRB-JD*	Isolada	Referências
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	BR 11281	Cana-de-açúcar/colmo	YAMADA, HOSHINO, ISHIKAWA (1997)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	BR 11175	Arroz/raízes	BALDANI et al., (1986)

*Centro de Recursos Biológicos Johana Döbereiner

Para a obtenção dos inoculantes, as estirpes bacterianas liofilizadas foram ativadas de acordo com a metodologia descrita por Figueiredo et al (2013). Para a preparação do inóculo bacteriano as estirpes foram crescidas em meio JNFb e LGI-P para *Herbaspirillum* e *Glucanoacetobacter*, respectivamente por 48 horas na temperatura de 28°C. Em seguida as duas estirpes foram multiplicadas para preparação dos inoculantes em frascos de Erlenmeyer com o meio de cultura DYGS (Dextrose Levedura Glicose Sacarose) por 48 horas com agitação constante de 200 rpm a 29°C. A concentração final das suspensões bacterianas crescidas () inóculo foram ajustadas a uma densidade bacteriana de ~10⁸ células mL⁻¹.

As mudas da alface cv. Veneranda foram produzidas no viveiro da SEMEAR agropecuária LTDA, Batingas, em Arapiraca, em bandejas de polipropileno com 200 células, preenchidas com o substrato comercial Bioplant®. Após a semeadura, as bandejas foram cobertas com uma fina camada do próprio substrato. Aproximadamente sete dias após a emergência das plântulas, foi realizado o desbaste, deixando-se uma planta por célula. O suprimento de água no período de viveiro foi efetuado duas vezes ao dia.

Em casa de vegetação as mudas foram transplantadas logo após 30 dias à semeadura para vasos plásticos estéreis (álcool a 70%) com capacidade de 1 kg de solo vaso⁻¹ previamente esterilizado em autoclave por 3 dias consecutivos à temperatura de 120°C na pressão de 1kPa. Para o tratamento com estirpe individual, foi inoculada uma suspensão de 10 mL, enquanto, àquele com dupla inoculação de estirpes, foram inoculadas com 5 mL de cada estirpe. Nas testemunhas absolutas (TA e TS) não foi acrescida suspensão de bactérias.



As plantas foram nutridas quinze dias após o transplântio com solução de Hoagland & Arnon (1950). A umidade foi mantida na capacidade de pote e não houve o controle de temperatura.

A colheita foi efetuada aos 30 dias após o transplântio e foram avaliadas as seguintes variáveis: altura da planta (AP) e comprimento da raiz (CR) foi medido com régua graduada; número de folhas (NF), a planta foi desfolhada e contada; biomassa verde da folha (BVF), biomassa verde do caule (BVC) e biomassa verde da raiz (BVR) foi realizada a pesagem de cada parte em balança digital, com resultado expresso em g/planta e por fim a biomassa seca total (BST), onde a parte aérea + raiz foram seca separadamente em estufa à 65°C até o peso constante. Posteriormente, determinou-se a massa seca por meio de pesagem em balança digital.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa estatístico SISVAR 5.6 Build 72, com níveis de significância de 5% pelo teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados da inoculação das BPCP isolada e em mistura aos trinta dias após o transplântio nas mudas de alface. Não foram observadas diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) na biomassa verde da folha (BVF) e na biomassa seca total (BST) quando comparadas as testemunhas. Nas variáveis biomassa verde do caule (BVC) e biomassa verde da raiz (BVR) verifica-se que houve diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Tanto o caule quanto as raízes apresentaram um maior desenvolvimento quando cultivados no substrato comercial Bioplant® sem inoculante, revelando que as BPCP isoladas ou em mistura induziram um decréscimo significativo ($p < 0,05$) em relação ao controle no substrato (TS). O substrato proporcionou um incremento na BVC de 34,6%, 17,71% e 15,44% quando comparado a inoculação com a *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175), a dupla inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175) + *Gluconacetobacter diazotrophicus* (11281) e testemunha absoluta (TA), respectivamente.

Tabela 3. Biomassa verde da folha (BVF), biomassa verde do caule (BVC), biomassa verde da raiz (BVR) e biomassa verde total (BST) de mudas de alface crespa cv. Veneranda inoculadas com BPCP após os 30 dias de transplântio.

Tratamentos	BVF	BVC	BVR	BST
	(g)			
<i>H. seropedicae</i>	1,852a	1,288b	1,672b	1,314a
<i>H. seropedicae</i> + <i>diazotrophicus</i>	2,319a	1,473b	2,532ab	1,960a
TA	2,122a	1,502ab	2,211ab	1,662a
TS	2,491a	1,734a	2,904a	1,963a
Médias	2,196	1,499	2,329	1,725
CV(%)	17,95	6,21	17,41	21,85

Médias seguidas pela mesma letra minúscula entre os tratamentos dentro da mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175), *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR 11281), Testemunha absoluta (TA) e Testemunha substrato (TS). Para análise estatística, os dados BVF, BVC, BVR e BST foram transformados em $\sqrt{x+1}$. Médias de 3 repetições.

Os resultados deste estudo não corroboram com Gomes et al. (2003), que ao inocular bactérias promotoras de crescimento isoladas da alface, na produção de mudas orgânicas cv. Verônica em ambiente protegido, obtiveram aumento significativo em relação à testemunha para massa fresca raiz, massa fresca parte aérea e massa fresca total. Sugere-se então que neste estudo a interação planta-microrganismo não foi eficaz, ou seja, as BPCP não tiveram a capacidade de colonizar as raízes, comprometendo a mobilização de nutrientes e,



consequentemente, o desenvolvimento da planta. Os mecanismos de reconhecimento da planta-bactéria culminam na adaptação e colonização dos tecidos vegetais, os quais são bastante específicos. E essa interação distingue simbioses benéficos, saprófitos ou parasitas patogênicos. Acredita-se que existam diferenças sutis nas moléculas de reconhecimento planta-bactéria que são comandadas por muitos genes e vias metabólicas, sendo que para uma única estirpe muitas vias podem estar envolvidas no processo de colonização, as quais são influenciadas pela espécie da planta, tipo de solo e condições ambientais (WELLER, 2007).

Em ambientes naturais, a primeira etapa para a colonização consiste no contato físico entre a bactéria e a planta hospedeira, após movimento dos microrganismos em direção às raízes, atraídos por exudatos radiculares, ou pelo transporte passivo na solução do solo (BENIZRI et al., 2001).

Já para as variáveis comprimento da raiz (CR) e número de folhas (NF) não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0.05$) das testemunhas (TA e TS). Na variável altura da planta (AP) houve diferença significativa ($P < 0.05$) pelo teste de Tukey quando as mudas da alface crespa não foram inoculadas com as estirpes BR 11175 (*H. seropedicae*) e BR 11281 (*G. diazotrophicus*), isolada ou combinadas, revelando novamente que induziram um decréscimo no desenvolvimento da planta. O substrato (TS) promoveu um aumento na altura da planta em 92,8%, 52,9% e 38% em relação as plantas que foram inoculadas isoladamente, combinadas e a testemunha absoluta (TA), respectivamente (Tabela 4). combinadas e a testemunha absoluta (TA), respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Altura da planta (AP), comprimento da raiz (CR) e número de folhas (NF) de mudas de alface crespa cv. Veneranda inoculadas com BPCP após os 30 dias transplantio.

Tratamentos	AP	CR	NF
	(cm)		(un)
<i>H. seropedicae</i>	9,093b	7,833a	9,000a
<i>H. seropedicae</i> + <i>diazotrophicus</i>	11,466b	9,333a	9,677a
TA	12,700b	10,133a	12,333a
TS	12,533a	14,200a	14,000a
Médias	12,698	10,375	11,250
CV(%)	12,84	29,41	20,69

Médias seguidas pela mesma letra minúscula entre os tratamentos dentro da mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175), *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR 11281), Testemunha absoluta (TA) e Testemunha substrato (TS). Médias de 3 repetições.

O fato do tratamento controle (TS) ter promovido um melhor efeito nas mudas de alface quando comparado ao controle absoluto (TA) provavelmente está relacionado aos componentes presentes no substrato comercial Bioplant® como: a turfa de sphagnum, fibra de coco, casca de arroz, casca de pinus, vermiculita, gesso agrícola, carbonato de cálcio, magnésio, termofosfato magnésiano (Yoorin) e aditivos (fertilizantes), além de boa aeração, boa retenção de umidade e uniformidade. O solo que fez parte do tratamento testemunha absoluta (TA) apresentou baixa fertilidade (Tabela 1), visto que, a saturação (V) por bases (37,7%) foi $< 50\%$, o que contribuiu para um menor desempenho das mudas.

Embora o potencial de promoção de crescimento vegetal mediado por bactérias já foi bastante demonstrado, tanto na melhoria da nutrição como no desenvolvimento vegetal, através solubilização de fosfatos inorgânicos insolúveis, na produção de sideróforos, na síntese de fitohormônios, como também na fixação biológica de nitrogênio, alguns desses mecanismos de ação podem sofrer o impacto de fatores edafoclimáticos, pois assim como as plantas, as bactérias apresentam variações na tolerância a estresses que influenciam a expressão de suas características. De acordo com Rumjanek et al. (2005), os principais fatores que podem afetar a promoção de crescimento vegetal por algumas bactérias, quando estas se encontram



associadas às plantas, estão a temperatura, salinidade, umidade e pH do solo. É importante ressaltar que neste estudo não teve controle de temperatura e o experimento foi instalado nos meses mais quentes do ano (janeiro e fevereiro) e que apresentam os menores índices pluviométricos.

Resultados negativos também foram observados por Probanza et al. (1996), que ao inocular *B. subtilis* (BS1 e BS2) em plantas de pinus (*Pinus taeda* L.), verificaram a redução de comprimento da parte aérea e raízes, bem como da biomassa.

De acordo com Sharan & Nehra (2011), esses resultados reforçam a ideia de que a capacidade das BPCP de produzir metabólitos não é necessariamente um pré-requisito para que ocorra aumento de crescimento e de produção em plantas, pois o efeito benéfico depende de sua concentração. Estudos demonstraram que o efeito do estímulo no crescimento vegetal promovido pelo ácido indol acético (AIA), um fitohormônio sintetizado por BPCP, incluindo *Herbaspirillum seropedicae* e *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BASTIAN et al., 1998) vai depender das concentrações sintetizadas. Pode promover crescimento (BISWAS et al., 2000; PATIL et al., 2011), inibir (PATIL et al., 2011; SCHLINDWEIN et al., 2008) ou não exercer nenhum efeito (LI et al., 2008) sobre o desenvolvimento vegetal.

Conclusão

As bactérias promotoras de crescimento *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175) isolada e em dupla inoculação com *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR 11281) não promoveram o desenvolvimento da alface crespa cv. Veneranda aos 30 dias após a inoculação em ambiente protegido;

As BPCP *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11175) isolada e em dupla inoculação com *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR 11281) inibiram o crescimento em altura da planta, a biomassa verde do caule e da raiz da alface crespa cv. Veneranda aos 30 dias após a inoculação em ambiente protegido.

Conflitos de interesse

Os autores deste manuscrito não declararam conflitos de interesse.

Referências

- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; SELDIN, L.; DOBEREINER, J. (1986). Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**. v. 36, p. 86 - 93.
- BALDANI, V. L. D; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L.; DÖBEREINER, J. (1992). Identification and ecology of *Herbaspirillum seropedicae* and the closely related *Pseudomonas rubrisubalbicans*. **Symbiosis**. v. 13, p. 65 – 73.
- BASTIAN, F.; COHEN, A.; PICCOLI, P.; LUNA, V.; BARALDI, R.; BOTTINI, R.



Production of indole-3-acetic and gibberelins A1 and A3 by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. **Plant Growth Regulation**, v.24, p. 7-11, 1998.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKET, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 11, p. 557-574. 2001.

BISWAS, J. C.; LADHA, J. K.; DAZZO, F. B.; YANNI, Y. G.; ROLFE, B. G. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. **Agronomy Journal**, v.92, n.5, p.880-886, 2000. Disponível em:

<https://acess.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2134/agronj2000.925880x>>. Acesso em: 26 maio. 2021 . doi: 10.2134/agronj2000.925880x.

BODDEY, R. M.; DEBOREINER, J. fixação de nitrogênio associada a gramíneas e cereais: progresso recente e perspectivas para o futuro. **Fertilizer Researcher**, Oxford, v.42, p.241-250, 1995.

CAVALCANTE, V. A.; DOBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, v. 108, p. 23-31, 1988.

CHANWAY, C.P.; ANAND, R.; YANG, H. Nitrogen Fixation Outside and Inside Plant Tissues InTech In: Advances in Biology and Ecology of Nitrogen Fixation, Takuji Ohyama (Ed.), ISBN: 978-953-51-1216, 2014.

COSTA C. P.; SALA, F. C. A evolução da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira** , 23. (artigo de capa). 2005

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FIGUEIREDO, M. V. B.; SELDIN, L.; ARAUJO, F. F.; MARIANO, R. L. R. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamentals and Applications In: Plant growth and health promoting bacteria ed.Berlin: **Springer**, v.18, p.21-43, 2010

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3.ed. Viçosa: UFV. 2008. p. 158.

GOMES, A. M. A.; MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; MESQUITA, J. C. P. Isolamento, seleção de bactérias e efeito da utilização de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 699-703, outubro-dezembro 2003.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soils. Berkeley: **California Agricultural Experimental Station**, 347p. 1950.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **CENSO AGROPECUARIO**, 2017. Disponível em: <https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/>. Acessado em: 02 de maio. 2021.



JIMÉNEZ-SALGADO, T.; FUENTES-RAMÍREZ, L.E.; TAPIA-HERNÁNDEZ, A. ; MASCARUA-ESPARZA, M.A.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; CABALLERO-MELLADO, J. KLOEPPER J. W.; LIFSHITZ R.; ZABLOTOWICZ R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology** 7: 39-44, 1989.

KLOEPPER J.W.; LIFSHITZ R.; ZABLOTOWICZ R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology** 7: 39-44, 1989.

KUMAR, P.; DUBEY, R. C. Plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens and yield enhancement of *Phaseolus vulgaris* l. **Journal of Current Perspectives in Applied Microbiology**, v. 1, p. 6–38, 2012.

LI, Z., WANG, L., HAYS, T.S., CAI, Y. (2008). Dynein-mediated apical localization of crumbs transcripts is required for Crumbs activity in epithelial polarity. **J. Cell Biol.** 180(1): 31-38.

LIMA, I. F. Geografia de Alagoas. São Paulo: Editora do Brasil S/A, Coleção didática do Brasil, vol. 14, 1965.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. 2004. Importância de bactérias promotoras de crescimento e biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, vol. 1, p.89-111.

NIMER, E. Clima. In: Geografia do Brasil: Região Nordeste. Rio de Janeiro: **IBGE**, vol. 2, 1977

PAULA, M. A.; SIQUEIRA, J. O.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de fungos micorrízicos vesículo arbusculares e de bactérias diazotróficas na cultura da batata-doce. **Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas**, v.17, p.349-356, 1993.

PATIL, S.B.; HURD, T.W.; GHOSH, A.K.; MURGA-ZAMALLOA, C.A.; AND KHANNA, H. Functional Analysis of Retinitis Pigmentosa 2 (RP2) Protein Reveals Variable Pathogenic Potential of Disease-Associated Missense Variants. **PLoS One**. 6(6): e21379. 2011

PÉREZ-GARCÍA, A.; ROMERO, D.; VICENTE, A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of bacilli in agriculture. *Current Opinion in Biotechnology*, **Elsevier BV**, v. 22, n. 2, p. 187–193, apr 2011

PROBANZA, A.; LUCAS, J.A.; ACERO, N.; MANERO, F. J. G. The influence of native rhizobacteria on European alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) growth. 1. Characterization of growth promoting and growth inhibiting bacterial strains. **Plant and Soil**, v.182, p.59-66. 1996.

REIS, V. M.; OLIVARES, F.L.; DOBEREINER, J. Improved methodology for isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and confirmation of its endophytic habitat. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.10, p.401-405, 1994.



RONQUIM, C. C. Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. **Embrapa Monitoramento por Satélite**, Campinas: 26 p. 2010.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P.; FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; SILVA, P. H. S.; VIANA, F. M. P. Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 281-335, abr. 2005.

SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: 2011. A Critical Review. **Life Sciences and Medicine Research**, v.21, p. 1-30.

SHANAHAN, P.; OSULLIVAN, D.J.; SIMPSON, P.; GLENNON, J.D.; OGARA, F. isolamento de 2,4-diacetilfloroglucinol de uma pseudomônia fluorescente e investigação de parâmetros fisiológicos que influenciam sua produção. **Aplicado e Microbiologia Ambiental**, v.58, n.1, p.353-358, 1992.

SCHMIDT, M. A.; SOUZA, E. M.; WASSEM, R.; YATES, M. G.; PEDROSA, F. O.; MONTEIRO, R. A. Evidence for the endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* (common bean) roots by the diazotroph *Herbaspirillum seropedicae*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 3, p. 182-185, mar 2011.

SCHLINDWEIN, G. et al. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.3, p.658-664, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782008000300010&script=sci_arttext>. Acesso em: 08 fev. 2010. doi: 10.1590/S0103-84782008000300010.

TAPIA-HERNÁNDEZ, A.; BUSTILLOS-CRISTALES, M.R.; JIMÉNEZ-SALGADO, T.; CABALLERO-MELLADO, J.; FUENTES-RAMÍREZ, L.E. Natural endophytic occurrence of *Acetobacter diazotrophicus* in pineapple plants. **Microbial Ecology**, v.39, p.49-55, 2000.

VERMA, P.; YADAV, A. N.; KHANNAM, K. S.; KUMAR, S.; SAXENA, A. K.; SUMAN, A. Molecular diversity and multifarious plant growth promoting attributes of bacilli associated with wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere from six diverse agro-ecological zones of India. **J Basic Microbiol** 56:44–58. 2016.

WELLER, D. M. Pseudomonas Biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. 97 (**Suppl 2**): 253. 2007.

YAMADA (Y.), HOSHINO (K.) and ISHIKAWA (T.): The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16S ribosomal RNA: the elevation of the subgenus *Gluconoacetobacter* to generic level. **Biosci. Biotech. Biochem.**, 1997, 61, 1244-1251.