

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
*CAMPUS* CURITIBANOS  
SABRINA RODRIGUES

***Bacillus* spp. COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO E NO CONTROLE DE  
*Sclerotium cepivorum in vitro***

Curitibanos

2019

**SABRINA RODRIGUES**

***Bacillus* spp. COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO E NO CONTROLE DE  
*Sclerotium cepivorum in vitro***

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em  
Agronomia do Centro de Curitibanos da Universidade  
Federal de Santa Catarina como requisito para a  
obtenção do Título de Bacharel em Agronomia.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>.Glória Regina Botelho

Curitibanos

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rodrigues, Sabrina

Bacillus spp. COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO E NO  
CONTROLE DE Sclerotium cepivorum in vitro / Sabrina  
Rodrigues ; orientadora, Gloria Regina Botelho, 2019.  
44 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus  
Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2019.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Alho. 3. Rizobactérias. 4. Mecanismos  
de Indução do Crescimento. I. Botelho, Gloria Regina. II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em  
Agronomia. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO-FEDERAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia

Rodovia Ulysses Gaboardi km3

CP: 101 CEP: 89520-000 - Curitibanos - SC

TELEFONE (048) 3721-2176 E-mail: agronomia.cbs@contato.ufsc.br.

SABRINA RODRIGUES

**Bacillus sp. como promotores de crescimento e no controle de crescimento de plantas e no controle biológico.**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia.

Curitibanos, 25 de junho de 2019.

Prof. Dra. Elis Borcioni  
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Glória Regina Botelho  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. João Frederico Mangrich dos Passos  
Membro da banca examinadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Kelen Cristina Basso  
Membro da banca examinadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida, por ter me mostrado o caminho da luz e nunca ter me abandonado.

Aos meus pais, Nelci e Claudemir, que sempre deram o melhor de si, para que eu pudesse chegar aqui. O carinho de vocês, os puxões de orelha, o amor incondicional e apoio me fizeram crescer, me mostrando que o caminho da vida é tortuoso, mas o amor nos faz mais fortes.

Aos meus familiares, que muitas vezes abriram as portas de suas casas e me acolheram, me dando apoio durante essa caminhada.

Aos meus amigos, em especial a Taciana Mota e Jaíne Kemer, que me acolheram em suas vidas e me mostraram que quando caminhamos com bons amigos, a vida se torna mais doce.

Agradeço a minha professora, orientadora e amiga, Glória Regina Botelho, pelas inúmeras vezes que me ouviu e me orientou, pelos puxões de orelha, pelo conhecimento transmitido e por não ter me deixado desistir.

Aos colegas de curso, técnicos, servidores, por terem feito parte da minha caminhada nessa Universidade.

Muito obrigada a todos.

## RESUMO

O alho é uma cultura de grande importância para a região Sul do Brasil, tendo destaque em Santa Catarina o município de Curitiba, que na década de 1980 foi considerada a capital nacional do alho. Essa cultura possui grandes problemas no que diz respeito a doenças, tendo destaque a podridão branca do alho, causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum* B. Essa é uma doença de solo, quando presente na área pode levar a perda total da produção e inviabilizar a utilização da área por mais de 20 anos. O controle biológico vem se mostrando eficiente no controle de diversas pragas e doenças que acometem a agricultura, com destaque para uso de bactérias do gênero *Bacillus*. Esses microrganismos além de apresentarem a capacidade de inibir ou retardar o desenvolvimento de patógenos possuem a capacidade de promover o crescimento de plantas, de maneira direta ou indireta. Bactérias do gênero *Bacillus* sp. geralmente são encontrados no solo, na região de contato com as raízes, sendo então denominados Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCPs). Nesse sentido, objetivou-se avaliar isolados rizosféricos de *Bacillus* sp. como promotores do crescimento de plantas *in vitro* pela produção de AIA, solubilização de fosfato e produção de enzimas extracelulares além da capacidade dos mesmos no controle *in vitro* de *Sclerotium cepivorum*. Todos os 27 isolados apresentaram a capacidade de produzir de AIA, 22 solubilizaram fosfato de cálcio, 18 tiveram a capacidade de produzir lipase extracelular. O mesmo número de isolados teve a capacidade de produzir urease e 13 apresentaram atividade antifúngica. Os isolados EB01, EB15, EB17 e EB27 apresentaram no mínimo três dos cinco mecanismos avaliados. Esses resultados indicam que tais isolados apresentam a capacidade de promover o crescimento de plantas além de controlar o desenvolvimento de doenças.

**Palavras chaves:** Alho. Rizobactérias. Mecanismos de Indução do Crescimento.

## ABSTRACT

The garlic is a crop of great importance for the South region of Brazil, and in the state of Santa Catarina the city of Curitibanos, which in the 1980s was considered the national capital of garlic. This culture has great problems with regard to diseases, with emphasis on the white rot of garlic, caused by the fungus *Sclerotium cepivorum* B. This is a soil disease, when present in the area can lead to the total loss of production and make the use of area for more than 20 years. Biological control has been shown to be efficient in the control of several pests and diseases that affect agriculture, with emphasis on the use *Bacillus* bacteria. These microorganisms, besides having the capacity to inhibit or retard the development of pathogens, have the capacity to promote the growth of plants, either directly or indirectly. Bacteria of the genus *Bacillus* sp. are usually found in the soil, in the region of contact with the roots, and are called Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPRs). In this sense, the objective was to evaluate the rhizospheric isolates of *Bacillus* sp. as *in vitro* plant growth promoters by production of IAA, phosphate solubilization and production of extracellular enzymes in addition to the ability of the same in the *in vitro* control of *Sclerotium cepivorum*. All 27 isolates showed the ability to produce IAA, 22 solubilized calcium phosphate. 18 had the ability to produce extracellular lipase. 18 of 27 isolates had the ability to produce urease and 13 had antifungal activity. Isolates EB01, EB15, EB17 and EB27 presented at least three of the five mechanisms evaluated. These results indicate that these isolates have the ability to promote plant growth in addition to controlling the development of diseases.

**Keywords:** Garlic. Rhizobacteria. Growth Induction Mechanisms.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	9
1.1	JUSTIFICATIVA.....	10
1.2	OBJETIVOS .....	12
1.2.1	<b>Objetivo geral</b> .....	12
1.2.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	12
2.1	O ALHO NA MICRORREGIÃO DE CURITIBANOS .....	12
2.1.1	<b>Podridão branca no alho</b> .....	13
2.2	RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E O CONTROLE BIOLÓGICO.....	14
2.2.1	<b>Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas</b> .....	14
2.2.2	<b><i>Bacillus</i> spp. no controle biológico</b> .....	15
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	16
3.1	MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE EFEITO DIRETO.....	16
3.1.1	<b>Solubilização de fosfato <i>in vitro</i></b> .....	16
3.1.2	<b>Produção de ácido indol acético (AIA) <i>in vitro</i></b> .....	17
3.1.2.1	Análise qualitativa de produção de AIA.....	17
3.1.2.2	Análise quantitativa de produção de AIA.....	17
3.2	MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE EFEITO INDIRETO. .....	17
3.2.1	<b>Produção de enzimas extracelulares</b> .....	17
3.2.1.1	Lipases .....	18
3.2.1.2	Urease .....	18
3.2.1.3	Protease.....	18
3.2.1.4	Quitinase .....	18
3.3	CAPACIDADE DE INIBIÇÃO DE <i>Sclerotium cepivorum</i> POR ISOLADOS DE <i>Bacillus</i> sp. <i>in vitro</i> .....	19
3.3.2	<b>Análise quantitativa da inibição do <i>Sclerotium cepivorum in vitro</i></b> .....	19
3.4	<b>ANÁLISES ESTATÍSTICAS</b> .....	20
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	20
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	33
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	35

## 1 INTRODUÇÃO

O alho (*Allium sativum* L), pertencente da família das Aliaceae é uma cultura de grande importância para a região sul do Brasil. Tendo destaque a região do meio oeste catarinense, onde se encontra o município de Curitibanos, que na década de 1980 foi considerado como a capital nacional do alho (BARBOSA, 2009).

Com uma área de aproximadamente 1.800 ha e produtividade média de 2.880 kg.ha<sup>-1</sup>, na safra 80/81, esse valor aumentou em 87/88, para 2.000 ha plantados e produção de 6.000kg.ha<sup>-1</sup>. Esses valores se aproximavam dos principais países produtores e fornecedores para o Brasil na época, como a Argentina, que possuía uma produtividade média de 5.600 kg.ha<sup>-1</sup> (BARBOSA, 2009; INSTITUTO CEPA/SC, 1996).

Das safras 1992/93 até 1994/95, a microrregião de Curitibanos teve uma participação de mais de 50% na produção total de alho para o estado de Santa Catarina. Segundo dados da CONAB, em 2017, o estado obteve produção de 22,4mil toneladas, 13,9% menor que em 2016. Porém entre 2012-2016 houve um crescimento na produção de 7,7%.

A cultura é muito sensível às diversas doenças que podem acometê-la, atacando desde a parte aérea até bulbos e bulbilhos, como a fusariose, raiz rosada, mancha púrpura, mofo azul e queima bacteriana (NASCIMENTO, 2016; RESENDE, HABER, PINHEIRO, s.a).

Dentre as mais conhecidas tem destaque a podridão branca, causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum* Berk. A doença quando presente na área pode inviabilizar a utilização da mesma, uma vez que os escleródios podem permanecer por vários anos no solo. No campo, a doença ocorre em reboleiras, com sintomas característicos como crescimento anormal da planta, amarelecimento e morte das folhas mais velhas, murcha e apodrecimento dos bulbos (DOMINGOS, 2015; MESQUITA, 2018).

Por ser uma doença de solo, pode interagir com uma região de grande importância para o desenvolvimento das plantas, denominada rizosfera. A rizosfera compreende uma área de contato mais íntimo das raízes das plantas com o solo, e esse pode apresentar características específicas, bem com uma diversidade de macro e microrganismos. Esses microrganismos podem oferecer substâncias de interesse da planta melhorando seu crescimento e desenvolvimento, como as bactérias denominadas Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs) (GRAÇAS et al., 2015; PEREIRA, 2000),

As RPCPs podem ser de vida livre ou simbiote, e atuarem direta ou indiretamente no crescimento vegetal. O efeito direto pode ser observado através da produção de fito-

hormônios, como auxinas, giberelinas e citocininas, além da capacidade de solubilizar fosfato (OLIVEIRA, 2009; BATISTA, 2012).

Na ação indireta, pode-se observar a produção de vários metabólitos secundários, que muitas vezes são tóxicos a fitopatógenos presentes no solo ou que impedem o desenvolvimento dos mesmos, como antibióticos, sideróforos, e produção de algumas enzimas extracelulares (lipases, proteases e glucanases) (VIEIRA JUNIOR, et al., 2013, AMARAL et al., 2017; RATZ et al., 2017; OLIVEIRA, URQUIAGA, BALDANI, 2003).

Entre as RPCPs, o gênero *Bacillus* vem sendo muito estudado, pois apresenta a capacidade de produzir metabólitos secundários com atividade microbiana e antifúngica, além da capacidade de produzir fitormônios como ácido indol acético, ácido indol butírico, giberelinas, citocininas e compostos que imitam a ação dos jasmonatos. Além disto, possuem a capacidade de formar endósporos resistentes a fatores físicos desfavoráveis, como elevada temperatura, desidratação e radiação (BRAGA JUNIOR, 2015; VAZ, 2014; DIAZ, 2018).

Diante dessas características importantes dessas rizobactérias, elas são uma alternativa viável no controle de pragas e doenças, podendo assim diminuir os custos da produção, principalmente com agroquímicos, que além de apresentarem altos valores, podem causar problemas ambientais (GRAÇAS et al., 2015).

## 1.1 JUSTIFICATIVA

A microrregião de Curitiba possui um grande potencial para o cultivo de alho, pois apresenta condições climáticas favoráveis para seu desenvolvimento, além de ter um número considerável de pequenos produtores envolvidos neste setor. Porém, devido aos altos custos de produção e à grande variedade de doenças que podem se manifestar, essa é uma cultura que está diminuindo a cada ano a sua área de plantio, bem como em muitos casos, a produtividade.

Dentre as doenças, uma das mais expressivas é a podridão branca. É uma doença de solo que pode persistir por vários anos e o controle químico não se mostra eficiente. Sendo assim, existe a necessidade de complementariedade no sistema de produção, sendo o controle biológico uma alternativa para esse problema, juntamente com outras práticas agrícolas que podem minimizar o efeito e incidência dessa doença.

O controle biológico tem se tornado uma ferramenta importante na busca de eficiência maior no controle de pragas e doenças, visando a produção inteligente, sem o uso indiscriminado de defensivos agrícolas (VIEIRA JUNIOR et al., 2013).

Araujo (2008) citou o trabalho de Lazzaretti & Bettiol (1997), em que os efeitos das rizobactérias sobre o desenvolvimento das plantas é amplo, como durante a germinação de sementes, emergência e desenvolvimento das plantas. Este mesmo autor citou em seu trabalho que as rizobactérias são potenciais agentes para o controle de fitopatógenos, evidenciando o potencial que estes materiais possuem.

O gênero *Bacillus* é uma das RPCP mais abundantes no solo, sendo eficientes antagonistas a patógenos. O principal mecanismo de ação antagônica é a antibiose, que é causada por um ou mais metabólitos produzidos por um organismo tem efeito nocivo sobre outro (MARRONI, GERMANI, 2011; VIEIRA JUNIOR, et al., 2013). Trabalhos já relatam a capacidade que esse gênero possui em controlar diferentes doenças fúngicas e bacterianas, através de substâncias bioativas e metabólitos secundários (LEÃO et al., 2016; MONTEIRO, 2002; CORRÊA, 2010; MELO, 2005).

Além disso, essas bactérias se destacam quanto a sua capacidade de formar endósporos, os quais são tolerantes ao frio, calor, extremos de pH, o que facilita sua estocagem. Além da capacidade antagônica, essa espécie bacteriana possui potencial no ganho nutricional das plantas, com a solubilização de fosfato insolúvel e produção de fitormônios (GUERREIRO, 2008; ARAUJO, 2008).

Dentre os fitormônios produzidos por tais microrganismos, as auxinas, especificamente o AIA, é o mais estudado e produzido pelas bactérias, tendo uma aplicação prática como promotora de crescimento vegetal, pois essa substância atua sobre a morfologia das raízes, aumentando seu comprimento e o número de pelos radiculares (BORTOLOTTI, 2014).

Os microrganismos solubilizadores de fosfato ( $PO_4^{-3}$ ) são facilmente encontrados na rizosfera e possuem um papel fundamental no ciclo do fósforo (P) que é de grande importância para o desenvolvimento vegetal e produção agrícola. Uma alternativa utilizada para aumentar a quantidade de P liberado é a inoculação de plantas com esses microrganismos selecionados e essa metodologia já vem apresentando resultados satisfatórios no crescimento e produção de diferentes culturas, como alfafa, trigo, cebola, soja, milho e na cana-de-açúcar (ABREU, 2014).

Desta maneira é necessário, estudar os mecanismos que podem auxiliar no crescimento e desenvolvimento da cultura, assim como aqueles que podem amenizar os efeitos da doença.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

Selecionar isolados de *Bacillus* spp. com potencial para o biocontrole e promoção de crescimento de plantas de alho.

### 1.2.2 Objetivos específicos

Analisar a capacidade de indução de desenvolvimento vegetal dos isolados bacterianos através de mecanismos diretos, como a produção de AIA e solubilização de fosfato *in vitro*;

Examinar o potencial dos isolados bacterianos em controlar o crescimento da podridão branca do alho *in vitro*;

Determinar mecanismos de desenvolvimento indiretos, através da produção de enzimas extracelulares *in vitro*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 O ALHO NA MICRORREGIÃO DE CURITIBANOS

A região sul do Brasil tem grande destaque na produção de alho, tendo a maior área destinada ao plantio dessa cultura. Porém, apresentam os piores índices de produtividade (LONGHI, 2013). Em 2016, segundo dados do IBGE, a mesorregião de Curitiba teve uma área plantada de 1.611ha, com uma produção de 15,8 toneladas.

Silva (2017) cita em seu trabalho, o qual faz uma análise financeira do cultivo do alho, que no ano de 2014 o custo de produção por hectare plantado, para o estado de Santa Catarina variou entre 15 e 21 mil reais. Esses valores que condizem com os dados fornecidos pela Epagri, para o mês de maio de 2017, na microrregião de Curitiba (EPAGRI, s.a). Esse alto valor de produção, aliado aos baixos valores para venda, vêm fazendo com que muitos produtores acabem diminuindo gradualmente sua área plantada (MORAIS JUNIOR, 2019).

Mesmo com altos custos de produção, pode-se perceber que a cultura é de grande importância para o desenvolvimento e economia da região, uma vez que os principais produtores são oriundos da agricultura familiar que utilizam pequenas áreas e a intensa mão

de obra familiar, gerando em média quatro empregos diretos e quatro indiretos, pois requer cerca de 600 dias de trabalho manual por hectare plantado (LONGHI, 2013, SILVA, 2017; GIEHL, et al., 2018).

O alho é uma cultura que além de possuir um alto custo de produção apresenta uma vasta lista de doenças, as quais comprometem sua produção. Uma das mais importantes é a podridão branca do alho, causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum* Berk, sendo essa altamente destrutiva e facilmente dispersa dentro e entre lavouras, o que acaba levando a uma baixa produtividade (REIS, 2011).

### 2.1.1 Podridão branca no alho

Raízes e bulbos são alvos de diversas doenças que podem levar a perda total da produção. Dentre essas, uma das mais comuns é a podridão branca (*Sclerotium cepivorum* Berk), considerada uma das doenças mais importantes no alho. A podridão branca pode atingir 100% da área produzida, causando grandes prejuízos (EPAGRI, 2002).

A podridão branca é uma doença que ocorre nas regiões mais frias do país tendo uma temperatura ótima para germinação dos escleródios entre 10-20°C, sendo ela já conhecida há muito tempo em regiões produtoras no Sul e Sudeste do Brasil. Porém já existem relatos do surgimento dessa doença onde o cultivo do alho ainda é recente (REIS, 2011).

O gênero *Sclerotium*, o qual a podridão branca está inserida, produz micélio estéril, não possuindo fase sexual conhecida. Os escleródios, que são as estruturas de sobrevivência do fungo, possuem entre 200-600µm de diâmetro, com coloração escura e que podem permanecer em dormência no solo por mais de 20 anos, germinando apenas com a presença de exsudatos radiculares liberados pelas culturas do gênero *Allium* (SIQUEIRA, REIS, 2015; MESQUITA, 2018).

As plantas são suscetíveis a essa doença durante todo seu ciclo vegetativo sendo comum observar os sintomas em reboleiras (SOUZA, 2009). Os sintomas típicos são plantas com pouco desenvolvimento, folhas amareladas e murchas, bulbos e raízes apodrecidas e a presença de uma massa branca (micélio) junto de minúsculas estruturas de cor escura (escleródios). Estes dois últimos são sinais característicos da doença (EPAGRI, 2002).

O controle dessa doença fúngica é feito por medidas preventivas, como utilização de sementes livres do patógeno, plantio em áreas isentas da doença, lavagem dos implementos agrícolas, rotação de cultura e uso de cultivares precoce (SOUZA, 2009). Não existem cultivares de alho resistente geneticamente a essa doença. O controle com fungicidas é pouco

eficiente e inviável economicamente, além de não existir produtos registrados no Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento (MAPA) para seu controle (PEREIRA, 2013), sendo necessário o estudo de outros tipos de controle, como a utilização da microbiota associada às raízes com potencial de supressão de patógenos.

## 2.2 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E O CONTROLE BIOLÓGICO

### 2.2.1 Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas

Rizobactérias são um grupo de microrganismos que possuem a capacidade de colonizar, em grande escala, o sistema radicular das plantas e a rizosfera, podendo essas ser simbioses ou saprófitas de vida livre (COELHO et al., 2007). Esse grupo de bactérias vem sendo estudado por possuírem características que podem ser utilizadas no biocontrole de fitopatógenos. Essas ainda possuem propriedades que podem auxiliar no crescimento e desenvolvimento da planta, por isto são denominadas Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCPs) (COELHO et al., 2007, CARVALHO, 2009; NOSOLINE, 2016).

Dentre os fatores benéficos das RPCPs, pode-se citar a produção de hormônios que podem auxiliar na germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento das plantas adultas, além da solubilização de fosfatos minerais, assim como produção de metabólitos que inibem patógenos vegetais, sendo esse um mecanismo secundário para o desenvolvimento da planta (ARAUJO, 2013).

Em um ecossistema, as RPCPs têm sido apontadas como essenciais para a o desenvolvimento das mesmas. A solubilização de fósforo é uma característica importante que esses microrganismos possuem, pois o fósforo (P) é um dos nutrientes mais necessários para a nutrição vegetal e a disponibilidade deste nutriente nos solos é bastante limitada e o custo dos fertilizantes solúveis é alto (AGUIAR, 2012).

Sabe-se que o crescimento vegetal é afetado pela disponibilidade dos nutrientes no solo. Os solos brasileiros são carentes em fósforo solúvel (P), sendo que para suprir tal deficiência, muitas vezes são utilizadas doses superiores às recomendadas, pois a maior parte do P aplicado, não está prontamente disponível para as plantas, então a inoculação de microrganismos solubilizadores de fósforo vem sendo uma alternativa para substituir ou

diminuir a aplicação de fontes solúveis de P (SILVA FILHO, NARLOCH, SCHARF, 2002; SOUCHIE, ABOUD, CAPRONI, 2007).

O gênero *Bacillus* é apontado como um dos grupos mais eficientes na solubilização de fosfato, assim como na capacidade de produzir o fitormônio ácido indol acético (AIA), e esses mecanismos em conjunto apresentaram um efeito significativo na produção de arroz usando fosfato de rocha quando comparado com a utilização de fertilizantes solúveis (AGUIAR, 2012).

A microbiolização de rizobactérias em sementes de cebola mostrou a capacidade que esses microrganismos possuem no desenvolvimento da cultura, sendo que dentre todos os isolados estudados, os que obtiveram melhores resultados pertencem ao gênero *Bacillus* (HARTMANN et al., 2009).

Os mecanismos de ação das RPCPs aparentemente não ocorrem de maneira isolada. Acredita-se que um conjunto de fatores possa afetar o desenvolvimento vegetal, que envolvem características da planta, do ambiente e do microrganismo (COSTA, 2007).

### **2.2.2 *Bacillus* spp. no controle biológico**

O controle biológico, na maioria das vezes, é resultado de um conjunto de atividades que algumas bactérias possuem, como a capacidade de produzir antibióticos e sideróforos, capacidade de induzir as plantas à resistência de doenças, competição por nutrientes com o patógeno. (SOTTERO et al., 2006).

Algumas bactérias, como as do gênero *Bacillus* estão cada vez sendo mais estudadas e utilizadas no controle biológico de microrganismos causadores de doenças em plantas (VIEIRA JUNIOR, 2009). Estudos já comprovaram a eficiência de algumas espécies do gênero anteriormente citado, evidenciando sua capacidade de controle (CORRÊA; BETTIOL; SUTTON, 2010).

O gênero *Bacillus* vem se destacando devido a sua capacidade de formação de endósporos resistentes a condições adversas do ambiente o que possibilita sua manutenção e sobrevivência em ambientes específicos, tendo uma grande versatilidade de mecanismos de ação para inibir patógenos (BRAGA JUNIOR et al., 2017).

A atividade antagonica que o gênero *Bacillus* possui tem sido atribuída à capacidade do mesmo em produzir metabólitos secundários, que possuem propriedades antibióticas e apresentam um baixo peso molecular (MELO, 2005).

Além da capacidade de controlar outras bactérias, o gênero *Bacillus* também apresenta a capacidade de controlar doenças fúngicas, podendo servir como uma ferramenta de controle de fitopatógenos (RADONS, 2016; BEZERRA, et al., 2013, BATISTA JUNIOR et al., 2002).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado na Universidade Federal de Santa Catarina, *Campus* de Curitibanos, no laboratório de Microbiologia. A coleção de rizobactérias da Universidade Federal de Santa Catarina é mantida sob os cuidados da Prof.<sup>a</sup> Dra. Glória Regina Botelho e conta atualmente com três grupos de bactérias, sendo esses *Bacillus*, *Pseudomonas* e rizóbios. Todas as bactérias que compõem a coleção foram isoladas por acadêmicos sob a orientação da Prof.<sup>a</sup> Dra. Glória Regina Botelho, que tem por objetivo manter material viável para bioprospecção.

Os isolados do gênero *Bacillus* foram obtidos de solo e rizosfera de alho coletados na fazenda Dias, em Curitibanos, a partir do desenvolvimento do trabalho de conclusão de curso da acadêmica Mariane Rosa Leôncio (2015). Esses passaram por testes para caracterização fenotípica e de potencial de crescimento vegetal, além da identificação genética (sequenciamento do gene 16S rRNA), para determinação de gênero e ou espécie. Quatorze isolados foram identificados como pertencentes à espécie *Bacillus subtilis*

#### 3.1 MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE EFEITO DIRETO.

##### 3.1.1 Solubilização de fosfato *in vitro*

Para análise da capacidade de solubilização de fosfato, foram utilizados 27 isolados de *Bacillus* que foram colocados para crescer em meio LB líquido (pH 7,2) em tubos de ensaio contendo 5mL do meio e incubados por 72 horas em temperatura controlada de 25 ° C, com cinco repetições de cada isolado bacteriano. Após o crescimento, com o auxílio de uma pipeta automática, calibrada em 100µL, os isolados foram transferidos para placas de Petri contendo meio solubilizante (7,5g de Ca<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 15g de glicose, 0,75g de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,3g de NaCl, 0,3g de KCl, 0,15g de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,015g de MnSO<sub>4</sub>, 0,015g de FeSO<sub>4</sub> e 22,5g de ágar).

Cada placa foi inoculada com quatro isolados em pontos equidistantes. As medidas foram realizadas em intervalos de 72 horas, em que foi avaliado o halo de solubilização ao

redor da colônia bacteriana e seu diâmetro. O índice de solubilização foi dado por  $IS = \frac{\text{Halo (mm)}}{\text{Ø Colônia (mm)}}$  (CHAGAS JUNIOR et al., 2010).

### 3.1.2 Produção de ácido indol acético (AIA) *in vitro*.

Para esta análise, os 27 isolados foram crescidos em 5mL de meio LB líquido enriquecido com triptofano (0,005g/mL) durante 48 horas a 26°C, sendo que foram realizadas três repetições por isolado.

#### 3.1.2.1 Análise qualitativa de produção de AIA

Foram utilizados 1mL da solução bacteriana juntamente com 1mL do reagente de Salkowski S2 (7,9 mol.L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> com 12g de FeCl<sub>3</sub>). Esses permaneceram no escuro, durante trinta minutos. Após esse período, as amostras que apresentaram a coloração rosa, positivo para produção de AIA seguiram para o teste quantitativo (MARCHIORO, 2005).

#### 3.1.2.2 Análise quantitativa de produção de AIA

As amostras que apresentaram reação positiva foram submetidas à espectrofotometria, à densidade ótica de 540nm. Como padrão foi utilizado Ácido 3-Indolacético P.S (AIA Vetc Química Fina) na concentração de 2 µg.mL<sup>-1</sup>, 5 µg.mL<sup>-1</sup>, 8 µg.mL<sup>-1</sup>, 10 µg.mL<sup>-1</sup>, 20 µg.mL<sup>-1</sup>, 50 µg.mL<sup>-1</sup>, 80 µg.mL<sup>-1</sup>, 100 µg.mL<sup>-1</sup>, 200 µg.mL<sup>-1</sup>, 500 µg.mL<sup>-1</sup>, 800 µg.mL<sup>-1</sup> e 1000 µg.mL<sup>-1</sup> para a realização da curva padrão.

Para a realização da leitura do AIA padrão foi utilizada a proporção de 1:1 de AIA padrão e reagente de Salkowski. Para a leitura das amostras que apresentaram resultados positivos no teste anterior, utilizou-se a proporção de 1:1 do meio líquido com crescimento bacteriano (enriquecido com Triptofano 0,005g.mL<sup>-1</sup>) e reagente de Salkowski.

## 3.2 MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE EFEITO INDIRETO.

### 3.2.1 Produção de enzimas extracelulares

### 3.2.1.1 Lipases

Inicialmente, os 27 isolados foram crescidos em 5mL de meio LB líquido, por 24 horas a uma temperatura de 26°C. Em seguida, com o auxílio de uma alça de platina, a suspensão bacteriana foi transferida para quatro pontos equidistantes da placa contendo o meio mínimo (MM) (COVE, 1966), com cinco repetições para cada conjunto de quatro isolados. Ao MM, foram acrescentados 0,001% de Rodamina B com 1% de azeite de oliva (OLIVEIRA et al., 2006). A detecção da atividade enzimática foi determinada pela presença de pontos fluorescentes em torno ou sobre a colônia bacteriana, quando submetidas a uma lâmpada ultravioleta (365nm). Segundo Torquato et al. (2016), os ácidos graxos produzidos pela hidrólise de lipídeos, ao reagir com a Rodamina B, formam um composto fluorescente.

### 3.2.1.2 Urease

Para avaliação da produção de urease, cada isolado foi inoculado em tubos de ensaio contendo 5mL do meio específico (Ureia 8g; Extrato de levedura 0,04g; Fosfato de sódio 3,8g, Fosfato dipotássico 3,64g, Vermelho de fenol à 0,18% 20,0mL e água destilada 380mL) com o pH ajustado para 6,8 e mantidos a 28°C por uma semana. A presença da urease foi detectada pela mudança na coloração do meio, saindo de um amarelo/alaranjado para rosa avermelhado. Foram realizadas cinco repetições para cada isolado.

### 3.2.1.3 Protease

Para análise da produção extracelular de enzimas que degradam proteína (protease), inicialmente os 27 isolados de *Bacillus* foram crescidos em tubos de ensaio, contendo 5mL de meio LB líquido, por 24h a 25°C. Em seguida, com o auxílio de uma alça de platina, a suspensão bacteriana foi transferida para quatro pontos equidistantes da placa contendo o meio mínimo (MM), com 5 repetições cada. Ao MM foi adicionado 1% de caseína (OLIVEIRA et al., 2006). A verificação da produção de enzimas extracelulares se deu pela observação de um halo transparente em volta da colônia.

### 3.2.1.4 Quitinase

O mesmo procedimento realizado com os isolados bacterianos na avaliação de protease foi realizado para a produção de quitinase. Entretanto ao MM foram adicionados 0,8% de quitina coloidal e 0,078% de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (CATTELAN et al., 1999). A atividade das enzimas extracelulares foi observada pela presença de um halo transparente em volta da colônia.

### 3.3 CAPACIDADE DE INIBIÇÃO DE *Sclerotium cepivorum* POR ISOLADOS DE *Bacillus* sp. *in vitro*

#### 3.3.1 Análise qualitativa da inibição do *Sclerotium cepivorum in vitro*

Para avaliar a capacidade de controlar o crescimento do fungo *Sclerotium cepivorum in vitro*, esse foi transferido para o centro de placas contendo meio BDA, a temperatura de 25°C, durante três dias. Após as 72 horas, uma amostra da colônia foi retirada e inserida no centro de outra placa contendo o mesmo meio a temperatura de 25°C por 48 horas.

Vinte e quatro horas após a inoculação do fungo na placa, os 27 isolados foram colocados em 5 mL de meio LB líquido (pH 7,2) por mais 24h. Em seguida, uma alíquota de 100 $\mu\text{L}$  (0,1mL) de cada quatro isolados, foi transferida, para quatro pontos equidistantes da placa. Cada conjunto de quatro isolados possuía três repetições, que foi mantido a 25°C. As avaliações foram feitas a partir das 24h da inoculação dos isolados na placa, com intervalo de 72h, entre cada análise, por um período de nove dias. Nesta etapa foi avaliada apenas a presença de halos de inibição.

#### 3.3.2 Análise quantitativa da inibição do *Sclerotium cepivorum in vitro*

Os isolados que apresentaram alguma inibição sobre o crescimento do fungo em questão foram novamente submetidos ao mesmo processo, sendo então analisado quantitativamente esse grau de inibição (GI), medindo o diâmetro do fungo e do halo de inibição, gerando assim um índice de inibição do desenvolvimento do fungo, o qual leva em consideração a diferença entre o desenvolvimento do fungo (Dtf) na placa sem a presença do controle (bactéria) e com a presença do controle (Dcf), sobre o valor Dft.

Esse valor foi dividido pelo halo de inibição (Hi), já descontando o tamanho da colônia bacteriana. O valor final foi multiplicado por 100, para que se tivesse o valor de controle em porcentagem, como na Fórmula 1.

$$\left[ \frac{\left[ \frac{D_{tf} - D_{cf}}{D_{ft}} \right]}{H_i} \right] * 100 \quad (1)$$

### 3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as avaliações foram realizadas em delineamento inteiramente casualizado (DIC), e seus resultados analisados pelo teste F de análise da variância, a um nível de 5% de significância. Havendo diferença significativa procedeu-se ao um teste de médias Scott-Knott, também a um nível de 5% de significância, através do programa RStudio (versão 1.1.423).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE EFEITO DIRETO

#### 4.1.1 Solubilização de fosfato

Dos 27 isolados testados, 81,5% (22) apresentaram a capacidade de solubilizar fosfato de cálcio (Tabela 1). Entre eles, 16 (59%) apresentaram halo de solubilização em todas as repetições, analisadas desde o primeiro dia de observação. Os isolados EB02, EB03, EB04 e EB17 apresentaram IS (Índice de Solubilização) estatisticamente maiores, com destaque para o EB03, que apresentou o maior IS, 1,65mm. Nove isolados apresentaram IS maior que 1,0mm (EB02, EB03, EB04, EB10, EB17, EB19, EB20, EB23 e EB27).

Os valores encontrados nesse trabalho se assemelham muito aos encontrados por Karpagam e Nagalaksh (2014). A partir de amostras da rizosfera de tomateiro, foram identificados 37 microrganismos com capacidade de solubilizar fosfato, mas apenas seis deles apresentaram os maiores valores, ficando entre 1,13 e 2,23mm. Esses isolados passaram pelo processo de identificação gênica, sendo dois deles classificados como pertencentes aos gêneros *Bacillus* sp.

Os isolados EB02, EB03, EB04 e EB17 tiveram IS próximos a 1,5mm. Esse valor foi descrito por Silva (2017) como relevante para o índice de solubilização de fosfato, pois o potencial de solubilização de fosfato é proporcional ao tamanho do halo e a relação com o tamanho da colônia. O autor encontrou isolados de *Bacillus subtilis* que apresentaram índices

superiores a 1,5mm de diâmetro, valores que se assemelham com os encontrados nesse trabalho. Silva (2017) também apontou que dentro de uma mesma espécie, diferentes isolados podem ter diferentes capacidades para solubilizar fosfato. Este caso aconteceu no próprio trabalho de Silva (2017), onde dois isolados de *Bacillus subtilis* apresentaram valores diferentes de solubilização de fosforo em fosfato de rocha (J310 com uma média de 0,673 $\mu$ g de fosforo por tudo de ensaio, já o isolado E310 teve uma média de 0,744 $\mu$ g de fosforo por tubo de ensaio).

Tabela 1: Índice de solubilização de fosfato por isolados de *Bacillus* sp. obtidos da rizosfera de alho.

<b>Isolados</b>	<b>IS</b>
*EB01	0,00 g
*EB02	<b>1,41b</b>
EB03	<b>1,65 a</b>
*EB04	<b>1,44 b</b>
*EB05	0,48 e
EB06	0,86 d
*EB07	0,86 d
EB08	0,44 f
*EB09	0,15f
*EB10	1,14c
*EB11	0,37 f
*EB12	0,54 f
EB13	0,00 g
EB14	0,68 f
*EB15	0,82 d
*EB16	0,00 g
EB17	<b>1,37 b</b>
EB18	0,87 d
EB19	1,01 d
EB20	1,14 c
EB21	0,75 d
EB22	0,94 d
*EB23	1,07 d
EB24	0,00 g
*EB25	0,00 g
*EB26	0,00 g
EB27	1,13 c
Controle	0,0 0g

Fonte: O autor

Notas: IS - índice de solubilização.

Os resultados mais significativos são destacados. Valores com letras iguais nas colunas, não diferem estatisticamente.

\* *Bacillus* sp. identificado por sequenciamento 16SRNAr

Sabe-se que depois do nitrogênio, o fósforo é o mineral que mais limita o crescimento vegetal. No solo existe uma reserva grande desse elemento, mas nas formas insolúveis, o que o torna indisponível para as plantas, mas rizobactérias possuem a capacidade solubilizar esse fosfato inorgânico, convertendo o mesmo para formas solúveis e absorvíveis para a planta (ARRUDA, 2012).

Oliveira (2012) encontrou 80 isolados rizosféricos e endofíticos de duas cultivares de *Brachiaria*. Destes, 66,2% possuíam capacidade de solubilizar fosfato inorgânico, sendo que a maioria apresentava índices de solubilização de fosfato entre 1,14 e 3,15. Abreu (2014) observou que dos 73 isolados de milho (folhas, raízes e colmos), 25 não foram capazes de formar halo de solubilização, sendo que os 48 isolados que apresentaram halo de solubilização foram classificados com baixa solubilização ( $IS < 2$ ) e média solubilização ( $2 \leq IS \leq 4$ ). Dentre os 42 isolados sequenciados geneticamente, 57,14% foram classificados como pertencentes ao gênero *Bacillus*, os quais apresentaram maior eficiência na solubilização de fósforo em meio de cultura contendo tricálcio fosfato.

Neste trabalho (OLIVEIRA, 2012), os isolados obtidos da rizosfera do alho mostram que apesar de serem classificados como baixa solubilização ( $IS < 2$ ), os mesmos apresentaram resultados logo a partir da primeira análise (três dias após a inoculação).

Zucareli et al. (2018), avaliaram a inoculação de estipes de *Bacillus subtilis* no feijão, juntamente com a disponibilização de diferentes fontes de fósforo (mineral e químico), e observaram que houve um aumento na disponibilidade desse nutriente no solo, bem como a sua absorção, a produção de biomassa de raízes e parte aérea da planta, assim como sua produtividade dos grãos.

#### **4.1.2 Produção de ácido indol acético (AIA) *in vitro*.**

Todos os 27 isolados produziram AIA, com valores que variaram de 2 a 34,28 $\mu\text{g. mL}^{-1}$  (Figura 1). Os isolados EB14 e EB15 produziram a maior quantidade 34,28 e 24,3 $\mu\text{g. mL}^{-1}$  respectivamente. A maior parte dos isolados (45%) produziu de 10 a 19 $\mu\text{g. mL}^{-1}$  (Tabela 02).

Stroschein et al. (2016) constataram que a maioria dos isolados analisados em seu estudo produziram até 10 $\mu\text{g/mL}$ , valores próximos aos encontrados nesse trabalho. Porém, também encontraram bactérias isoladas de nódulos de leguminosas e de solo rizosféricos com capacidade de produzir até 57,75 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ , valor acima do máximo produzido pelo isolado EB14 nesse trabalho, o qual teve uma capacidade de produção de 34,28 $\mu\text{g. mL}^{-1}$

Moreira e Araujo (2013) observaram que todos os 127 isolados rizosféricos de eucalipto analisados apresentaram resultado positivo para a produção de auxinas, dos quais 85% produziram quantidades entre 4-8mg.mL<sup>-1</sup>, valores muito acima dos encontrados em todos os outros trabalhos já citados.

Tabela 02: Produção de AIA por isolados de *Bacillus* sp. obtidos da rizosfera de alho

<b>Isolados</b>	<b>AIA(µg. mL<sup>-1</sup>)</b>
*EB01	10,85 d
*EB02	9,68 d
EB03	12,23 d
*EB04	6,13 e
*EB05	19,03 c
EB06	13,47 d
*EB07	11,03 d
EB08	12,67 d
*EB09	6,54 e
*EB10	15,27 d
*EB11	2,70 f
*EB12	8,85 e
EB13	6,36 e
EB14	<b>24,3 b</b>
*EB15	<b>34,28 a</b>
*EB16	14,16 d
EB17	17,26 c
EB18	13,01 d
EB19	4,11 f
EB20	9,91 d
EB21	7,56 e
EB22	3,05 f
*EB23	19,03 c
EB24	12,54 d
*EB25	5,85 e
*EB26	8,55 e
EB27	12,91 d
Controle	0,00 g

Fonte: O autor

Notas: AIA - produção de ácido indol acético.

Os resultados mais significativos são destacados. Valores com letras iguais nas colunas, não diferem estatisticamente.

\* *Bacillus* sp. identificado por sequenciamento 16SRNAr

Florentino et al (2017) observaram a eficácia de cepas bacterianas diazotróficas em relação a produção de AIA. Observando valores entre 3,99 e 46,97 $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e que o maior valor obtido em uma das cepas foi estatisticamente igual ao controle, *Azospirillum brasiliensis*, pois essa estirpe tem comprovadamente a capacidade de produzir AIA, sendo então um controle positivo para comparação com os demais isolados testados. Segundo os autores, essa variação nos resultados obtidos está de acordo com os encontrados em outros trabalhos, que demonstraram a alta variabilidade na capacidade de produzir esse fitormônio por isolados bacterianos.

Segundo Ribeiro (2010), as auxinas que são sintetizadas pelas rizobactérias afetam o sistema radicular das plantas, de modo a aumentar seu tamanho, número de ramificações de raízes secundárias, o que possibilita que a área explorada pelas raízes seja maior, o que implicaria na quantidade de nutrientes a ser absorvido pela planta.

As auxinas, quando aplicadas exogenamente proporcionam maior porcentagem, velocidade, uniformidade e qualidade no enraizamento. Além disso, outros processos fisiológicos, como fototropismo, dominância apical, diferenciação vascular e desenvolvimento de flores e frutos, são controlados pela ação das auxinas (ORI, 2006), o que evidencia a importância dos microrganismos com capacidade de fornecer esse fitormônio, ou seus precursores à planta.

Algumas rizobactérias são dependentes do triptofano para síntese de AIA. No solo, essa carência é suprida por exsudados das raízes, pois este aminoácido é um precursor fisiológico para a produção de auxina em diversas plantas e microrganismos (LEMOS, 2009). Por esse motivo há a necessidade da suplementação desse composto no meio de cultura, quando estudada *in vitro* a capacidade dos isolados em produzir AIA. Este foi o caso desse trabalho apresentado, em que foi feita a suplementação desse aminoácido no meio de cultura onde as bactérias cresceram.

A influência do triptofano pode ser analisada no trabalho de Florentino et al (2017), em que os autores observaram que a presença ou não desse aminoácido pode influenciar na produção de AIA. Porém, também deixaram claro que existem microrganismos que independem da presença desse composto para produção de AIA, mas que sua presença incrementa a síntese de ácido indol acético.

Figura 1: Análise qualitativa para produção de AIA *in vitro*.



Fonte: O autor

## 4.2 MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE EFEITO INDIRETO.

### 4.2.1 Produção de enzimas extracelulares

Para os testes de quitinase e protease, a metodologia aplicada não apresentou resultados para produção dessas duas enzimas extracelulares, mas a literatura já apresenta trabalhos que mostram a eficiência do gênero *Bacillus* em produzir tais enzimas (SOARES, 2016; COSTA et al., 2010, NASCIMENTO, 2005).

A quitinase é uma enzima que pode ser encontrada em insetos, crustáceos, fungos e bactérias. A função que essa enzima possui é variada em cada organismo, mas trabalhos já demonstraram que alguns microrganismos capazes de fazer a síntese dessa enzima, também são capazes de controlar insetos e fungos fitopatogênicos, dentre eles o gênero *Bacillus* vêm ganhando destaque (SOARES, 2016; FLEURI, SATO, 2005).

Segundo Carvalho (2017), o gênero *Bacillus* spp. possui a capacidade de produzir proteases que destroem a cutícula dos nematoides, tendo então uma atividade nematicida e diversos trabalhos já demonstraram a efetividade no controle desses indivíduos.

Mesmo que os isolados analisados neste trabalho não tenham apresentado resultados positivos para tais testes, sabe-se a importância que a presença e atividade dessas enzimas possuem no controle biológico de pragas e doenças.

#### 4.2.1.1 Produção de lipases

Dos 27 isolados de *Bacillus*, 18 (67%) apresentaram a capacidade de produzir enzimas extracelulares que fazem a degradação de lipídeos (Tabela 03). A presença das pontuações fluorescentes (Figura 2A e 2B) é um indicativo positivo da produção dessas enzimas, como descrito por Torquato et al. (2016)

Nos fungos, a parede celular pode ser composta por polissacarídeos, proteínas, lipídeos, quitina e celulose, assim como sua membrana celular apresentam uma camada dupla de fosfolipídios e um arranjo de proteínas envoltas por uma bicamada lipídica. Nos fungos, o componente lipídico que predomina é o ergosterol (esterol não polar), que é responsável por características importantes como estrutura, permeabilidade e modulação da fluidez. Sua ausência pode provocar alterações na permeabilidade da membrana plasmática e inibição do crescimento, além disso, ele pode estar envolvido na regulação da síntese de quitina (LOGUERCIO-LEITE et al, 2006).

São poucos os materiais que evidenciam a efetividade das lipases no controle biológico, mas sabe-se que a parede fúngica contém lipídeos e proteínas, de forma que o antagonista deve produzir enzimas que tenham atividade sobre essas estruturas (CARISSIMI, 2006). No presente trabalho, alguns dos isolados que possuem a capacidade de sintetizar enzimas que fazem a degradação de lipídeos também apresentaram a capacidade de inibir o desenvolvimento do fungo *Sclerotium cepivorum*, causador da doença podridão branca no alho.

Luz (2014) observou que dos 46 microrganismos isolados de água, briófitas, solo, terra de cupinzeiro, folhas, caule de árvore e bromélias, uma área com vegetação densa do Parque Estadual Serra do Ouro Branco, localizado no município de Ouro Branco/MG, 54% apresentaram resultados positivos para a produção de lipases em pelo menos um dos métodos utilizados. Cinquenta por cento produziram halo quando em meio contendo Tween® 80 e 22% apresentaram halo fluorescente, quando em meio contendo Rodamina B.

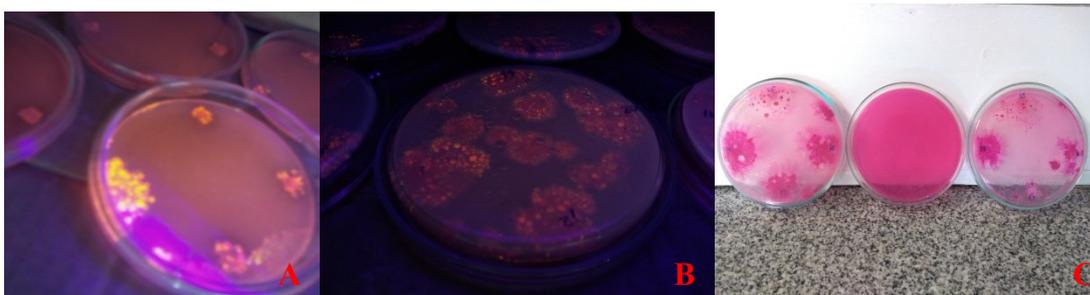
Lima (2004) ao analisar a capacidade de cepas bacterianas em produzir lipases em meio sólido, descobriu que todas as 11 analisadas apresentaram resultados positivos. Todas eram pertencentes ao gênero *Bacillus*, com destaque para a cepa LTEB11, que havia sido isolada a partir de uma contaminação em meio de cultura. A partir de testes bioquímicos e sequenciamento do rRNA 16S, essa foi identificada como *Bacillus megaterium*.

Apesar da literatura ainda ser escassa sobre a utilização de lipases bacterianas no controle de pragas e doenças, já sabe-se que o uso de fungos entomopatogênicos com capacidade de produzir extracelularmente lipases é crescente, uma vez que essas enzimas

podem ser utilizadas já que apresentam a capacidade de romper a cutícula do seu hospedeiro (ERTHAL JUNIOR, 2011; MORA, CASTILO, FRAGA, 2016),

A proporção entre bactérias e fungos presentes no ambiente é grande, evidenciando a capacidade que tais organismos podem apresentar como uma alternativa para controle de fitopatógenos (LAMBAIS et al. 2005, NICOLAU, 2016).

Figura 2: Lipase extracelular



Fonte: O autor

Notas: 2A e 2B: Pontos fluorescentes na placa; 2C: Degradação da Rodamina B.

#### 4.2.1.2 Urease

Dos 27 isolados estudados, apenas nove (33%) não apresentaram a capacidade de sintetizar extracelularmente enzimas que fazem a hidrólise da ureia (urease) (Figura 3). O resultado foi semelhante foi encontrado por Madureira et al. (2014), em que os autores observaram que cinco isolados da rizosfera de bananeira Prata – Anã, de um total de dez, tiveram resultado positivo para urease, sendo esses pertencentes ao gênero *Bacillus*. Os demais isolados, dois foram identificados como *Bacillus* sp. com incapacidade de produção da enzima urease e três foram identificados como *Paenibacillus lentimorbus*, sendo que dois possuíam a capacidade de degradar a ureia presente no meio.

Figura 3: Resultado positivo para teste de urease.



Fonte: O autor

Wen et al. (2015) observaram a existência de uma relação positiva entre microrganismos urease positivos e a aplicação de ureia no controle de nematoides da espécie *Meloidogyne javanica* em seu estado juvenil. Para os autores essa relação positiva se deu pela ação nematicida que essa urease apresentou, tanto no solo quando produzida por tais microrganismos. Dos 25 isolados analisados por Wen et al. (2015), dois foram classificados como pertencentes ao gênero *Bacillus*, por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA.

A urease oriunda de vegetais já foi testada, avaliando sua capacidade de inibir o crescimento de fungos filamentosos e leveduras. Obteve-se um resultado positivo, afetando fungos fitopatogênicos, como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Penicillium hergueli*, *Colletotrichum* spp., entre outros (POSTAL, 2012).

Essa inibição se deu pela inibição da multiplicação celular, indução de alterações morfológicas com a formação de pseudo-hifas, alterações na cadeia transportadora de H<sup>+</sup>, metabolismo energético, permeabilização de membranas, podendo levar a morte celular (POSTAL, 2012).

Além da inibição do desenvolvimento de fungos, Folmer et al. (2004), citam em seu trabalho que uma isoforma de urease vegetal (castanha) apresentou propriedades biológicas independentes da sua atividade ureolítica, além de possuir atividade inseticida, sugerindo que essa enzima pode estar envolvida nesse processo de defesa vegetal.

A urease é uma enzima extracelular produzida por microrganismos do solo, sendo essa responsável pela hidrólise da ureia, originando amônio, bicarbonato e hidroxilas. Esse amônio pode ser absorvido pelas plantas, que de modo geral, no início do seu desenvolvimento tem preferência por essa forma, além da absorção pelas plantas, de acordo com as condições ambientais, esse íon pode ser imobilizado pelos microrganismos, adsorvido nos

argilominerais ou ser oxidado a nitrato (FRAZÃO et al., 2014; TASCA et al., 2011; LANNA et al., 2010).

Pelos trabalhos apresentados anteriormente, evidencia-se que essa enzima possui dupla aplicação, podendo ser um mecanismo contra patógenos, além de fornecer nitrogênio para as plantas, favorecendo seu desenvolvimento. Por isso, se tem a necessidade de analisar a capacidade que os microrganismos possuem em sintetizar essa enzima, para que estudos mais detalhados sobre suas aplicações sejam efetuados.

Tabela 03: Produção de enzimas extracelulares por isolados de *Bacillus* sp. obtidos de rizosfera de alho.

<b>Isolados</b>	<b>Lipase</b>	<b>Urease</b>	<b>Quitinase</b>	<b>Protease</b>
*EB01	+	+	-	-
*EB02	+	-	-	-
EB03	+	-	-	-
*EB04	+	+	-	-
*EB05	+	+	-	-
EB06	+	-	-	-
*EB07	+	-	-	-
EB08	+	-	-	-
*EB09	+	+	-	-
*EB10	+	+	-	-
*EB11	+	+	-	-
*EB12	+	+	-	-
EB13	+	-	-	-
EB14	+	-	-	-
*EB15	+	+	-	-
*EB16	-	+	-	-
EB17	+	+	-	-
EB18	-	+	-	-
EB19	-	+	-	-
EB20	-	+	-	-
EB21	-	-	-	-
EB22	-	-	-	-
*EB23	+	+	-	-
EB24	-	+	-	-
*EB25	-	+	-	-
*EB26	-	+	-	-
EB27	+	+	-	-
Controle	-	-	-	-

Fonte: O autor

Nota: \* *Bacillus* sp. identificado por sequenciamento 16SRNAr

### 4.3 CAPACIDADE DE INIBIÇÃO DE *Sclerotium cepivorum* POR ISOLADOS DE *Bacillus* sp. *in vitro*

#### 4.3.1 Inibição do *Sclerotium cepivorum in vitro*

O ensaio de antibiose qualitativa mostrou que 13 (48%) dos isolados apresentaram inibição do crescimento de *Sclerotium cepivorum in vitro* (Figura 4). A análise quantitativa do grau de inibição (GI) não revelou diferença entre os tamanhos dos halos, sugerindo grau de inibição homogêneo entre os isolados selecionados (Tabela 04).

Tabela 04: Inibição do fungo *Sclerotium cepivorum in vitro* por isolados de *Bacillus* sp. obtidos de rizosfera de alho.

<b>Isolados</b>	<b>GI (%)</b>
*EB01	<b>12,72 a</b>
*EB02	0,00 b
EB03	0,00 b
*EB04	0,00 b
*EB05	0,00 b
EB06	0,00 b
*EB07	0,00 b
EB08	0,00 b
*EB09	0,00 b
*EB10	0,00 b
*EB11	0,00 b
*EB12	0,00 b
EB13	<b>12,96 a</b>
EB14	0,00 b
*EB15	<b>8,98 a</b>
*EB16	0,00 b
EB17	<b>21,23 a</b>
EB18	<b>27,44 a</b>
EB19	<b>16,54 a</b>
EB20	<b>13,57 a</b>
EB21	<b>32,69 a</b>
EB22	<b>24,04 a</b>
*EB23	0,00 b
EB24	<b>19,11 a</b>
*EB25	<b>32,48 a</b>
*EB26	<b>17,18 a</b>
EB27	<b>12,00 a</b>
Controle	0,00 b

Fonte: O autor

Notas: GI: Grau de inibição

\* *Bacillus* sp. identificado por sequenciamento 16SRNAr

Valores seguidos de letras iguais na coluna não se diferem estatisticamente

Quase metade da coleção de *Bacillus* apresentou inibição do desenvolvimento do *Sclerotium cepivorum*, sugerindo potencial controle biológico da doença. Essa característica comumente é descrita na literatura para o gênero *Bacillus*. Nascimento (2009) observou controle significativo *in vitro* do desenvolvimento de *Pyricularia grisea* por diferentes espécies de *Bacillus*, chegando próximo de 36% de inibição quando comparada com o controle.

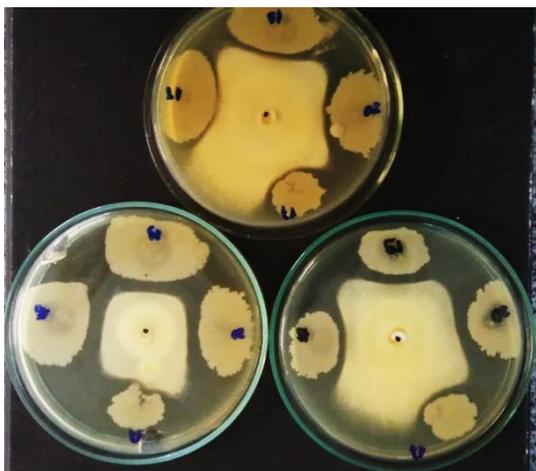
Dorighello (2017) analisou a eficiência de três isolados de *Bacillus* no controle de diferentes fungos fitopatogênicos (*Erysiphe diffusa*, *Podosphaera xanthii*, *S. sclerotiorum*, *P. pachyrhizi*, *F. solani*, *F. oxysporum* f. *Sp. Phaseoli*, *C. lindemuthianum* e *C. cassiicola*). Os três isolados já são produtos comerciais. Os métodos de aplicação foram preventivos (antes do início da doença) e curativos (após o início da doença). O autor observou que a aplicação preventiva dos produtos avaliados reduziu a área de dano foliar causada por *S. sclerotiorum* até 45%. Em *P. pachyrhizi*, os isolados reduziram a gravidade da doença até 96% na aplicação preventiva e 47% na aplicação curativa.

Fuga (2013) relatou que a maioria dos isolados de *Bacillus* spp. *in vitro* (37 dos 46) não inibiu o crescimento do *Sclerotium cepivorum*, mas oito isolados reduziram o crescimento micelial do fungo entre 42,2 e 50,2%. O autor ainda sugeriu que esse resultado foi devido à antibiose, pela produção de metabólitos secundários extracelulares pelos isolados bacterianos com ação antifúngica, que podem ser antibióticos, quitinases, glucanases e outros polipeptídeos.

Fuga (2013) ainda verificou o escurecimento do micélio de *S. cepivorum* na região de influência dos possíveis metabólitos produzidos pelas bactérias. Em microscópio foi possível observar o encurtamento das células e engrossamento das paredes das hifas do patógeno, sugerindo que essas modificações fossem algum mecanismo de defesa do patógeno.

Kumar, Kumar e Pratush (2013), analisaram 92 bactérias isoladas da rizosfera do milho, em Solan, na Índia. Os autores observaram que cinco isolados apresentaram a capacidade de inibir o crescimento de fungos fitopatogênicos (*Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*). Esses isolados (MZPSB16 e MZPS58) foram testados para a produção de enzimas (quitinase, protease e urease) e observaram que os mesmos possuíam a capacidade de sintetizar tais enzimas, as quais são conhecidas por estarem envolvidas no controle de fungos e insetos fitopatogênicos. Mais tarde esses isolados foram identificados como *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas putida*, respectivamente.

Figura 4: Inibição *in vitro* do desenvolvimento de *Sclerotium cepivorum* por *Bacillus* sp.



Fonte: O autor

Observou-se que dos treze isolados que apresentaram inibição ao *S. Cepivorum in vitro*, dez isolados produziram apenas urease, cinco, apenas lipases e quatro produziram lipases e urease (EB13, EB15, EB23 e EB27) (Tabela 4). Entretanto, não é possível relacionar a produção de enzimas extracelulares com a inibição do fungo, pois essas enzimas foram detectadas também nos isolados sem efeito no crescimento fúngico. Isto sugere que outros mecanismos, associados ou não à produção de enzimas extracelulares estejam envolvidos na inibição, sendo necessário aprofundar e ampliar essas análises.

Ao se correlacionar os mecanismos diretos e indiretos testados *in vitro*, observou-se que apenas os isolados EB01, EB15, EB17 e EB27 apresentaram resultados significativos em três das cinco avaliações (Tabela 5). Esta capacidade pode ser importante para seleção de microrganismos promotores e/ou protetores plantas, uma vez que Barretti, Souza e Pozza (2008) descobriram que duas bactérias endofíticas do tomateiro, além de promoverem o crescimento da planta, atuaram também na inibição *in vitro* de *Ralstonia solanacearum*.

Essa multifuncionalidade presente em microrganismos rizosféricos e endofíticos é vista com destaque para a produção de biofertilizantes. Essa multifuncionalidade está associada à fixação de N, solubilização de fosfato, produção de enzimas hidrolíticas (celulases, xilanases, lipases, proteases, pectinases), além de outras características de biocontrole associadas (GOMES et al., 2016).

Tabela 05: Mecanismos de crescimento em *Bacillus in vitro*

Isolados	Lipase	Urease	GI (%)	IS (mm)	AIA(µg/mL)
<b>*EB01</b>	+	+	<b>12,72a</b>	<b>0,00 g</b>	<b>10,85 d</b>
*EB02	+	-	0,00 b	1,41b	9,68 d
EB03	+	-	0,00 b	1,65 a	12,23 d
*EB04	+	+	0,00 b	1,44 b	6,13 e
*EB05	+	+	0,00 b	0,48 e	19,03 c
EB06	+	-	0,00 b	0,86 d	13,47 d
*EB07	+	-	0,00 b	0,86 d	11,03 d
EB08	+	-	0,00 b	0,44 f	12,67 d
*EB09	+	+	0,00 b	0,15f	6,54 e
*EB10	+	+	0,00 b	1,14c	15,27 d
*EB11	+	+	0,00 b	0,37 f	2,70 f
*EB12	+	+	0,00 b	0,54 f	8,85 e
EB13	+	-	12,96 a	0,00 g	6,36 e
EB14	+	-	0,00 b	0,68 f	24,3 b
<b>*EB15</b>	+	+	<b>8,98 a</b>	<b>0,82 d</b>	<b>34,28 a</b>
*EB16	-	+	0,00 b	0,00 g	14,16 d
<b>EB17</b>	+	+	<b>21,23 a</b>	<b>1,37 b</b>	<b>17,26 c</b>
EB18	-	+	27,44 a	0,87 d	13,01 d
EB19	-	+	16,54 a	1,01 d	4,11 f
EB20	-	+	13,57 a	1,14 c	9,91 d
EB21	-	-	32,69 a	0,75 d	7,56 e
EB22	-	-	24,04 a	0,94 d	3,05 f
*EB23	+	+	0,00 b	1,07 d	19,03 c
EB24	-	+	19,11 a	0,00 g	12,54 d
*EB25	-	+	32,48 a	0,00 g	5,85 e
*EB26	-	+	17,18 a	0,00 g	8,55 e
<b>EB27</b>	+	+	<b>12,00 a</b>	<b>1,13 c</b>	<b>12,91 d</b>
Controle	-	-	0,00 b	0,0 0g	0,00 g

Fonte: O autor

Notas:GI(%) Grau de Inibição do desenvolvimento do fungo *S. cepivorum*; IS: Índice de Solubilização de Fosfato; AIA: Produção de Ácido Indol Acético.

\* *Bacillus* sp. identificado por sequenciamento 16SRNAr

Valores seguidos de letras iguais na coluna não se diferem estatisticamente

## 5 CONCLUSÃO

Como promotores de crescimento com mecanismos diretos, teve destaque EB03, EB15 e EB14, com os maiores valores no índice de solubilização de fosfato e na produção de AIA respectivamente. Nos mecanismos indiretos (produção de enzimas extracelulares) juntamente com o controle da podridão branca, tiveram destaque os isolados EB01, EB15,

EB17 e EB27. EB15 e EB17 possuem potencial para promoção de crescimento e/ou proteção de plantas.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, C. S. **Seleção e caracterização de bactérias endofíticas isoladas de plantas de milho com potencial para a biossolubilização de rochas fosfáticas.** 2014. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas, 2014. Disponível em <[https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgca/DISSERTACAO%20CRISIA\(1\).pdf](https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgca/DISSERTACAO%20CRISIA(1).pdf)> Acesso em 15 maio 2019
- AGUIAR, K.P. **Prospecção de bactérias promotoras do crescimento vegetal associadas a vermicompostos.** 2012. 100f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2012. Disponível em <<http://uenf.br/posgraduacao/producao-vegetal/wp-content/uploads/sites/10/2014/08/Kamilla.pdf>> Acesso em 27 maio 2019
- AMARAL, M.B. et al. **Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal: uma revisão de literatura.** XXI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VII Encontro de Iniciação à Docência – Universidade do Vale do Paraíba, 2017. Disponível em <[http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC\\_2017/anais/arquivos/RE\\_0285\\_0242\\_01.pdf](http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2017/anais/arquivos/RE_0285_0242_01.pdf)> Acesso em 11 maio 2019
- ARAUJO, F.F.; PEDROSO, R.A.B. Interação de *Bacillus* sp. Com a rizosfera de três espécies de plantas forrageiras. **Bioesci. J.** v.29, n.1, pg. 152-158, 2013. Disponível em <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/viewFile/11699/11982>> Acesso em: 20 jan. 2017
- ARAUJO, F.F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia.** v.32, n.2, p. 456-462, 2008. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n2/17.pdf>> Acesso em 12 maio 2019
- ARRUDA, L. M. **Seleção e Caracterização de Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Milho Cultivadas no Rio Grande do Sul.** 2012. 58f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012. Disponível em <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/54416/000836657.pdf?sequence=1>> Acesso 15 maio 2019
- BARBOSA, B.B. **O mercado agrícola globalizado: A Crise Na Lavoura De Alho Em Curitibaanos.** 2009?. Disponível em <<http://observatoriogeograficoamericalatina.org.mx/egal12/Geografiasocioeconomica/Geografiaagricola/10.pdf>> Acesso em: 06 abril 2018
- BARRETTI, P.B., SOUZA, P.M., POZZA, E.A. Bactérias endofíticas como agentes promotores do crescimento de plantas de tomateiro e de inibição *in vitro* de *Ralstonia solanacearum*. **Ciênc. agrotec.** v.32, n.3, p.731-739, 2008. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n3/a05v32n3>> Acesso em 11 junho 2019

- BATISTA, B. D. **Promoção de crescimento em milho (*Zea mays* L.) por rizobactérias associadas à cultura do guaranzeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*).** 2012. 129f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas), Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2012. Disponível em < [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11137/tde-25032013-154749/publico/Bruna\\_Durante\\_Batista.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11137/tde-25032013-154749/publico/Bruna_Durante_Batista.pdf)> Acesso em 10 jun. 2018
- BATISTA JUNIOR, C.B. et al. Efeito fungistático de *Bacillus thuringiensis* e de outras bactérias sobre alguns fungos fitopatogênicos. **Pes. Agropec. bras.**, Brasília, v.37, n.8, p 1189-1194, agosto, 2002. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v37n8/11680.pdf>> Acesso em: 12 out. 2016
- BEZERRA, G. A., et al. Uso de *Bacillus* spp. no controle de fitopatógenos em sementes de soja variedade BRS Valiosa RR. **Agrossistemas**. v.5, n.1, p.68-73, 2013. Disponível em < <https://periodicos.ufpa.br/index.php/agroecossistemas/article/viewFile/1414/1824>> Acesso em 27 maio 2019
- BORTOLOTTI, V. L. **Produção de sideróforos e hormônios de crescimento vegetal do tipo ácido indolacético por bactérias diazotróficas provenientes de nódulos de *Mimosa* spp. em solos ultramáficos.** 2014. 97f. Trabalho de Conclusão de Curso (Gestão Ambiental). Universidade Tecnológica no Paraná, Medianeira, 2014. Disponível em <[http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/4622/1/MD\\_COGEA\\_2014\\_1\\_02.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/4622/1/MD_COGEA_2014_1_02.pdf)> Acesso em 27 maio 2019
- BRAGA JUNIOR, G.M. **Eficiência de *Bacillus subtilis* no biocontrole de fitopatógenos e promotor de crescimento vegetal.** 2015. 87f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2015. Disponível em < <http://www.uft.edu.br/producaovegetal/dissertacoes/GASPAR%20MOREIRA%20BRAGA%20JUNIOR.pdf>> Acesso 11 maio 2019
- BRAGA JUNIOR, G. M. et al. Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* *in vitro*. **Biota Amazônia**. v.7, n.3, p.45-51, 2017. Disponível em < <https://periodicos.unifap.br/index.php/biota/article/download/2273/v7n3p45-51.pdf>> Acesso 15 maio 2019
- CARISSIMI, M. **Estudo da atividade antifúngica de *Bacillus* E164 contra *Bipolaris sorokiniana*.** 2006. 81f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006. Disponível em < <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/8791> > Acesso em 14 maio 2019
- CARVALO, P.H. **Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em tomateiro.** 2017.98f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade de Brasília. Brasília, Distrito Federal, 2017. Disponível em < [http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/23402/1/2017\\_Patr%C3%ADciaHonoratodeCarvalho.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/23402/1/2017_Patr%C3%ADciaHonoratodeCarvalho.pdf)> Acesso em 28 maio 2019
- CARVALHO, D.D.C.; OLIVEIRA, D.F., PASQUAL, M.; CAMPOS, V.P. Rizobactérias produtoras de promotores do crescimento de plantas. **Pesq. Agropec. Trop.** v. 39, n.4, pg. 338-341, 2009. Disponível em< <https://www.revistas.ufg.br/pat/article/viewFile/3947/5899>> Acesso em: 20 jan.2017
- CHAGAS JUNIOR, A.F.; OLIVEIRA, L.A.; OLIVEIRA, A.N.; WILLERDING, A.L. Capacidade de solubilização de fosfatos e eficiência simbiótica de rizóbio isolados de solos da

Amazônia. **Acta Scientiarum Agronomy**. v.32, n.2, p.359-366, 2010. Disponível em <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/3185/3185>> Acesso em: 14 dez.2017.

COELHO, L.F.; FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; AMBROSANO, G.M.B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira Ciência do Solo**. v.31, pg. 1413-1420, 2007. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v31n6/18.pdf>> Acesso em: 20 jan.2017

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Conjuntura mensal: dezembro 2017**. Disponível em <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-alho>> Acesso 11 maio 2019

CORRÊA, E. B.; BETTIOL, W.; SUTTON, J.C. Controle biológico da podridão radicular (*Pythium aphanidermatum*) e promoção de crescimento por *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 e *Bacillus subtilis* GB03 em alface hidropônica. **Summa Phytopathol.**, v.36, n.4, p.275-281., 2010. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v36n4/a01v36n4.pdf>> Acesso em: 12 out.2016

COSTA, H. S. **Rizobactérias promotoras do crescimento de mudas de *Theobroma cacao* L.** 2007. 123f. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Federal do Amazonas, 2007. Disponível em <<https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/3098/1/Heron%20Salazar%20Costa.pdf>> Acesso em 27 maio 2019

COSTA, J.R.V., et al. Atividade tóxica de isolados de *Bacillus thuringiensis* a larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**. v.35, n.5, p.757-766, 2010. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/ne/v39n5/15.pdf>> Acesso em 28 maio 2019

COVE, D. J. The induction and repression of nitrate reductase in the fungus *Aspergillus nidulans*. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 113, p. 51-56, 1966.

DIAZ, P.A.E. ***Bacillus* spp. Como promotores de crescimento na cultura do algodão.** 2018. 61f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária). Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, 2018. Disponível em <[https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/153201/diaz\\_pae\\_me\\_jabo.pdf?sequence=3](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/153201/diaz_pae_me_jabo.pdf?sequence=3)> Acesso em 11 maio 2019

DOMINGOS, L.B. **Indutores de germinação de escleródios e uso de fungicidas no manejo de *Sclerotium cepivorum*.** 2015. 47f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Campus Rio Paranaíba, Minas Gerais), 2016. Disponível em <<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7792/texto%20completo.pdf?sequence=1>> Acesso em: 06 abril 2018

DORIGHELLO, D.V. **Versatilidade de *Bacillus* spp. no controle biológico de doença de plantas e na promoção de crescimento de soja.** 2017. 136f. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas). Botucatu, 2017. Disponível em <[https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/151203/dorighello\\_dv\\_dr\\_bot.pdf?sequence=3&isAll](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/151203/dorighello_dv_dr_bot.pdf?sequence=3&isAll)> Acesso em 13 dez. 2018

EPAGRI. **Orientações técnicas para a produção de alho em Santa Catarina.** Florianópolis, 2002. 54p. (Epagri, Sistemas de Produção, 42).

EPAGRI. **Custos alho**. Disponível em

<[http://docweb.epagri.sc.gov.br/website\\_cepa/custos/Maio\\_2017/Custo\\_Alho\\_maio\\_2017.xls](http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_cepa/custos/Maio_2017/Custo_Alho_maio_2017.xls)> Acesso em 11 maio 2019

ERTHAL JUNIOR, M. **Controle biológico de insetos pragas**. Seminário Mosaico

Ambiental: Olhares sobre o Ambiente, Campos dos Goytacazes, 2011. Disponível em

<<http://www.essentiaeditora.iff.edu.br/index.php/sMosaicoAmbiental/article/download/2180/1243>> Acesso em 13 maio 2019

FLEURI, L.F.; SATO, H.H. Produção, purificação, clonagem e aplicação de enzimas líticas.

**Química Nova**. v.28, n.5, p.871-879, 2005. Disponível em <

<http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/93197/1/2-s2.0-30744472614.pdf>> Acesso 28 maio 2019

FLORENTINO, L.A. et al. Inoculação de bactérias produtores de ácido 3-indol acético em plantas de alface (*Lactuca sativa* L).

**Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**. v.11, n.1, p. 89-96, 2017. Disponível em <<http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v11n1/2011-2173-rcch-11-01-00089.pdf>> Acesso em 13 dez. 2018

FOLMER, C. et al. Jeackbean, soybean and *Bacillus pasteurii* ureases Biological effects

unrelated to ureolytic activity. **Eur. J. Biochem**. V.271, p.1357-1363, 2004. Disponível em <

<https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1432-1033.2004.04046.x>> Acesso em 28 maio 2019

FRAZÃO, J.J. et al. Fertilizantes nitrogenados de eficiência aumentada e ureia na cultura do

milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.18, n.12, p.1262-1267,

2014. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v18n12/a09v18n12.pdf>> Acesso em 14 maio 2019

FUGA, C.A.G. **Prospecção de microrganismos e substâncias de origem vegetal para o controle de *Sclerotium cepivorum***. 2013.52f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal).

Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, 2013. Disponível em

<<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/2039/texto%20completo.pdf?sequence=1>> Acesso em 12 maio 2019

GRAÇAS, J.P. et al. **Microrganismos estimulantes na agricultura**. Piracicaba, 2015.

Disponível em

<<http://www4.esalq.usp.br/biblioteca/sites/www4.esalq.usp.br/biblioteca/files/publicacoes-a-venda/pdf/SPR59.pdf>> Acesso em: 06 abril 2018

GIEHL, A. L., et al. **Boletim Agropecuário nº 61**. Centro de Socioeconomia e Planejamento

Agrícola/EPAGRI. 2018. 47f. Florianópolis, 2018. Disponível em <

[http://docweb.epagri.sc.gov.br/website\\_cepa/Boletim\\_agropecuário/boletim\\_agropecuário\\_n61.pdf](http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_cepa/Boletim_agropecuário/boletim_agropecuário_n61.pdf)> Acesso em 27 maio 2019

GOMES, E.A., et al. **Microrganismos Promotores do Crescimento de Plantas**. 2016, 51p.

Embrapa Milho e Sorgo, 2016. Disponível em

<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/161283/1/doc-208.pdf>> Acesso em 11 junho 2019

GUERREIRO, R. T. **Seleção de *Bacillus* spp. promotores de crescimento de milho**. 2008.

55f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade do Oeste Paulista. Presidente

Prudente, 2008. Disponível em <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp087415.pdf>> Acesso em 12 maio 2019

HARTMANN, O. E., et al. Tratamento de sementes com rizobactérias na produção de cebola. **Ciência Rural**. v.39, n.9, p.2533-2538, Santa Maria, 2009. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v39n9/a380cr1295.pdf>> Acesso em 27 maio 2019

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) **Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes**. 2016 Disponível em <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=766>> Acesso em: 16 abril 2018

INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATATINA. **Estudo de economia e mercado de produtos agrícolas, 3. Alho**. Janeiro 1996. Disponível em <[http://docweb.epagri.sc.gov.br/website\\_cepa/publicacoes/ALHO.pdf](http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_cepa/publicacoes/ALHO.pdf)> Acesso em 11 maio 2019

KARPAGAM, T., NAGALAKSHMI, K. Isolation and characterization of Phosphate Solubilizing Microbes from Agricultural soil. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. v.3, n.3, p.601-314, 2014. Disponível em <<https://www.ijcmas.com/vol-3-3/T.Karpagam%20and%20P.%20K.%20Nagalakshmi.pdf>> Acesso em 28 maio 2019

KUMAR, A., KUMAR, A., PRATUSH, A. Phosphate Solubilizing Bacterial Diversity From The Rhizospheric Soils of Sub-Temperate Region of Himachal Pradesh. **Vegetos**. v.26, n.1, p.143-150, 2013. Disponível em <[https://www.researchgate.net/publication/272866595\\_Phosphate\\_Solubilizing\\_Bacterial\\_Diversity\\_From\\_The\\_Rhizospheric\\_Soils\\_of\\_Sub-Temperate\\_Region\\_of\\_Himachal\\_Pradesh](https://www.researchgate.net/publication/272866595_Phosphate_Solubilizing_Bacterial_Diversity_From_The_Rhizospheric_Soils_of_Sub-Temperate_Region_of_Himachal_Pradesh)> Acesso em 28 maio 2019

LAMBAIS, M. R. et al. Diversidade microbiana nos solos: definindo paradigmas. **Tópicos Ciências do Solo**. v.4, p.43-84, 2005, Disponível em <[http://www.esalq.usp.br/departamentos/iso/arquivos\\_aula/LSO%20400%20-%20Lambais%20et%20al%202005%20Diversidade%20Microbiana%20Solos.pdf](http://www.esalq.usp.br/departamentos/iso/arquivos_aula/LSO%20400%20-%20Lambais%20et%20al%202005%20Diversidade%20Microbiana%20Solos.pdf)> Acesso em 27 maio 2019

LANNA, A.C. et al. Atividade de urease no solo com feijoeiro influenciada pela cobertura vegetal e sistemas de platio. **Revista Brasileira Ciência do Solo**. v.34, p.1933-1939, 2010. Disponível em <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27198/1/18.pdf>> Acesso em 14 maio 2019

LAZARETTI & BETTIOL, citado por ARAUJO, F.F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**. v.32, n.2, p. 456-462, 2008. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n2/17.pdf>> Acesso em: 06 jun. 2018

LEÃO, E. U. et al. Potencial *in vitro* de *Bacillus* spp. no controle de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro-comum. **Summa Phytopathol**. v.42, n.4, p.360-362, Botucatu, 2016. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v42n4/0100-5405-sp-42-4-0360.pdf>> Acesso em 27 maio 2019

LEMOS, M. T.O. **Prospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em quatro espécies arbóreas nativas do Brasil**. 2009. 59f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia

Agropecuária). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2009. Disponível em <[https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/94905/lemos\\_mto\\_me\\_jabo.pdf;jsessionid=993CC67D9C8157B263DEEA9ED9670EB8?sequence=1](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/94905/lemos_mto_me_jabo.pdf;jsessionid=993CC67D9C8157B263DEEA9ED9670EB8?sequence=1)> Acesso em 15 maio 2019

LEÔNCIO, M. R. **Isolamento e caracterização de rizobactérias do alho (*Allium sativum*) e promoção de crescimento do milho (*Zea mays*)**. 2015. 32f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2015. Disponível em <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/157128/TCC-mariane-rosa-leoncio-completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em 12 maio 2019

LIMA, V.M.G. **Produção e purificação de lipase de *Bacillus megaterium* e sua aplicação em biocatálise em solventes orgânicos**. 2004. 164f. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004. Disponível em <<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/27980/R%20-%20T%20-%20VALERIA%20MARTA%20GOMES%20DE%20LIMA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em 12 maio 2019

LOGUERCIO-LEITE, C. et al. A particularidade de ser um fungo- I. Constituintes celulares. **Biotemas**. v.19, n.2, p.17-27, 2006 Disponível em <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/viewFile/21201/19172>> Acesso em 13 maio 2019

LONGHI, L.M. **Determinação do coeficiente de cultura (kc) e evapotranspiração da cultura do alho na região do planalto catarinense**. 2013. 24f. Projeto para obtenção de grau em Bacharel no Curso de Ciências Rurais. Universidade Federal de Santa Catarina. 2013. Disponível em <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/117344/Projeto-Luiz%20Marcelo%20Longhi.pdf?sequence=1>> Acesso em: 16 abril 2018

LUZ, B. D. S. **Produção de lipases visando-se aplicações industriais empregando-se micro-organismos selecionados na bioprospecção realizada no Parque Estadual Serra do Ouro Branco/MG**. 2014. 67f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de São João Del-Rei, Ouro Branco, 2014. Disponível em <[https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgtds/DISSERTACOES/Barbara\\_Luz.pdf](https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgtds/DISSERTACOES/Barbara_Luz.pdf)> Acesso em 12 maio 2019

MADUREIRA, L. M. et al. **Avaliação da Produção de Urease por Rizobactérias Isoladas de Raízes de Bananeira**. 2014. Fórum FEPEG. Disponível em <[http://www.fepeg2014.unimontes.br/sites/default/files/resumos/arquivo\\_pdf\\_anais/avaliacao\\_da\\_producao\\_de\\_urease\\_por\\_rizobacterias\\_isoladas\\_de\\_raizes\\_de\\_bananeira.pdf](http://www.fepeg2014.unimontes.br/sites/default/files/resumos/arquivo_pdf_anais/avaliacao_da_producao_de_urease_por_rizobacterias_isoladas_de_raizes_de_bananeira.pdf)> Acesso em 14 maio 2019.

MARCHIORO, L.E.T. **Produção de Ácido Indol Acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio**. 2005. 76f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em <<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/1953/R%20-%20D%20-%20LUIZ%20EDUARDO%20TEDESCO%20MARCHIORO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em: 07 abril 2018

MARRONI, I.V.; GERMANI, J. C. Eficiência de rizobactérias *Bacillus* spp. no controle in vitro de *Macrophomina phaseolina* agente etiológico da podridão de tronco da mamona (*Ricinus communis* L). **Revista Brasileira de Agroecologia**. v.6, n.3, p. 159-197, 2011. Disponível em <[http://orgprints.org/22993/1/Marroni\\_Efici%C3%Aancia.pdf](http://orgprints.org/22993/1/Marroni_Efici%C3%Aancia.pdf)> Acesso em 11 maio 2019

- MELO, F. M. P. **Atividade antifúngica de metabólitos secundários produzidos pelo endófito de mandioca *Bacillus pumilus* MAIIM4a**. 2005.84f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005. Disponível em <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11138/tde-18072005-152305/publico/FlaviaMelo.pdf>> Acesso em 27 maio 2019
- MESQUITA, D. C. M. **Compatibilidade micelial de *Sclerotium cepivorum* e reação de genótipos de alho e cebola à podridão branca**. 2018. 138f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade de Brasília, Brasília, 2018. Disponível em <[http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/32480/1/2018\\_D%C3%A9borahChristinaMoraesMesquita.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/32480/1/2018_D%C3%A9borahChristinaMoraesMesquita.pdf)> Acesso 11 maio 2019
- MONTEIRO, L. **Produção de substâncias bioativas de *Bacillus* spp. contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris***. 2002, 74f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002. Disponível em <[https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/1304/1/arquivo4388\\_1.pdf](https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/1304/1/arquivo4388_1.pdf)> Acesso em 27 maio 2019
- MORA, M. A. E.; CASTILHO, A. M. C.; FRAGA, M. E. Fungos entomopatogênicos: enzimas, toxinas e fatores que afetam a diversidade. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v.18, n.3, p. 335-349, 2016. Disponível em <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev183/rev18312.pdf>> Acesso em 13 maio 2019
- MORAIS, J. **Crise no setor do alho deixa produtores preocupados**. ANAPA (Associação Nacional dos Produtores de Alho). Abril de 2019. Disponível em <<https://anapa.com.br/crise-no-setor-do-alho-deixa-produtores-preocupados/>> Acesso em 27 maio 2019
- MOREIRA, A.L. L; ARAUJO, F.F. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Revista Árvore**. v.37, n.5, p.933-943, 2013. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rarv/v37n5/16.pdf>> Acesso em 15 março 2018
- NASCIMENTO, W.C.A. **Estudo sobre a secreção de protease por *Bacillus* sp. SMIA-2 e sua compatibilidade com detergentes comerciais**. 2005. 96f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2005. Disponível em <[http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/PRODVEGETAL\\_3434\\_1189625957.pdf](http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/PRODVEGETAL_3434_1189625957.pdf)> Acesso em 28 maio 2019
- NASCIMENTO, I.O. **Isolamento, identificação e seleção de *Bacillus* spp para o biocontrole de fitopatógenos do arroz**. 2009. 109f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia). São Luís 2009. Disponível em <<http://www.agroecologia.uema.br/wp-content/plugins/download-attachments/includes/download.php?id=543>> Acesso em 20 jun. 2017
- NICOLAU, P. B. **Microrganismos e ambiente: ar e água, solo e extremos**. Universidade Aberta, 2010, Disponível em <[https://repositorioaberto.uab.pt/bitstream/10400.2/6135/1/UT4\\_Microrganismos%20e%20Ambiente.pdf](https://repositorioaberto.uab.pt/bitstream/10400.2/6135/1/UT4_Microrganismos%20e%20Ambiente.pdf)> Acesso em 27 maio 2019

NASCIMENTO, W.M.; PEREIRA, R.B. **Hortaliças de propagação vegetativa: tecnologia de multiplicação**. EMBRAPA, Brasília, 2016. Disponível em <<https://cporgsc.files.wordpress.com/2011/10/hortaliccca7as-de-propagacao-vegetativa.pdf>> Acesso em: 16 abril 2018

NOSOLINE, S. M. **Prospecção e caracterização de rizobactérias de feijão-caupi cultivados no estado do Rio de Janeiro**. 2016. 143f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2016. Disponível em < [http://uenf.br/posgraduacao/producao-vegetal/wp-content/uploads/sites/10/2016/11/Tese\\_Sumaya\\_final\\_14\\_11\\_16.pdf](http://uenf.br/posgraduacao/producao-vegetal/wp-content/uploads/sites/10/2016/11/Tese_Sumaya_final_14_11_16.pdf)> Acesso em 27 maio 2019

OLIVEIRA, A. L.M., URQUIAGA, S., BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. EMBRAPA, 2003. Disponível em < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/624875/1/doc161.pdf>> Acesso em 11 maio 2019

OLIVEIRA, N. A., et al. Enzimas hidrolíticas extracelulares de isolados de rizóbios nativos da Amazônia Central, Amazonas, Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.26, n.4, p.853-860, 2006. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n4/21.pdf>> Acesso em 01 abril 2019

OLIVEIRA, Z.M. **Rizobacterias promotoras de crescimento vegetal isoladas de cana-de-açúcar sob fertilização orgânica e/ou convencional**. 2009. 165f. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009. Disponível em < <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42132/tde-02022010-095232/pt-br.php> > Acesso em 15 jun. 2018

OLIVEIRA, J. T. C. **Caracterização fisiológica e genética de bactérias potencialmente diazotróficas associadas a capim braquiária**. 2012. 143f. Dissertação de Mestrado. Garanhuns, 2012. Disponível em <<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/bitstream/tede2/6118/2/Joao%20Tiago%20Correia%20Oliveira.pdf>> Acesso em 13 dez. 2018

ORI, S. S. **Influência das auxinas no desenvolvimento e teor de carboidratos solúveis, amido e proteína total solúvel em *Phalaenopsi amabilis* (Lineu) Blume (Orchidaceae) cultivada *in vitro***. 2006. 133f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo. 2006. Disponível em <[http://arquivos.ambiente.sp.gov.br/pgibt/2013/10/Sandra\\_Saiury\\_Ori\\_MS.pdf](http://arquivos.ambiente.sp.gov.br/pgibt/2013/10/Sandra_Saiury_Ori_MS.pdf)> Acesso 15 maio 2019

PEREIRA, J.C. **Interações entre as populações de Actinomicetos e outros organismos na rizosfera**. EMBRAPA, Seropédica, 2000. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/598757/1/doc118.pdf>> Acesso em: 16 abril 2018

PEREIRA, R.B.; REIS, A.; OLIVEIRA, V.R.; RESENDE, F, V. **Podridão branca: uma ameaça à produção de alho e cebola**. Embrapa. 2013. Disponível em <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/958337/podridao-branca-uma-ameaca-a-producao-de-alho-e-cebola>> Acesso em: 14 dez.2017

POSTAL, M. **Propriedades antifúngicas da urease de *Canavalia ensiformis***. 2012. 111f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012. Disponível em <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/69697/000869756.pdf?sequence=1>> Acesso 15 maio 2019

RADONS, A. F.S. **Avaliação da aplicação de *Bacillus subtilis* na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.)** 2016. 30f. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia). Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. 2016. Disponível em <<http://bibliodigital.unijui.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4178/AI%C3%A9cio%20Fernando%20Schulz%20Radons.pdf?sequence=1>> Acesso em 27 maio 2019

RATZ, R. J., et al. Potencial biotecnológico de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de milho e soja. **Engevista**. v.19, n.4, p.890-905, 2017. Disponível em <<http://www.engenharia.uff.br/files/docs/Engevista19x04/61.pdf>> Acesso em 11 maio 2019

REIS, A. Podridão Branca do Alho e da Cebola. **Nosso Alho**. n.11, julho de 2011. Disponível em <[http://anapa.com.br/wp-content/uploads/2017/01/Nosso\\_Alho\\_N11.pdf](http://anapa.com.br/wp-content/uploads/2017/01/Nosso_Alho_N11.pdf)> Acesso em 27 maio 2019

RESENDE, F.V., HABER, L.L., PINHEIRO, J.B. **A cultura do alho**. s.a, 35f. Embrapa. Disponível em <<https://www.embrapa.br/documents/1355126/9124396/Sistema+de+Produ%C3%A7%C3%A3o+de+Alho/64258d94-6bb8-4826-a0e9-ece47aa434ff>> Acesso em 11 junho 2019

RIBEIRO, C. I. **Isolamento, seleção e caracterização de rizobactérias com potencial para promoção do crescimento em *Araucaria angustifolia***. 2010. 99f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade de São Paulo. 2010. Disponível em <[http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11138/tde-20102010-105528/publico/Carlos\\_Ribeiro.pdf](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11138/tde-20102010-105528/publico/Carlos_Ribeiro.pdf)> Acesso 15 maio 2019

SILVA, J.T. ***Azospirillum brasiliense* e *Bacillus subtilis* solubilizadores de fósforo em mudas de eucalipto**. 2017. 55f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2017. Disponível em <[https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/152278/silva\\_jt\\_me\\_jabo.pdf.pdf?sequence=3](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/152278/silva_jt_me_jabo.pdf.pdf?sequence=3)> Acesso em 10 fev. 2018

SILVA FILHO, G.N., NARLOCH, C., SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.37, n.6, p.847-854, 2002. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v37n6/10562.pdf>> Acesso e 28 maio 2019

SILVA, N. Análise do resultado financeiro do cultivo de alho: Estudo em Propriedades Rurais de Pequeno Porte em Curitiba- SC. **Revista do CCEI**. v.22, n.37, 2017. Disponível em <[http://revista.urcamp.tche.br/index.php/Revista\\_CCEI/article/view/117/pdf\\_65](http://revista.urcamp.tche.br/index.php/Revista_CCEI/article/view/117/pdf_65)> Acesso em 11 maio 2019

SIQUEIRA, A.C., REIS, J. M. R. **Controle químico de *Sclerotium cepivorum* no alho**. 8º Congresso Mineiro de Inovações Agropecuárias (COMEIA), 2015. Disponível em <[http://comeia.unipam.edu.br/documents/1598177/0/CONTROLE+QU%C3%8DMICO+DE+Sclerotium+cepivorum+NO+ALHO\\_Agronomia.pdf/a0de3f85-aa9a-4628-8d92-4c031462aef3](http://comeia.unipam.edu.br/documents/1598177/0/CONTROLE+QU%C3%8DMICO+DE+Sclerotium+cepivorum+NO+ALHO_Agronomia.pdf/a0de3f85-aa9a-4628-8d92-4c031462aef3)> Acesso em 11 maio 2019

- SOARES, E.S. **Identificação e seleção de bactérias produtoras de quitinases**. 2016. 71f Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2016. Disponível em <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/6349/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Enio%20Saraiva%20Soares%20-%202016.pdf>> Acesso em 28 maio 2019
- SOTTERO, A.N.; FREITAS, S.S.; MARCHI, A.; MELO, T.; TRANI, P.E. Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira Ciência do Solo**. v.30, p. 225-234, 2006. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v30n2/a04v30n2.pdf>> Acesso em: 12 out.2017
- SOUCHIE, E.L., ABBOUD, A. C. S., CAPRONI, A. L. Solubilização de fosfato *in vitro* por microrganismos rizosféricos de guandu. **Bioscience Journal**. v.23, n.2, p.53-60, 2007. Disponível em <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/download/6618/4351/>> Acesso em 28 maio 2019
- SOUZA, R. J.; MACÊDO, F. S. **Cultura do alho: tecnologias modernas de produção**. Editora UFLA, 2009, 181p.
- STROSCHEIN, M.R.D., et al. **Prospecção de bactérias promotoras de crescimento**. I Congresso Brasileiro de Microbiologia Agropecuária, Agrícola e Ambiental (CBMAAA), Jaboticabal, 2016. Disponível em <<http://www.citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/viewFile/633/pdf>> Acesso em 10 fev. 2018
- TASCA, F.A. et al. Volatilização de amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de urease. **Revista Brasileira Ciência do Solo**. v.35, p.493-502, 2011. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v35n2/v35n2a18.pdf>> Acesso em 14 maio 2019
- TORQUATO, E. C. C., et al. Bioprospecção de cepas ambientais com atividade lipolítica. **Acta Scientiae & Technicae**. v.4, n.1,2016. Disponível em <[www.uezo.rj.gov.br/ojs/index.php/ast/article/view/125/90](http://www.uezo.rj.gov.br/ojs/index.php/ast/article/view/125/90)> Acesso em 23 mar. 2019
- VAZ, L. A. **Estirpes de *Bacillus thuringiensis* como promotoras de crescimento vegetal e no controle de pragas em diferentes culturas**. 2014. 93f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade de Brasília, Brasília, 2014. Disponível em <[http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/16434/1/2014\\_LuizaArleteVaz.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/16434/1/2014_LuizaArleteVaz.pdf)> Acesso em 11 maio 2019
- VIEIRA JUNIOR, J. R., et al. **Rizobactérias como agentes de controle biológico e promotores de crescimento de plantas**. EMBRAPA, 2013. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1018841/1/doc155rizobacterias.pdf>> Acesso em 15 jun 2018
- ZUCARELI, C., et al. Associação de fosfatos e inoculação com *Bacillus subtilis* e seu efeito no crescimento e desempenho produtivo do feijoeiro. **Revista Ceres**. v.65, n.2, p.189-195, 2018. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rceres/v65n2/0034-737X-rceres-65-02-189.pdf>> Acesso em 27 maio 2019