

INOCULAÇÃO DE SEMENTES COM *Bacillus subtilis*, FORMULADO COM FARINHA DE OSTRAS E DESENVOLVIMENTO DE MILHO, SOJA E ALGODÃO

Seed inoculation with *Bacillus subtilis*, formulated with oyster meal and growth of corn, soybean and cotton.

Fabio Fernando de Araujo¹

RESUMO

Bacillus subtilis, bactéria habitante natural do solo, produz antibióticos, enzimas e fitohormônios que proporcionam benefícios para as plantas. Essa espécie microbiana é também descrita como rizobactéria promotora de crescimento de plantas (RPCP). Sementes de milho, algodão e soja foram inoculadas com células de *B. subtilis* formulado com farinha de ostras objetivando-se avaliar a emergência e o desenvolvimento das plantas. A inoculação proporcionou aumento de emergências em algodão e soja. Além disso, a inoculação com o produto biológico incrementou significativamente a produção de massa seca, na parte aérea do milho. Os teores de fósforo e nitrogênio foram maiores no tecido foliar de milho, inoculados com a bactéria e farinha de ostras, comparando-se com a testemunha. A interação do resíduo orgânico com a bactéria proporcionou ganhos no crescimento e nutrição das plantas. A inoculação de sementes com *B. subtilis*, formulado com o resíduo orgânico, apresentou-se como uma alternativa tecnológica viável para a inoculação de sementes.

Termos para indexação: Rizobactérias, nutrição de plantas, emergência, resíduos orgânicos.

ABSTRACT

Bacillus subtilis is a soil bacteria able to synthesize antibiotics, enzymes and phytohormones important for plant growth. This specie is also classified in plant growth as promoting rhizobacteria (PGPR). A biological product containing oyster meal and cells of *B. subtilis* was inoculated in seeds of corn, cotton and soybean. This inoculation increased emergence in cotton and soybean. The growth of corn was stimulated by seed inoculation with *B. subtilis* and organic amendment. The concentration of phosphorus and nitrogen significantly increased in the corn treated with the product. The interaction bacteria with organic amendment provided increments in plant growth. The inoculation of seeds with *B. subtilis* and amendments is promising technological alternative for seed treatment.

Index terms: Rhizobacteria, seed microbiolization, emergence, organic amendments.

(Recebido em 5 de dezembro de 2006 e aprovado em 10 de agosto de 2007)

INTRODUÇÃO

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) habitam o solo e com frequência são isoladas da rizosfera de diversas plantas cultivadas. Entre os gêneros mais estudados destacam-se: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium*. Os efeitos desses microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento das plantas (LAZARETTI & BETTIOL, 1997). Como exemplo dos efeitos de RPCPs na produtividade, podemos citar aumentos de até 150% em plantas de rabanete com inoculação de *Pseudomonas* spp. (KLOEPPER & SCHROTH, 1981). Araujo & Hungria (1999) concluíram que *Bacillus subtilis* (AP-3) ou seus metabólitos proporcionaram incrementos na nodulação e rendimento da soja no campo. Foi constatado que essa mesma estirpe

também produz fitohormônios e antibióticos, durante seu desenvolvimento (ARAUJO et al., 2005).

As RPCPs são agentes potenciais para controle biológico de fitopatógenos (KLOEPPER, 1999). As rizobactérias podem suprimir as doenças por vários modos de ação como: antagonismo relacionado à produção de antibióticos antifúngicos como a iturina em *B. subtilis* (ARAÚJO et al., 2005); competição por substrato descrito por Elad & Chet (1987) como mecanismo responsável pelo biocontrole de *Pythium* por *Pseudomonas*; indução de resistência que foi observada em pepino e tomate contra o vírus do mosaico do pepino proporcionado por *Pseudomonas* (RAUPACH et al., 1996). A maioria dos trabalhos sobre a influência das rizobactérias no crescimento das plantas atribui esse fenômeno a um efeito indireto associado ao controle biológico de patógenos secundários (KLOEPPER & SCHROTH, 1981). No entanto, em alguns trabalhos, observou-se que a promoção de

¹Engenheiro Agrônomo, Doutor, Professor – Faculdade de Ciências Agrárias/FCA – Universidade do Oeste Paulista/UNOESTE – Rodovia Raposo Tavares, Km 572 – Limoeiro – 19067-175 – Presidente Prudente, SP – fabio@unoeste.br

crescimento de plantas por rizobactérias também tem sido relacionada à produção de hormônios com giberilinas (HOLL et al., 1988), auxinas (ARAUJO et al., 2005) e ácidos láctico e succínico (YOSHIKAWA, 1993). *Pseudomonas* spp. (fluorescentes) produziu o fitohormônio AIA (ácido indol acético) em resposta aos exsudatos de raiz de milho (PAN et al., 1999). *Bacillus subtilis* produziu AIA e AIB (ácido indolbutírico) em resposta aos exsudatos de raiz de soja (ARAUJO et al., 2005).

A incorporação no solo de substâncias orgânicas e inorgânicas também tem colaborado para o manejo de patógenos de solo (COOK & BAKER, 1983). As preparações resultantes da mistura de RPCPs com outros resíduos orgânicos têm apresentado resultados satisfatórios no crescimento de plantas e proteção contra doenças (REDDY et al., 1999).

A elevação da disponibilidade de fósforo solúvel no solo tem sido também relacionada com o metabolismo de RPCPs no solo, o que contribui para maior desenvolvimento das plantas pelo aumento na absorção desse elemento. Lifshitz et al. (1987) observaram aumento na absorção de fósforo pela inoculação de sementes com *Pseudomonas putida*. Em outro trabalho mais recente foi encontrado aumento do fósforo disponível no solo pela inoculação da semente com as estirpes de *Bacillus* spp. M-13 e RC01 (CANBOLAT et al., 2006). Rodriguez & Fraga (1999) citam que estirpes do gênero *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* estão entre as bactérias com maior potencial de solubilização de fósforo. Richardson (2000) relatou que a maioria dos solos tropicais são pobres em fósforo disponível às plantas e que o fertilizante fosfatado representa um alto custo para o agricultor, dessa forma é interessante que se utilize dos microrganismos do solo como inoculante para mobilizar o fósforo em solos pobres. Além da solubilização do fósforo, outros mecanismos que estimulem o crescimento das plantas estão também relacionados com o metabolismo microbiano no solo, tais como a produção de enzimas nitrogenase, quitinases e glucanases (CATTELAN et al., 1999).

Um dos principais problemas para utilização massiva das RPCPs tem sido a formulação das bactérias para uso comercial. Várias substâncias têm sido utilizadas em formulações experimentais como: lactose, peptona, goma arábica e xantana, celulose entre outras (SCHISLER et al., 2004). Outras formulações tem potencializado o efeito do antagonista contra fitopatógenos como no caso da mistura com turfa e quitina (SID-AHMED et al., 2003). Isso pode determinar que a formulação tem um valor significativo para determinar a eficácia final do produto baseado em RPCPs.

Considerando a hipótese de interação benéfica de rizobactérias e resíduos orgânicos no desenvolvimento das plantas, objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito de *Bacillus subtilis*, em formulação com farinha de ostras, sobre a emergência, crescimento e nutrição das plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

Inoculante com *B. subtilis*: *Bacillus subtilis*, estirpe PRBS-1 (ARAUJO et al., 2005) isolado de amostras de solo cultivado com soja foi multiplicado, durante 7 dias, em 100mL de caldo nutriente (3g de extrato de levedura, 5g de peptona e 1000mL de água destilada). Decorrido esse período, o meio de cultura foi centrifugado e o precipitado contendo as células de *B. subtilis* foi misturado com 500 g de farinha de ostras moída (0,2% de N; 0,14% de P_2O_5 ; 0,02% de K_2O ; 28,8% de CaO e 0,75% de MgO). O material foi seco em estufa (70°C), com ventilação forçada durante 24 horas, em seguida o mesmo foi moído em moinho de esferas, ficando o produto final com textura fina (< 0,210 mm). O produto final teve a concentração de *B. subtilis* avaliada pelo método de diluição em placas, com meio ágar nutriente, apresentando a concentração de $1,0 \cdot 10^9$ ufc g⁻¹. Esse produto foi denominado de BSFO. Com a finalidade de se avaliar apenas o efeito da bactéria foi utilizado o precipitado, contendo *B. subtilis*, obtido conforme descrito anteriormente, misturado com uma substância inerte (bentonita). O produto ficou com a concentração final de $1,0 \cdot 10^9$ ufc g⁻¹, que constituiu o tratamento BS.

Inoculação das sementes: Obtido os produtos biológicos (BS e BSFO), procedeu-se à inoculação das sementes para avaliação da emergência, crescimento e absorção de nutrientes, nas culturas de milho (UNOESTE 101), algodão (COODETEC 156) e soja (BRS 185). Além dos tratamentos com os inoculantes, formulados com *B. subtilis*, foi conduzido mais um tratamento apenas com a farinha de ostras moída (FO). Estabeleceu-se a proporção de 500g do produto para 25 kg de semente para todos os tratamentos. A inoculação consistiu em misturar as sementes com os produtos após o umedecimento das mesmas com solução adesiva à base de açúcar (10%), na proporção de 1mL kg de sementes⁻¹.

Experimento em casa de vegetação: Para observar o efeito do inoculante sobre a emergência e desenvolvimento das plantas, as sementes tratadas foram semeadas em solo (Argissolo vermelho amarelo distroférico, textura arenosa) peneirado e acondicionado em vasos plásticos (2kg de solo vaso⁻¹). A análise química do solo apresentou os seguintes resultados: pH (CaCl₂) = 4,3; Al (mmol_c dm⁻³) = 5; Mat. orgânica (g dm⁻³) = 5; P (mg

dm^{-3}) = 1; K ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$) = 2.0; Ca ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$) = 5; Mg ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$) = 5; V% = 29; CTC ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$) = 42. Foram semeados 10 sementes por vaso e, após 15 dias do plantio procedeu-se à avaliação do número de plantas emergidas. Em seguida, foi realizado o desbaste, deixando-se uma planta por vaso. As plantas foram conduzidas durante 40 dias em casa de vegetação. Após esse período foi medida a altura das plantas, com auxílio de fita métrica e área foliar com a utilização de medidor de área foliar portátil, modelo LI-3000A (LI-COR, USA). Em seguida as plantas foram cuidadosamente arrancadas e as raízes lavadas em água corrente para retirada do solo. A parte aérea foi então separada das raízes e ambas foram colocadas para secar em estufa sob aeração forçada (65°C), até peso constante, visando determinação do peso de matéria seca. As folhas secas foram moídas e submetidas à análise foliar, seguindo metodologia de Malavolta et al. (1997). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições. As análises estatísticas foram efetuadas utilizando-se o programa estatístico SISVAR, utilizando o teste de Tukey (5%) para comparação de médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito da inoculação de sementes com *B. subtilis* sobre a emergência de plântulas, demonstrou que o algodão e a soja tiveram incrementos na emergência de plantas destacando-se o tratamento *B. subtilis* formulado com farinha de ostras (Tabela 1). Lazzareti & Bettiol (1997), avaliando o tratamento de sementes de várias culturas com formulado de *B. subtilis*, encontraram respostas de aumento de emergência apenas no arroz. Esses resultados indicam que existe interação específica entre as estirpes de *B. subtilis* e as culturas avaliadas. A utilização do resíduo associado à bactéria (BSFO) e o efeito positivo na emergência, comparando-se a testemunha, demonstra,

também, interação positiva da estirpe de *B. subtilis* (PRBS-1) com a farinha de ostras. A farinha de ostras é um resíduo rico em quitina que também compõe o exoesqueleto dos insetos e parede celular dos fungos. A interação de rizobactérias com quitina já proporcionou resultados satisfatórios quanto ao controle de nematóides (HALLMANN et al., 1999) e fungos de solo (MANJULA & PODILE, 2001; SID-AHMED et al., 2003).

Com relação ao desenvolvimento das plantas, representado pela produção de matéria seca, observou-se que o milho foi a única cultura que respondeu à inoculação de *B. subtilis* na formulação BSFO (Tabela 2). Rizobactérias promotoras do crescimento de planta foram responsáveis por aumento na emergência e crescimento de algodão (HAFEZ et al., 2004) e milho (SHARMA & JOHRI, 2003). Também foi observado aumento na área foliar e altura de plantas de milho pela inoculação das sementes com a formulação BSFO (Tabela 3). Os componentes da análise de crescimento das plantas foram alterados apenas na cultura do milho, na qual ocorreu aumento da área foliar, altura de plantas e razão parte aérea/raiz. Azevedo Neto & Tabosa (2000) concluíram que plantas de milho submetidas a estresse apresentam redução da área foliar e da razão parte aérea/raiz. Isso demonstra que a inoculação do milho com a formulação BSFO proporcionou melhores condições ao desenvolvimento da cultura.

A concentração de fósforo, nas folhas de algodão e milho, cujas sementes foram inoculadas com *B. subtilis* (BSFO) foi significativamente maior quando comparada ao tratamento testemunha (Tabela 4). O milho, desenvolvendo-se em solo deficiente em fósforo disponível, conseguiu absorver quantidade significativa de fósforo, quando inoculado com a formulação contendo *B. subtilis* (BSFO). Isso demonstra que nesse tratamento pode ter ocorrido algum evento no solo como aumento de atividade enzimática (fosfatases) ou disponibilização do

Tabela 1 – Emergência de milho, soja e algodão em sementes inoculadas ou não com *Bacillus subtilis* e resíduo orgânico.

Tratamentos ¹	Milho	Soja	Algodão
	--- % de emergência ---		
Testemunha	94,0 a ²	40,0 b	43,0 b
Farinha de ostras	94,0 a	42,0 b	41,0 b
BS	96,0 a	54,0 ab	52,0 ab
BSFO	96,0 a	70,0 a	67,0 a

¹BS= Formulação contendo *B. subtilis* (PRBS 1); BSFO= Formulação contendo *B. subtilis* (PRBS 1), e farinha de ostras.

²Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 2 – Produção de matéria seca na parte aérea e raiz em milho, soja e algodão, resultante da inoculação de sementes com *Bacillus subtilis* e resíduo orgânico.

Tratamentos ¹	Milho	Soja	Algodão
---Matéria seca da parte aérea (g planta ⁻¹)---			
Testemunha	1,17 b ²	1,27 a	0,78 a
Farinha de ostras	1,34 b	1,30 a	0,79 a
BS	1,81 b	1,41 a	0,95 a
BSFO	2,43 a	1,62 a	1,06 a
---Matéria seca da raiz (g planta ⁻¹)---			
Testemunha	1,97 a	0,89 a	0,42 a
Farinha de ostras	1,99 a	0,95 a	0,42 a
BS	2,15 a	1,21 a	0,45 a
BSFO	2,53 a	1,51 a	0,43 a

¹BS= Formulação contendo *B. subtilis* (PRBS 1); BSFO= Formulação contendo *B. subtilis* (PRBS 1), e farinha de ostras.

²Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Análise do crescimento de milho, soja e algodão resultante da inoculação de sementes com *Bacillus subtilis* e resíduo orgânico.

Tratamentos ¹	Milho	Soja	Algodão
---Área foliar (dm ² planta ⁻¹)---			
Testemunha	1,89 b ²	1,02 a	0,62 a
Farinha de ostras	1,91 b	1,01 a	0,59 a
BS	3,15 ab	1,16 a	0,75 a
BSFO	4,45 a	1,17 a	0,91 a
---Altura de plantas (cm planta ⁻¹)---			
Testemunha	47,8 b	22,7 a	21,5 a
Farinha de ostras	49,3 b	22,8 a	20,3 a
BS	57,0 ab	25,9 a	22,1 a
BSFO	64,0 a	27,5 a	25,7 a
---Razão parte aérea / raiz---			
Testemunha	0,59 b	1,42 a	1,85 a
Farinha de ostras	0,67 b	1,36 a	1,88 a
BS	0,84 ab	1,16 a	2,11 a
BSFO	0,96 a	1,07 a	2,46 a
---Razão de área foliar (dm ² g ⁻¹)---			
Testemunha	0,60 a	0,47 a	0,55 a
Farinha de ostras	0,57 a	0,44 a	0,48 a
BS	0,79 a	0,44 a	0,53 a
BSFO	0,89 a	0,37 a	0,61 a

¹BS= Formulação contendo *B. subtilis* (PRBS 1); BSFO= Formulação contendo *B. subtilis* (PRBS 1) e farinha de ostras.

²Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4 – Composição nutricional do tecido foliar de milho, soja e algodão, resultante da inoculação de sementes com *Bacillus subtilis* e resíduo orgânico.

Tratamentos ¹	N	P	K	Ca	Mg	S
---(mg planta ⁻¹)---						
Milho						
Testemunha	12,4 b ²	1,17 b	15,1 b	1,87 b	1,40 b	1,29 a
Farinha de ostras	13,1 b	1,18 b	17,8 b	2,80 b	1,50 ab	1,78 ab
BS	22,1 ab	2,10 b	25,8 ab	3,10 ab	2,01 ab	1,92 ab
BSFO	29,2 a	3,40 a	32,6 a	4,37 a	3,16 a	2,67 a
Soja						
Testemunha	31,2 a	1,90 a	22,1 a	11,3 a	6,35 a	2,29 a
Farinha de ostras	31,8 a	1,89 a	22,2 a	11,0 a	6,13 a	2,28 a
BS	32,9 a	1,95 a	23,0 a	9,50 a	6,24 a	2,71 a
BSFO	35,3 a	2,10 a	23,0 a	9,72 a	6,16 a	2,92 a
Algodão						
Testemunha	22,4 a	4,83 b	14,8 a	20,6 a	5,15 a	5,38 a
Farinha de ostras	23,0 a	5,34 ab	15,8 a	26,1 a	5,18 a	6,15 a
BS	26,7 a	9,35 ab	20,7 a	25,3 a	6,50 a	7,12 a
BSFO	30,5 a	14,9 a	22,7 a	29,3 a	7,20 a	8,16 a

¹BS= Formulação contendo *B. subtilis* (PRBS 1); BSFO= Formulação contendo *B. subtilis* (PRBS 1) e farinha de ostras.

²Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

fósforo da formulação que proporcionou aumento na disponibilidade do nutriente no solo. O relato de solubilização de fósforo no solo por rizobactérias e aumento do fósforo disponível no solo pode ser encontrado na literatura (CANBOLAT et al., 2006; RICHARDSON, 2000; ZAGO et al., 2000). Também foi encontrado aumento significativo do teor de nitrogênio nas folhas do milho inoculado com a bactéria (Tabela 4). Amir et al. (2003), em experimento de campo com palmito, constataram que *Bacillus* spp. contribuiu para a fixação de 300 a 500mg N planta⁻¹. Gramíneas forrageiras tropicais, incluindo *Brachiaria humidicola*, *B. decumbens* e *Panicum maximum*, têm apresentado fixação de N₂ relativamente elevada, proporcionado por fixadores microbianos associados à planta (BODDEY, 1987).

De acordo com os resultados obtidos pode-se afirmar que, de forma geral, a inoculação de *B. subtilis*, formulado com farinha de ostras (BSFO), proporcionou ganhos em vários parâmetros de crescimento analisados nas culturas avaliadas. *B. subtilis* é uma bactéria de solo que produz hormônios como ácido indol-acético (AIA) e indol butírico (AIB) (ARAUJO et al., 2005) e secreta enzimas importantes para a nutrição das plantas (POWAR &

JAGANNATHAN, 1982). A presença do resíduo orgânico associado à *B. subtilis* influenciou positivamente seu metabolismo e a fisiologia da planta, o que refletiu aumento de emergência, crescimento e nutrição das plantas. Para Bewley & Black (1978) a emergência da plântula pode ser estimulada pela acidificação da parede celular durante o processo germinativo, sendo nesse caso a ação da auxina fator essencial. Vieira & Castro (2001), estudando a ação de hormônios na germinação de sementes de soja observaram que concentrações intermediárias do hormônio aumentaram significativamente a germinação. Já foi constatado que a estirpe de *Bacillus subtilis*, utilizada no trabalho, produz fitohormônios durante seu desenvolvimento, os quais também proporcionaram estímulo no desenvolvimento radicular da soja (ARAUJO et al., 2005).

O efeito sobre o aumento da disponibilização de nutrientes proporcionado pela inoculação de *B. subtilis* na semente de milho e algodão também foi encontrado por Canbolat et al. (2006) em trigo e cevada os quais sugeriram que as estirpes de *Bacillus* utilizadas apresentaram potencial para o aumento do crescimento das plantas.

CONCLUSÃO

Neste trabalho pode-se concluir que o *Bacillus subtilis* formulado com a farinha de ostras (BSFO) e inoculado nas sementes de milho apresenta potencial para incrementar o crescimento e a nutrição das plantas. Essa formulação, contendo *B. subtilis* pode ser recomendada para realização de ensaios de campo visando a confirmação dos resultados obtidos em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMIR, H. G.; SHAMSUDDIN, Z. H.; HALIMI, M. S.; RAMLAN, M. F.; MARZIAH, M. N. N_2 fixation, nutrient accumulation and plant growth promotion by rhizobacteria in association with oil palm seedlings. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 6, p. 1269-1272, 2003.
- ARAUJO, F. F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 21, p. 1639-1645, 2005.
- ARAUJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/B. elkanii. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1633-1643, 1999.
- AZEVEDO NETO, A. D.; TABOSA, J. N. Estresse salino em plântulas de milho: parte I: análise do crescimento. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, Campina Grande, v. 4, p. 156-164, 2000.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds**. New York: Springer Verlag, 1978. 306 p.
- BODEY, R. M. Methods for quantification of nitrogen fixation associated with sugarcane and rice: contributions and prospects for improvement. **Plant and Soil**, Crawley, v. 174, p. 195-209, 1987.
- CANBOLAT, M.; BILEN, S.; ÇAKMAKÇI, R.; SAHIN, F.; AYDI, A. Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seeding growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 42, n. 3, p. 350-357, 2006.
- CATTELAN, A. J.; HARTEL, P. G.; FUHRMANN, J. J. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 63, p. 1670-1680, 1999.
- COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1983. 539 p.
- ELAD, T.; CHET, I. Possible role of competition for nutrients in biocontrol of *Pythium damping-off* by bacteria. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 77, p. 190-195, 1987.
- HAFEEZ, F. Y.; SAFDAR, M. E.; CHAUDHRY, A. U.; MALIK, K. A. Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 44, n. 6, p. 617-622, 2004.
- HALLMANN, J.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; KLOEPPER, J. W. Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. **Soil Biology and Biochemistry**, London, v. 31, p. 551-560, 1999.
- HOLL, F. B.; CHANWAY, C. P.; TURKINGTON, R.; RADLEY, R. A. Response of crested wheatgrass (*Agropyron cristatum* L.), perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens* L.) to inoculation with *Bacillus polymyxa*. **Soil Biology and Biochemistry**, London, v. 20, p. 19-24, 1988.
- KLOEPPER, J. W. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. **Australasian Plant Pathology**, Rockhampton, v. 28, n. 1, p. 21-26, 1999.
- KLOEPPER, J. W.; SCHORTH, M. N. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 71, p. 642-644, 1981.
- LAZZARETI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 54, p. 89-96, 1997.
- LIFISHITZ, R.; KLOEPPER, Q. Q.; KAZLOWSKI, M.; SIMONSON, C.; CARLSON, J. TIPPING, E.; ZALESKA, I. Growth promoting of canola (rapessed) seedling by strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 33, p. 390-395, 1987.

- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fosfato, 1997. 201 p.
- MANJULA, K.; PODILE, A. R. Chitin-supplemented formulations improve and plant growth promoting efficiency of *Bacillus subtilis* AF 1. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 47, n. 7, p. 618-625, 2001.
- PAN, B.; BAY, Y. M.; LEBOVITCH, S.; SMITH, D. L. Plant-growth promoting rhizobacteria and kinetin as ways to promote corn growth and yield in a short-growing-season area. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 11, p. 179-186, 1999.
- POWAR, V. K.; JAGANNATHAN, V. Purification and properties of phytate-specific phosphatase from *Bacillus subtilis*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 151, p. 1102-1108, 1982.
- RAUPACH, G. S.; LIU, L.; MURPHY, J. F.; TUZUN, S.; KLOPPER, J. W. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). **Plant Disease**, Saint Paul, v. 80, p. 891-894, 1996.
- REDDY, M. S.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; KENNEY, D. S.; RYU, C. M.; ZHANG, S.; KLOPPER, J. W. Growth promotion and induced systemic resistance (ISR) mediated by biological preparation. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, p. 65, 1999.
- RICHARDSON, A. E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, Canberra, v. 28, n. 9, p. 897-906, 2000.
- RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology advances**, Ontario, v. 17, p. 319-339, 1999.
- SCHISLER, D. A.; SLININGER, P. J.; BEHLE, R. W.; JACKSON, M. A. Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 94, p. 1267-1271, 2004.
- SHARMA, A.; JOHRI, B. N. Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions. **Microbiological Research**, Heidelberg, v. 158, n. 3, p. 243-248, 2003.
- SID-AHMED, A.; EZZIYYANI, M.; SANCHEZ, C. P.; CANDELA, M. E. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. **European Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 109, n. 6, p. 633-637, 2003.
- VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. Efeito de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 23, p. 222-228, 2001.
- YOSHIKAWA, M. Succinic and lactic acids as plant growth promoting compounds produced by rhizosphere *Pseudomonas putida*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 39, p. 1150-1154, 1993.
- ZAGO, V. C. P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N. G. ***Pseudomonas* spp. fluorescentes**: bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola. Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2000. 32 p. (Documentos, 127).