

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROECOLOGIA MESTRADO PROFISSIONAL**

RAFAEL LEMOS

**USO DE *Azospirillum brasilense* NA PRODUÇÃO DE ALFACE CRESPA EM
CULTIVO AGROECOLÓGICO**

Maringá – PR

2020

RAFAEL LEMOS

**USO DE *Azospirillum brasilense* NA PRODUÇÃO DE ALFACE CRESPA
EM CULTIVO AGROECOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Agroecologia, Mestrado Profissional, do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agroecologia

Orientador: Prof. Higo Forlan Amaral

MARINGÁ- PR

2020

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

L557u	<p>Lemos, Rafael</p> <p>Uso de <i>Azospirillum brasilense</i> na produção de alface crespa em cultivo agroecológico / Rafael Lemos. -- Maringá, PR, 2021. 21 f.tabs.</p> <p>Orientadora: Profa. Dra. Higo Forlan Amaral. Dissertação (Mestrado Profissional) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agroecologia - Mestrado Profissional, 2021.</p> <p>1. Horticultura - Alface - Produção de mudas. 2. <i>Azospirillum brasilense</i> - Alface crespa. 3. Produção orgânica. 4. Agroecologia. 5. Alface - Cultivo. I. Amaral, Higo Forlan, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agroecologia - Mestrado Profissional. III. Título.</p> <p>CDD 23.ed. 635.522</p>
-------	---

RAFAEL LEMOS

**“USO DO *azospirillum brasilense* NA PRODUÇÃO DE ALFACE CRESPA
EM CULTIVO AGROECOLÓGICO.”**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, para obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 17 de agosto de 2020.



Prof. Dr. Carlos Alberto de Basto Andrade



Profa. Dra. Luciana Grange



Prof. Dr. Higo Forlan Amaral
Orientador

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Atributos de mudas de alface (*Lactuca sativa* L.) da variedade crespa cv. Vera em diferentes doses de *Azospirillum brasilense* ([4,5 x 10⁸ de UFC. mL⁻¹]).....7

Tabela 2 Atributos de mudas de alface (*Lactuca sativa* L.) da variedade crespa cv. Vera em diferentes doses de *Azospirillum brasilense* ([2,0 x 10⁸ de UFC. mL⁻¹]).....8

Tabela 3 Atributos de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) da variedade crespa cv. Vera em diferentes doses de *Azospirillum brasilense* ([2,0 x 10⁸ de UFC. mL⁻¹]) a campo em ambiente agroecológico..... 10

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos os que me proporcionaram a oportunidade de me aprofundar nos estudos agroecológicos, dos quais sou muito grato por poder desfrutar.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelo dom da vida e por me dar todas as condições para atingir esse objetivo.

Agradeço ao Programa de Mestrado Profissional em Agroecologia (PROFAGROEC) pela oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisadores. Mesmo com todas as barreiras impostas, seus profissionais não medem esforços para levantar a bandeira da agroecologia, levando-a a todos os que têm interesse por obter mais conhecimentos sobre essa tecnologia social, cujo papel é fomentar a sustentabilidade ambiental, social e econômica.

Agradeço ainda à SETI, à Capes e à UEM por disponibilizar recursos e estrutura para a realização do mestrado, por disponibilizar salas de aula, equipamentos e veículos para a realização dessas aulas e professores, que, em sua dedicação, proporcionaram aulas teóricas e práticas prazerosas e muito proveitosas.

Um agradecimento especial ao meu orientador Prof. Dr. Higo Forlan Amaral, que, com muita paciência, dedicação e apoio, de forma simples e eficaz, encaminhou a tese, esclarecendo todas as dúvidas e auxiliando-me nas análises.

Por fim, agradeço a minha esposa Jordana e a minha filha Maria Rosa, por todo o suporte e amor que me deram nessa caminhada: sem elas, não teria alcançado o objetivo. Agradeço a meus pais, a meus irmãos e aos colaboradores e amigos do sítio Fábrica de Sonhos.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi investigar o desempenho agrônômico de alface crespa inoculada com diferentes doses de *Azospirillum brasilense* no substrato. Para a produção de mudas, com a semeadura de alface crespa cv. Vera (*Lactuca sativa* L), foram realizados dois ensaios com três diferentes doses de inoculante comercial (sendo 0,5, 1 e 1,5 mL/100mL de água para um kg de substrato) e tratamento testemunha. Foram avaliados comprimento de muda (CM), comprimento de raiz (CR), massa fresca de raiz (MFR), massa fresca da parte aérea (MFA) e volume de raiz (VR). Foi feito outro ensaio a campo utilizando as mudas inoculadas, cuja colheita foi realizada 35 dias após o transplantio, tendo sido retiradas 4 plantas por tratamento para avaliação dos seguintes atributos: massa fresca total (MFT), massa fresca de raiz (MFR), número de folhas (NF) e diâmetro de cabeça (DC). No geral, a inoculação com *A. brasilense* aumentou as médias dos atributos das mudas de alface conforme aumento das doses. A inoculação do substrato com *A. brasilense*, no ensaio a campo, promoveu alteração das características agrônômicas das mudas de alface crespa, sendo que a dose 1 (D1) (1×10^8 UFC por mL) apresentou o melhor desempenho entre os tratamentos, sendo superior em quase todos os fatores avaliados. Ou seja, os dados mostra que, por um lado, a inoculação de sementes com *A. brasilense* em substrato favoreceu o desenvolvimento das plantas e, por outro, que dose com alta concentração da bactéria pode causar efeito tóxico nas plantas.

Palavras-chaves: horticultura; bactérias; orgânico; mudas.

ABSTRACT

The aims of this study were to investigate the lettuce development under inoculated with different doses of *Azospirillum brasiliense* in the substrate. To the trials, were performed two tests with four inoculant doses, being witness, 0.5, 1 and 1.5 mL/100mL of water for one kg of substrate. Curly lettuce cv. Vera (*Lactuca sativa L*) was chose. Seedling length (CM), root length (CR), fresh root weight (MFR), fresh air weight (MFA) and root volume (VR) were rate. From the last assay was take the seedlings to test at the field and harvested 35 days after transplanting using 4 plants per treatment, to check total fresh weight (MFT), fresh root weight (MFR), number of leaves (NF) and head diameter (DC). In general, inoculation with *A. brasiliense* increased the average of the attributes of the lettuce seedlings as the doses increased. Inoculation of the substrate with *A. brasiliense*, in the field trial, promoted a change in the lettuce seedlings attributes, with the dose 1 (1×10^8 CFU per mL) showed the best performance among the other treatments being superior in almost all evaluated attribute showing up the favor of plants development with seeds seeded at inoculated substrate with *A. brasiliense*, in the other hand, was note that the high concentration of bacteria may cause toxic effects to the plants.

Keywords: horticulture; bacteria; organic; seedlings.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	MATERIAL E MÉTODOS	5
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	7
4	CONCLUSÕES.....	12
	REFERÊNCIAS.....	13

1 INTRODUÇÃO

A agroecologia é uma das áreas da ciência que mais vem ganhando destaque nos estudos atuais: é notável sua expansão tanto em nível nacional quanto em nível internacional. A busca de consumidores por produtos saudáveis e menos agressivos ao meio ambiente está evidente, o que, por si, demonstra a importância do desenvolvimento de técnicas agroecológicas. De acordo com a revista “Globo Rural”, o mercado de produtos orgânicos nacional, um dos pilares mais importantes da agroecologia, vem crescendo à taxa de 20% ao ano e, com expectativa de crescimento de 15% para o ano de 2020, há a possibilidade alcançar entorno de R\$ 4,5 bilhões de faturamento. Além disso, a agroecologia vem sendo instrumento de manutenção e de ascensão econômica de famílias no campo, pois o produto orgânico agrega maior valor ao preço final, ao mesmo tempo em que a produção é baseada em uso de insumos de baixo custo, muitas vezes encontrados na própria propriedade.

Graças aos estudos agroecológicos, muitas são as alternativas que vêm se mostrando eficientes no desenvolvimento de plantas, substituindo técnicas convencionais de maior impacto ambiental. Dentre os destaques, está o uso de microrganismos, que, atualmente, aparece em diversos tipos de cultivo, especialmente no manejo fitopatológico com controle biológico por meio de diversos inimigos naturais de pragas, de protetores biológicos de plantas e de inoculação de microrganismos promotores de crescimento de plantas (BPCP). Todas essas técnicas auxiliam na agricultura e contribuem para o abandono cada vez maior de produtos industriais que agredem o meio ambiente, como defensivos agrícolas e adubos químicos, podendo até ser mais eficientes. Monteiro, Souza e Pastore (2006), que estudaram a viabilidade econômica de tratamento químico e biológico do ácaro vermelho (*Panonychus ulmi*), concluem que o tratamento biológico por meio do ácaro predador *Neoseiulus californicus* mostrou-se 15,8% mais barato que o tratamento químico para a mesma eficiência de controle.

O BPCP tem sido uma das principais ferramentas utilizadas atualmente na agroecologia, em razão do impacto que tais bactérias têm promovido na agricultura. De acordo com Bashnam et. al. (2010), esses microrganismos são capazes de colonizar mais de uma centena de espécies de plantas e promover o crescimento e a produtividade em condições de campo. O exemplo que mais se destaca é o da

inoculação de Rizóbio em espécies de leguminosas, como feijão e soja, cuja produtividade tem sido aumentada com a fixação biológica do nitrogênio.

O *Azospirillum brasilense* é outra espécie de bactéria, cujo uso vem apresentando resultados significativos, principalmente quando inoculado em gramíneas, mas seus bons resultados aparecem também em diferentes espécies agrícolas. *Azospirillum* é um gênero bacteriano genericamente denominado como “bactérias promotoras de crescimento de planta” BPCP. A primeira menção a essa bactéria foi feita em 1925 por Beijerinck, com a nomenclatura de *Spirillum lipoferum*. Décadas depois ela foi reclassificada como *Azospirillum* pela habilidade de fixar nitrogênio da atmosfera no solo (FUKUNAMI et. al. 2018), com a identificação de duas cepas diferentes *A. brasilenses* e *A. lipoferum*.

Na horticultura, o estudo sobre o uso do BPCP tem sido mais difícil porque o grande número de espécies cultivadas leva à estratificação das pesquisas. Inúmeros também são os microrganismos capazes de se associar de forma positiva com as plantas, o que dificulta muito o isolamento dos indivíduos que realmente podem contribuir para o desenvolvimento da planta e promover seu crescimento. Ou seja, é muito importante estudar essas associações de microrganismo e planta para identificar os melhores indivíduos, investir na multiplicação da tecnologia e levá-la para a comunidade, alçando mais a produção hortícola e contribuindo para o bem estar dos agricultores familiares e para o meio ambiente onde eles estão inseridos.

Alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta anual, pertencente à família das Asteráceas. Tem origem no Mediterrâneo na região da Sibéria, porém hoje já é encontrada em toda parte do mundo como uma das principais folhosas presente na alimentação mundial. No Brasil, de acordo com o CEPEA, foi constatada uma área de plantio de 15.136 hectares na safra 2017/18, o que demonstra a força que essas folhosas têm na agricultura familiar. Planta de porte herbáceo, com altura entre 15 a 30 centímetros, apresenta folhas de diferentes tipos de coloração, assim como forma e textura, mas as de cor verde e roxa e as variedades lisa, crespa, romana e americana são as mais cultivadas entre os agricultores. Possui sistema radicular pivotante concentrado principalmente nos primeiros 15 cm das superfícies do solo; seu ciclo pode variar de 90 a 120 dias até a maturação de semente e seu ponto de colheita pode variar de 40 a 60 dias, dependendo das condições do local onde estiver sendo cultivada.

A inoculação de plantas com microrganismos que promovam seu desenvolvimento é uma prática que apresenta enorme capacidade de aprimoramento, podendo gerar grande impacto na produção contemporânea. O principal exemplo de ganhos com tal técnica na atualidade é a co-inoculação de soja (*Glycine max*) com as bactérias Bradyrhizobium+Azospirillum. De acordo com a empresa brasileira de pesquisas agropecuária (EMBRAPA), seu uso por agricultores no estado do Paraná mostrou um aumento de 5,6 sacas a mais por hectare. Canigia e Zorita (2009) , em 297 ensaios com e sem inoculação em sementes de trigo, entre 2002 e 2006, constataram que a presença de *Azospirillum brasiliense* contribuiu para o crescimento vegetativo em até 12%, quando comparado com testemunha, e para maior acúmulo de massa seca na planta em até 20%. O mesmo estudo mostrou que o número de grãos colhidos foi superior em até 6,1% e que o rendimento de colheita foi cerca de 8% maior quando comparado com a testemunha, resultando em 256 kg/ha⁻¹ mais de produção.

Araújo et. al. (2014), estudando a ação de *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho verde, obteve resultados de número e massa de espiga superior ao tratamento testemunha sem inoculante. Além disso, a combinação de *A. brasiliense* com a adubação nitrogenada aumentou em mais de 30% a produção de espiga de milho verde.

Na área de horticultura, o espaço para o desenvolvimento de pesquisa com essas relações associativas é grande, já que tais relações vão além da fixação biológica de nitrogênio (FBN), abrangendo, como afirmam Cassan e Zorita (2016), produção de fitohormônios, solubilização de fosfato, biocontrole de fitopatogênicos e proteção para as plantas como salinidade e componentes tóxicos do solo. O estudos de BPCP em hortaliças têm vasta aplicação: alguns deles já apresentam resultados, como mostram Silveira et.al (2004), que avaliaram sementes de pepinos inoculados com bactérias epifíticas. Afirmam os autores que foram obtidos valores maiores de massa fresca total das mudas de pepinos e que o *Bacillus amyloliquefaciens* e *Enterobacter cloaceae* podem melhorar a qualidade de mudas de pepino. Já, segundo Lima et. al (2018), sementes de tomate inoculadas com 4 a 6 mL kg⁻¹ de *Azospirillum* resultaram em maior comprimento radicular, maior espessura de talo, maior volume de raiz, clorofila e matéria seca quando esse resultado é

comparado com outros valores de inoculação.

Nesse contexto, surgiu a oportunidade de se estudar o *Azospirillum brasilense* em uma das principais culturas da agricultura familiar, a alface (*Lactuca sativa*). O objetivo deste trabalho foi investigar o desempenho agronômico de alface crespa inoculada com diferentes doses de *Azospirillum brasilense* no substrato de produção de mudas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no sítio agroflorestal chácara Brazinha, certificado como orgânico pela TECPAR há 3 anos. Presente na feira de produtores orgânicos de Maringá, o sítio está localizado em Maringá-PR, coordenadas 23°25'36.5"S 52°00'09.5"W. O solo da propriedade foi classificado como Latossolo vermelho eutroférico.

No primeiro ensaio de mudas, utilizou-se inoculante com as estirpes *Azospirillum brasiliense* Ab-V 5 e Ab-6 de formulação comercial com concentração de $4,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC). mL⁻¹.

Os tratamentos foram: D0 = testemunha ; D1 = 0,5 mL do inoculante em 100 mL de água que resultou em $2,25 \times 10^8$ UFC. mL⁻¹; D2 = 1,0 mL do inoculante em 100 mL de água que resultou em $4,5 \times 10^8$ de células inoculadas UFC. mL⁻¹ e D3 = 1,5 mL do inoculante em 100 mL de água que resultou em $6,75 \times 10^8$ UFC. mL⁻¹.

A inoculação foi feita em substrato comercial para mudas de alface (previamente esterilizado via autoclavagem 121 °C por 20 minutos). Dividiu-se um quilograma (kg) em quatro partes, cada uma das quais foi disposta em recipiente plástico (previamente limpo com álcool 70%) e inoculada com 100 mL das respectivas concentrações dos tratamentos citadas anteriormente. Em seguida, as partes foram homogeneizadas manualmente e dispostas em bandejas de polietileno de 200 células. Foi, então, realizada a semeadura de alface (*Lactuca sativa* L.) da variedade crespa cv. Vera.

As mudas foram mantidas em estufa de cultivo protegido por 21 dias até o desenvolvimento completo do primeiro par de folhas. Após esse período, de forma aleatória, foram retiradas 10 mudas de cada tratamento, para avaliação do comprimento das raízes (CR), altura de planta (AP), massa fresca de raízes (MFR), massa fresca aérea (MFA) e volume radicular (VR). Neste caso, as raízes foram submersas em proveta graduada com volume de água destilada conhecido, sendo volume determinado pela diferença entre o volume inicial e final do recipiente.

Depois de coletados, os dados foram submetidos a análise de variância, com base no teste Duncan com 5% de probabilidade de erro.

No segundo ensaio, foram adotados os mesmos procedimentos do primeiro

ensaio, porém com produto comercial na concentração de 2×10^8 UFC de *Azospirillum brasilense*/mL⁻¹ e com um tratamento a mais: D0 = testemunha ; D1 = 0,5 mL do inoculante em 100 mL de água que resultou em 1×10^8 UFC. mL⁻¹; D2 = 1,0 mL do inoculante em 100 mL de água que resultou em 2×10^8 de células inoculadas UFC. mL⁻¹ ; D3 = 1,5 mL do inoculante em 100 mL de água que resultou em 3×10^8 UFC. mL⁻¹ e D4= 2,0 mL do inoculante em 100 mL de água que resultou em 4×10^8 UFC. mL⁻¹. Foram retiradas 10 mudas de cada tratamento para avaliação e as demais foram utilizadas para montar o terceiro ensaio, com o objetivo de avaliar o desempenho agrônômico “a campo”. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições e cada repetição, com oito replicatas. Importante ressaltar que o uso do *A. brasilense* foi apenas no substrato das mudas.

As mudas foram transplantadas para uma estufa de cultivo protegido, com canteiros de 1 m de largura e 45 m de comprimento, com três linhas de plantio. Antes de receber as plantas, os canteiros foram adubados com esterco bovino distribuído superficialmente, 5 kg m^{-2} e depois coberto com capim Napier (*Pennisetum purpureum*) triturado. O canteiro foi irrigado com mangueira de gotejamento com espaço de 10 cm. As mudas foram transplantadas em 3 linhas espaçadas em 0,3 m, com 4 plantas em cada linha e distantes 0,25 m uma da outra.

As plantas permaneceram a campo por 35 dias após o transplântio, tendo sido amostradas quatro plantas da linha central de cada canteiro para cada tratamento. Foram avaliados massa fresca de raiz (MFR) (g), massa fresca da parte aérea (MFA) (g), número de folhas (NF) (un.) e diâmetro de “cabeça” (DC) (cm). Realizou-se análise de variância com base no teste Duncan com 5% de probabilidade de erro.

Para as análises estatísticas foi utilizado o software SASM-Agri.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme os resultados do primeiro ensaio, o fator comprimento de raiz (CR) foi melhor no tratamento testemunha, mas sem diferença estatística em relação ao tratamento D1. Quanto ao fator altura de planta (AP), a maior dose (D3) foi a única com diferença estatística em comparação com os demais tratamentos, apresentando maior média. Os resultados para volume de raiz (VR) e massa fresca de parte aérea (MFA) mostraram valores crescentes conforme o aumento da dose, porém com diferença estatística superior apenas em comparação ao tratamento testemunha (D0). Já, o atributo massa fresca de raiz (MFR) mostrou-se contraditório quanto à presença do *A. brasiliense* com tratamento D1 e D3 com valores superiores ao D0 e D2 (Tabela 1).

Tabela 1 Atributos de mudas de alface (Lactuca sativa L.) da variedade crespa cv. Vera em diferentes doses de Azospirillum brasilense ([4,5 x 10⁸ de UFC. mL⁻¹])

Tratamento (Dose)	Comprimento de raiz (CR)	Altura de plantas (AP)	Massa fresca de raiz (MFR)	Volume de raiz (VR)	Massa fresca da parte aérea (MFA)
	(cm)	(cm)	(mg)	(ml)	(mg)
D0	5,91* a	9,59 b	52,3 b	0,50 b	69,9 b
D1	6,59 a	6,50 b	69,5 a	0,76 a	78,6 a
D2	5,38 b	6,26 b	57,2 b	0,72 a	78,8 a
D3	4,9 b	7,23 a	66,7 a	0,93 a	80,3 a
CV%	18,3	10,2	22,1	33,1	17,6

Medidas de repetições , sendo que letras iguais as medidas não diferem pelo teste Duncan 5%

Esses valores condizem com o estudo de Siqueira et. Al. (2016) que também evidenciaram que, em plântulas de alface inoculadas com *Azospirillum*, o incremento de massa fresca total foi de até 67% a mais quando comparadas com plântulas cultivadas em substratos esterilizados. Goes (2016), de um lado, registrou aumento em valores no comprimento de planta, diferentemente dos resultados mostrados na Tabela 1; por outro lado, não constatou diferenças no comprimento de raiz, em concordância com os resultados mostrados na mesma tabela. Dartora et. al (2011) afirmam que sementes de milho e de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense* obtiveram influências positivas na germinação e no desenvolvimento inicial de plântulas, quando comparadas com sementes testemunhas sem inoculação da bactéria. Mencionam os autores que a inoculação, combinada com a bactéria *Hermatospirillum seropedicae*, resulta em maior promoção da germinação de sementes e do desenvolvimento inicial de plântulas.

A avaliação do segundo ensaio de mudas mostra o mesmo padrão de resultados encontrado no primeiro, porém revela maior toxicidade com o aumento da concentração das doses. De acordo com os dados adquiridos (Tabela 2), quando comparados com a testemunha, todos os tratamentos resultaram em superioridade em alguma das doses inoculadas no substrato.

Tabela 2 Atributos de mudas de alface (Lactuca sativa L.) da variedade crespa cv. Vera em diferentes doses de Azospirillum brasilense ([2,0 x 10⁸ de UFC. mL⁻¹])

Tratamento (Dose)	Comprimento de raiz (CR)	Altura de plantas (AP)	Massa fresca de raiz (MFR)	Volume de raiz (VR)	Massa fresca da parte aérea (MFA)
	(cm)	(cm)	(mg)	(ml)	(mg)
D 0	6,64* d	9,39 b	1,41 b	1,59 b	1,35 b
D 1	17,09 c	10,54 a	1,33 b	1,78 a	1,26 b
D 2	18,32 b	6,78 c	1,66 a	1,75 a	1,40 b
D 3	19,82 a	6,78 c	1,90 a	1,97 a	1,71 a
D 4	20,41 a	6,51 c	1,57 b	1,43 b	1,70 a
CV%	5,6	5,89	22,04	23,7	16,4

Medidas de repetições , sendo que letras iguais as medidas não diferem pelo teste Duncan 5%

Os dados mostram que o tratamento D3, com dose de 1,5 mL de inoculante para 100 mL de água, foi o que apresentou melhores valores nas características avaliadas como parâmetros de qualidade da muda. Observou-se superioridade estatística nos fatores comprimento de raiz, volume de raiz e massa fresca total das mudas em relação aos demais tratamentos. Dados semelhantes foram encontrados por Lima, Venturoso, Silva, Gomes e Schimidt (2017). Avaliando a eficiência de *Azospirillum b.* inoculado na semente de alface americana e utilizando 50% da fertilização nitrogenada recomendada para a cultura, os pesquisadores notaram dados superiores em comparação com os demais tratamentos. Associando e inoculando em conjunto com enraizador em uma taxa de 19,36% e 23,66%, respectivamente, observaram o incremento de massa fresca da parte aérea e da raiz.

Fasciglione, Casanovas, Quillehauquy, Yommi, Goñi, Roura e Barassi (2015) também observaram que, em comparação com os outros tratamentos sem inoculação, mudas de alfaces inoculadas com *Azospirillum b.*, porém cultivadas em local salino, apresentaram: maiores valores de massa da parte aérea, maior presença de clorofila e de ácido ascórbico, melhor qualidade visual das plantas, maior capacidade antioxidante e menor intensidade de coloração marrom na plantas dias após colheita e armazenamento.

Mangmang, Deaker e Rogers (2014), tendo estudado o desenvolvimento de mudas de alface inoculadas com *Azospirillum b.* na semente, porém cultivadas em meio adubado com resíduos de peixe, também encontraram bons resultados em termos de aumento do número de folhas, altura das mudas e comprimento de raízes. Tais resultados foram superiores aos testes sem inoculação.

Quando avaliado o resultado final da produção do alface 35 dias após o transplântio para os canteiros definitivos, notaram-se diferenças significativas entre as doses de *A. brasilense* (Tabela 3), em termos de massa fresca de raízes (MFR), massa fresca da parte aérea (MFA) e número de folhas (NF). O aumento desses atributos foi observado quando aplicada a dose 1 (0,5 mL de inoculante em 100 mL de água) nas mudas. Importante ressaltar que, neste ensaio, não houve aplicação dessa bactéria a campo: as mudas foram inoculadas em ambiente protegido previamente ao transplântio, que ocorreu com 21 dias após semeadura em bandejas.

Tabela 3 Atributos de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) da variedade *crespa* cv. *Vera* em diferentes doses de *Azospirillum brasilense* ($2,0 \times 10^8$ de UFC. mL⁻¹) a campo em ambiente agroecológico.

Tratamento (Dose)	Comprimento de raiz (CR)	Altura de plantas (AP)	Massa fresca de raiz (MFR)	Volume de raiz (VR)	Massa fresca da parte aérea (MFA)
	(cm)	(cm)	(mg)	(ml)	(mg)
D 0	6,64* d	9,39 b	1,41 b	1,59 b	1,35 b
D 1	17,09 c	10,54 a	1,33 b	1,78 a	1,26 b
D 2	18,32 b	6,78 c	1,66 a	1,75 a	1,40 b
D 3	19,82 a	6,78 c	1,90 a	1,97 a	1,71 a
D 4	20,41 a	6,51 c	1,57 b	1,43 b	1,70 a
CV%	5,6	5,89	22,04	23,7	16,4

Medidas de repetições , sendo que letras iguais as medidas não diferem pelo teste Duncan 5%

Os dados mostram um melhor desempenho da planta quando em presença do inoculante *A. brasiliense*, porém diferentemente do tratamento aplicado às mudas, a dose que se destacou aqui foi a D1, sendo esta a única que se diferenciou significativamente dos demais tratamentos. Saeed Chamangasht et. al., estudando plantas de alface inoculadas com bactérias diazotróficas como *Azospirillum*, *Pseudomonas* e *Azobacter*, também notaram que a produtividade em plantas inoculadas com *Azospirillum* foi até 43.95% a mais do que a de alface cultivada sem a inoculação.

Quando avaliadas as outras doses, não houve diferença estatística significativa quando comparadas com a testemunha. Isso sugere que as concentrações elevadas da bactéria não contribuem para o desenvolvimento das plantas de alface. Hadas e Okon (1987), que estudaram a concentração de *Azospirillum b.* na rizosfera de mudas de tomate, também constataram maior desenvolvimento das plantas inoculadas, observando valores de crescimento superiores: comprimento de raiz em 35%, comprimento da parte aérea em 90%, volume de raiz 50% e peso seco total de área foliar 90% , com concentração de 10^4 a 10^5 UFC mL⁻¹ por raiz da planta, quando comparada a plantas sem presença da bactéria. Com a concentração entre 1×10^8 e 5×10^8 , houve estímulo do crescimento de raízes secundárias; já, quando em presença de alta concentração de bactéria em

1×10^9 , houve o crescimento assimétrico dos tipos de raízes, o que é prejudicial para o estabelecimento da planta a campo.

Duas das principais características no desenvolvimento com a bactéria foram o volume e a massa seca de raiz tanto para as mudas quanto as para a plantas, sendo um fator de grande importância para o bom vigor da planta. De acordo com Cassán e Diaz-zorita (2016), o aumento das produções de gramíneas inoculadas com *A. brasiliense* está sempre correlacionado com o aumento superficial das raízes das plantas, o que leva a um aumento da exploração do volume do solo.

Os resultados obtidos com o experimento descrito neste artigo sugerem que o uso da inoculação de bactérias diazotróficas, como, no caso, o *Azospirillum brasiliense*, tende a favorecer o desenvolvimento de hortaliças, destacando-se como ferramenta alternativa a produtores familiares. Os dados demonstraram que as alfaces inoculadas com *Azospirillum b.* apresentaram melhores rendimentos quando comparadas com a testemunha. Para o desenvolvimento de mudas, quase todas as doses utilizadas resultaram em atributos superiores quando comparadas com o tratamento sem inoculação. Destaca-se a dose 3 (1,5 mL de inoculante em 100 mL de água com aproximadamente $6,7 \times 10^6$ UFC mL), principalmente para os fatores de volume de raiz e de massa fresca total, parâmetros de extrema importância para a qualidade de mudas.

Já, quando avaliada a planta a ponto de colheita, destacou-se a dose 1 (0,5 mL de inoculante em 100 mL de água com aproximadamente $2,2 \times 10^6$ células da bactéria), a única a se diferenciar estatisticamente dos demais tratamentos em quase todos os fatores avaliados, exceto o fator diâmetro de cabeça que não apresentou diferença significativa em nenhum tratamento comparado.

4 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, foi possível concluir que a inoculação de substrato para semeadura de alface com *Azospirillum brasiliense* tende a contribuir para o desenvolvimento inicial na formação de mudas. Isso ficou demonstrado principalmente pelo fator massa fresca, tanto de raiz quanto da parte aérea, que foi superior à testemunha quando em presença da bactéria. Resultados semelhantes aparecem também na variável volume de raiz, porém já apresentando possíveis problemas com toxidez em razão da alta concentração do inoculante, o que fica mais evidente no terceiro ensaio.

Os resultados obtidos com o cultivo a campo corroboraram as análises das mudas feitas anteriormente. Na avaliação das plantas, evidenciaram-se atributos mais desenvolvidos nas que tiveram a inoculação feita no substrato, destacando-se o tratamento D1- (0,5ml de inoculante por 100 mL de água), que foi superior em todos os fatores, comparando-se aos demais tratamentos, menos no fator diâmetro de cabeça, que não apresentou diferença estatística quando comparado com os demais tratamentos. Os valores do terceiro ensaio destacam a possível intoxicação de plantas em razão da grande concentração do inoculante com *Azospirillum brasiliense*.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, Raul Matos et al. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum* brasileiro e níveis de nitrogênio. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 44, n. 9, p.1556-1560, set. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20130355>.
- BURDMAN S et al., Y., 1996. Promotion of nod gene inducers and nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris*) roots inoculated with *Azospirillum* brasileiro Cd. **Applied and Environmental Microbiology** 62, 3030e3033.
- CASSÁN, Fabricio; DIAZ-ZORITA, Martín. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology And Biochemistry**, [s.l.], v. 103, p.117-130, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.08.020>.
- DARTORA, J. et al. Germinação de Sementes e Desenvolvimento Inicial de Plântulas de Milho e Trigo Inoculadas com Estirpes de *Azospirillum* brasileiro e *Herbaspirillum seropedicae*. **Global Science And Technology**, [s.l.], v. 6, n. 3, p.190-201, 31 dez. 2013. Global Science and Technology. <http://dx.doi.org/10.14688/1984-3801.v06n03a20>.
- DÍAZ-ZORITA, Martín; FERNÁNDEZ-CANIGIA, María Virginia. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum* brasileiro on dryland wheat productivity. **European Journal Of Soil Biology**, [s.l.], v. 45, n. 1, p.3-11, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.07.001>.
- EMBRAPA - Técnicas de inoculação de bactérias aumentam produtividade da soja, 02/04/2019
- FASCIGLIONE, Gabriela; CASANOVAS, Elda M.; QUILLEHAUQUY, Victoria; YOMMI, Alejandra K.; GOÑI, María G.; ROURA, Sara I.; BARASSI, Carlos A.. *Azospirillum* inoculation effects on growth, product quality and storage life of lettuce plants grown under salt stress. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 195, p.154-162, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.015>.
- FREITAS, J. L. M. et al. matéria orgânica e inoculação com *azospirillum* na incorporação de n pelo milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v.17 n.10 out. 1982.
- FUKAMI, Josiane et al. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **Amb Express**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.3-5, 4 maio 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>.
- GOMES, Andréa M.a. et al. Isolamento, seleção de bactérias e efeito de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**, [s.l.], v. 21, n. 4, p.699-703, dez. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-05362003000400026>.
- HADAS, Rivka; OKON, Yaacov. Effect of *Azospirillum* brasileiro inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. **Biology and Fertility of Soils**, [s.l.], v. 5, n. 3, p.241-247, dez. 1987. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00256908>. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.015>. <http://see>

r.sct.em brapa.br/index.php/pab/article/view/16310

LIMA, Antonio Anicete de; VENTUROSO, Luciano dos Reis; SILVA, Bruno Antonio Azevedo; GOMES, Aniquely Ferreira; SCHIMIDT, Osvino. Eficiência da inoculação de *Azospirillum* brasileiro associado com enraizador no crescimento e na produção de alface. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s.l.], v. 12, n. 2, p.233- 240, 17 jun. 2017. Grupo Verde de Agroecologia e Abelhas. <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v12i2.4300>.

LIMA, N. S. A.; VOGEL, G. F.; FEY, R. Rates of application of *Azospirillum* brasileiro in tomato crop. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 5, n. 4, p. 81-87, out./dez. 2018. ISSN 2358-6303.

MANGMANG, Jonathan S.; DEAKER, Rosalind; ROGERS, Gordon. Response of lettuce seedlings fertilized with fish effluent to *Azospirillum* brasileiro inoculation. **Biological Agriculture & Horticulture**, [s.l.], v. 31, n. 1, p.61-71, 24 out. 2014. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/01448765.2014.972982>.

MAPA - notícias - Alimentos orgânicos renderam R\$ 4 bilhões a produtores brasileiros em 2018.

MONTEIRO, Lino Bittencourt; SOUZA, Alexander; PASTORI, Patrik Luiz. Comparação econômica entre controle biológico e químico para o manejo de ácaro-vermelho em macieira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, [S.L.], v. 28, n. 3, p. 514-517, dez. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-29452006000300038>.

OBRZUT, Vanessa Vani Características agrônômicas e alterações bioquímicas do tomateiro em função do uso de *Bacillus subtilis* em sistema de cultivo orgânico. / Vanessa Vani Obrzut. - Curitiba: 2016. 59 f. il.

REVISTA HORTIFRUTI BRASIL - edição especial ano 17 Dez/2018 e Jan/2019

REVISTA GLOBO RURAL – Edição 411, janeiro de 2020

SILVEIRA, Elineide B. et al. Bacterização de sementes e desenvolvimento de mudas de pepino. **Horticultura Brasileira**, [s.l.], v. 22, n. 2, p.217-221, jun. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-05362004000200011>.

SIQUEIRA Glaudecenir Antonios - Efeitos da inoculação de *Azospirillum* em plântulas de Alface americana (*Lactuca Sativa* L.) cv Ariel <http://bdm.ufmt.br/handle/1/753>

VEJAN, Pravin et al. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability-A Review. **Molecules**, [s.l.], v. 21, n. 5, p.573-575, 29 abr. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21050573>.