

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Engenharia
Campus de Ilha Solteira
Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos**

CARLOS EDUARDO DA SILVA OLIVEIRA

**INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM SISTEMA
HIDROPÔNICO NA NUTRIÇÃO, PRODUÇÃO E QUALIDADE DA
ALFACE AMERICANA**

**Ilha Solteira
2023**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de Ilha Solteira

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA (SISTEMA DE
PRODUÇÃO)**

CARLOS EDUARDO DA SILVA OLIVEIRA

**INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM SISTEMA HIDROPÔNICO
NA NUTRIÇÃO, PRODUÇÃO E QUALIDADE DA ALFACE
AMERICANA**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para a obtenção do título de doutor em Agronomia. Especialidade: Sistemas de Produção.

Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho
Orientador

**Ilha Solteira
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

O48i Oliveira, Carlos Eduardo da Silva.
Inoculação de rizobactérias em sistema hidropônico na nutrição, produção e qualidade da alface americana / Carlos Eduardo da Silva Oliveira. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
274 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistema de Produção, 2023

Orientador: Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho
Inclui bibliografia

1. *Lactuca sativa*. 2. Assimilação de carbono. 3. Absorção de nutrientes. 4. Bactérias promotoras do crescimento de plantas. 5. Nitrato redutase. 6. Hidroponia.


Raiane da Silva Santos

Supervisora Técnica de Seção
Setor Técnico de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRB/8 - 9999

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM SISTEMA HIDROPÔNICO NA NUTRIÇÃO,
PRODUÇÃO E QUALIDADE DA ALFACE AMERICANA

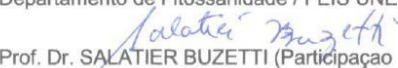
AUTOR: CARLOS EDUARDO DA SILVA OLIVEIRA

ORIENTADOR: MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia,
especialidade: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO (Participação Presencial)
Departamento de Fitossanidade / FEIS UNESP Ilha Solteira



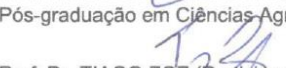
Prof. Dr. SALATIER BUZETTI (Participação Presencial)
Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP



Prof. Dr. ENES FURLANI JUNIOR (Participação Presencial)
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP



Prof. Dr. EDSON CABRAL DA SILVA (Participação Presencial)
Pós-graduação em Ciências Agrárias / Instituto Federal Goiano - Câmpus de Rio Verde



Prof. Dr. TIAGO ZOIZ (Participação Presencial)
/ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul

Ilha Solteira, 17 de fevereiro de 2023

DEDICATÓRIA

À minha esposa, Ágatha Ferreira da Costa, por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis e nos mais felizes desta caminhada, me dando força para seguir em frente e lutar pelos meus objetivos.

Aos meus pais, Isabel Ap. da Silva Oliveira e José Carlos de Oliveira (*in memorian*), que estiveram ao meu lado desde o início da minha vida, como na minha carreira, me apoiando em todas as escolhas que tomei. Por me darem o exemplo de como ser humilde, honesto, amoroso, respeitoso, otimista, altruísta, responsável, generoso e determinado. Por me ensinarem que não existe conquista sem luta e não ter medo de trabalhar para obter os melhores resultados.

À minha irmã, Carla Beatriz de Oliveira, que foi uma amiga nos momentos mais difíceis, por estar ao meu lado em momentos difíceis e felizes, me incentivar a crescer na vida pessoal e profissional.

Aos meus sogros, Maria C. Martins Ribeiro e Rubens Ferreira da Costa (*in memorian*), que acompanharam minha trajetória desde meu início de relacionamento com sua filha, me apoiando e me aconselhando em diversos aspectos da minha vida profissional e pessoal.

Aos meus avós, José R. Oliveira e Pedralina B. Oliveira, Vicente Silva e Isaura B. Silva (*in memorian*), por serem o alicerce dos meus pais, os quais conseguiram participar integralmente da formação do meu caráter. Seres humanos surpreendentes que me ensinaram muito com sua grande experiência de vida, a quem devo grande parte do meu amor pela agricultura, ambas famílias foram construídas mediante ao trabalho rural.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar à frente em todos os projetos e planos da minha vida.

À minha esposa, Ágatha Ferreira da Costa, por estar ao meu lado em todos os momentos da minha carreira e vida, muitas vezes me auxiliando nas mais distintas atividades experimentais.

A minha mãe, Isabel Aparecida da Silva Oliveira, ao meu pai, José Carlos de Oliveira (*in memoriam*) e à minha irmã, Carla Beatriz de Oliveira Silva, por me apoiarem em todos os momentos difíceis e felizes, e na formação do meu caráter.

À minha sobrinha, Isabela de Oliveira Silva e ao meu sobrinho Murillo de Oliveira Silva, que contribuiu para o meu estado emocional, trazendo-me felicidade em momentos ruins, pela sua simplicidade e amorosidade.

Aos meus amigos Emílio Queiroz, Rossiley Queiroz, Eduardo Queiroz e Heloisa Guerra, que contribuíram com meu crescimento pessoal e profissional, em momentos pessoais difíceis me acolheram e me proporcionaram muitos momentos felizes durante minha trajetória no doutorado.

Ao Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, pela orientação, pelos conhecimentos transmitidos e pelo estímulo e confiança que depositou em meu trabalho durante esta trajetória, estando sempre disponível, e pelo grande apanhado de conhecimento transmitido.

Ao Marcelo Rinaldi da Silva, que por muitas vezes contribuiu para meu crescimento pessoal e profissional, pelos conselhos, pelo conhecimento transmitido, pelo estímulo e confiança depositada em mim durante minha trajetória na instituição e no grupo de Nutrição de Plantas.

Ao Dr. Cleiton Dalastra e ao Prof. Dr. Pablo Forlan Vargas pelos conhecimentos transmitidos na área de horticultura e hidroponia.

Ao Prof. Dr. Tiago Zoz por contribuir diretamente com meu crescimento intelectual e profissional, me estimular a persistir na carreira acadêmica e de pesquisa, confiar no meu potencial como pesquisador e pelas parcerias incansáveis em ensaios de campo e casa de vegetação.

À Profa. Dra. Liliane Santos de Camargos e ao Dr. Jailson Vieira Aguiar pelas contribuições técnicas e científicas durante o desenvolvimento dos experimentos, a todos os membros do Laboratório de Fisiologia do Metabolismo Vegetal.

Aos discentes de graduação e futuros colegas de profissão, Paulo Fernando, Victória Giolo, Leticia Schenaide, Júlia Revolti, Vinicius Balbino, Pedro Gomes, Guilherme Marcandalli, Vinicius Raspini, Leticia Santana, Gabriel Leite, Geovana Caetano, Matheus, Nathalia Mamontow, João Victor, Camila Martins, Grazi, Karen Vicenti, Kaway, Rafaela Marega, Henrique Fernandes, por contribuírem na condução destes e de outros experimentos.

Aos colegas e amigos de Pós-Graduação que contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional (excelentes pesquisadores) Isabela Gato, Vitória Almeida, Me. Guilherme Carlos, Dr. Arshad Jalal, Thaissa Julyanne, Bruno Horschut, Prof. Dr. Fernando Galindo, Eduardo Marcandalli e Dr. Leandro Freitas por estarem presente em grande parte das pesquisas realizadas na minha breve passagem pela instituição.

Aos amigos de trabalho do grupo de nutrição de plantas e funcionários da FEPE e da UNESP Campus II, os quais contribuíram para a instalação e condução deste e de outros experimentos realizados na FEPE, foi um grande prazer trabalhar, conviver e usufruir do vosso companheirismo e amizade.

A todo o corpo docente do curso de Pós-Graduação em Agronomia (Sistema de Produção) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Engenharias de Ilha Solteira.

A todos os técnicos e funcionários da FEIS/UNESP que contribuíram diretamente e indiretamente com minha jornada ao decorrer do curso.

A todos meus familiares Maria, Rubens (*in memorian*), Ari, Karine, Fernando, Samantha, Amanda, Mauricio, Herik, Tias Neusa, Iracema e Divina e aos meus primos Marcela, Mauro, Washington, Luciene e Lidiane, que estiveram sempre me auxiliando psicologicamente e emocionalmente, para que chegasse ao findar desta pós-graduação. Gostaria de dar ênfase para aqueles que me auxiliaram de forma direta, e não estando presente na conquista deste título meu avô José Rodrigues de Oliveira e meu pai José Carlos de Oliveira (*in memória*).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela bolsa de estudos no Brasil e todo apoio financeiro. Foi fundamental à minha formação profissional. O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Processo número 2020/11621-0.

TRECHO DE LIVRO: Educação: o sonho possível (Paulo Freire)

“(...) Ai daqueles e daquelas, entre nós,
que pararem com a sua capacidade de sonhar,
de inventar a sua coragem de denunciar e de anunciar.
Ai daqueles que em lugar desta constante viagem ao amanhã,
se atrelem a um passado de exploração e de rotina.
Acreditamos que a educação sozinha não transforma a sociedade,
sem ela tampouco a sociedade muda.
Se a nossa opção é progressiva,
se estamos a favor da vida e não da morte,
da equidade e não da injustiça,
do direito e não do arbítrio,
da convivência com o diferente e não de sua negação,
não temos outro caminho se não viver a nossa opção.
Encarná-la, diminuindo, assim,
a distância entre o que dizemos e o que fazemos (...)”

RESUMO

O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas tem aumentado a cada dia em busca de uma agricultura sustentável. A inoculação com *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* tem sido promissora para aumentar a produtividade, acúmulo de nutrientes, crescimento de raízes e na fisiologia das plantas cultivadas, porém pouco se sabe do efeito deste microrganismo em cultivo hidropônico. O objetivo deste estudo foi estimar a dose de inoculante com a bactéria *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* como combinar as doses indicadas para aumentar a produtividade, os componentes produtivos, as trocas gasosas, nutrição de plantas e a análise econômica, assim como a redução do nitrato foliar de alface hidropônica. Houve menor acúmulo de NO_3^- e aumento da atividade da enzima nitrato redutase nas folhas de alface com o aumento das doses de *A. brasilense*. A dose de 44 mL 100 L⁻¹ do inoculante de *A. brasilense* proporcionou maior produtividade de folhas frescas de alface americana (cultivar Angelina), sendo a dose indicada para conseguir proporcionar a maior eficiência produtiva. A inoculação com doses entre 34 e 39 mL 100 L⁻¹ aumentou a eficiência fotossintética, a assimilação de CO_2 e a eficiência do uso da água pelas plantas de alface. A inoculação de *B. subtilis* na dose de 33 mL 100 L⁻¹ via solução nutritiva no cultivo hidropônico de alface proporcionou maior eficiência fotossintética, acúmulo de N e produtividade de folhas das plantas, além de a redução do acúmulo de NO_3^- e aumento da atividade da enzima nitrato redutase na parte aérea das plantas. A inoculação de *P. fluorescens* na dose de 29 mL 100 L⁻¹ via solução nutritiva no cultivo hidropônico de alface proporcionou maior eficiência fotossintética, acúmulo de N e produtividade de folhas das plantas, além de a redução do acúmulo de NO_3^- e aumento da atividade da enzima nitrato redutase na parte aérea das plantas de alface. Houve redução do acúmulo de NO_3^- foliar na alface em 69, 83, 82 e 75% sob as inoculações com *A. brasilense*, *B. subtilis*, *A. brasilense* + *B. subtilis* e *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens*, respectivamente. A inoculação isolada de *P. fluorescens* e a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* são as mais indicadas para cultivo de alface hidropônico, por proporcionar a maior produtividade, lucratividade e acúmulos de N, K, Ca, Mg, Cu e Mn.

Palavras-Chave: *Lactuca sativa*; Assimilação de carbono; absorção de nutrientes; bactérias promotoras do crescimento de plantas; nitrato redutase; hidroponia.

ABSTRACT

The use of plant growth-promoting bacteria has been increasing every day in search of sustainable agriculture. Inoculation with *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* has been promising to increase productivity, nutrient accumulation, root growth and the physiology of cultivated plants, but little is known about the effect of this microorganism in hydroponic cultivation. The objective of this study was to estimate the inoculant dose with the bacteria *A. brasilense*, *B. subtilis* and *P. fluorescens*, how to combine the indicated doses to increase productivity, productive components, gas exchange, plant nutrition and economic analysis, as well as the reduction of foliar nitrate in hydroponic lettuce. There was less accumulation of NO_3^- and an increase in the activity of the enzyme nitrate reductase in lettuce leaves with increasing doses of *A. brasilense*. The dose of 44 mL 100 L⁻¹ of the inoculant of *A. brasilense* provided greater yield of fresh iceberg lettuce leaves (cultivar Angelina), being the indicated dose to achieve greater productive efficiency. Inoculation with doses between 34 and 39 mL 100 L⁻¹ increased photosynthetic efficiency, CO₂ assimilation and water use efficiency by lettuce plants. Inoculation of *B. subtilis* at a dose of 33 mL 100 L⁻¹ via nutrient solution in hydroponic lettuce cultivation provided greater photosynthetic efficiency, N accumulation and plant leaf yield, as well as reduced NO_3^- accumulation and increased activity of the enzyme nitrate reductase in the shoot of plants. Inoculation of *P. fluorescens* at a dose of 29 mL 100 L⁻¹ via nutrient solution in hydroponic lettuce cultivation provided greater photosynthetic efficiency, N accumulation and plant leaf yield, in addition to reducing NO_3^- accumulation and increasing activity of the enzyme nitrate reductase in the aerial part of lettuce plants. There was a reduction in leaf NO_3^- accumulation in lettuce by 69, 83, 82 and 75% under inoculations with *A. brasilense*, *B. subtilis*, *A. brasilense* + *B. subtilis* and *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens*, respectively. Isolated inoculation of *P. fluorescens* and co-inoculation of *B. subtilis* + *P. fluorescens* are the most suitable for hydroponic lettuce cultivation, as they provide greater yield, profitability and accumulation of N, K, Ca, Mg, Cu and Mn.

Palavras-Chave: *Lactuca sativa*; carbon assimilation; nutrient uptake; plant growth-promoting bacteria; nitrate reductase; hydroponics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Condições climáticas de umidade relativa do ar (UR), temperatura máxima (TMáxima), média (TMédia) e mínima (TMiníma) e radiação PAR (PAR) durante a realização do experimento.....	53
Figura 2 – Esquema da bancada de condução dos testes.....	53
Figura 3 – Correção do pH e reposição condutividade elétrica (CE) em sistema hidropônico NFT no tratamento controle (A), com a inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva na dose 8 mL 100L ⁻¹ (B) 16 mL 100L ⁻¹ (C), 32 mL 100L ⁻¹ (D), 64 mL 100L ⁻¹ (E) e a elevação da CE ocasionada pela inoculação (F) no período do experimento.....	56
Figura 4 – Comprimento da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o comprimento das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	62
Figura 5 – Massa fresca da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o massa fresca das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	64
Figura 6 – Massa seca da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa seca das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	66
Figura 7 – Produtividade de massa fresca (A) e o número de folhas (B) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	67
Figura 8 – Índice de clorofila foliar aos 10 DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	68
Figura 9– Acúmulo de nitrogênio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de fósforo na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.	70
Figura 10– Acúmulo de nitrogênio total nas plantas de alface em toda bancada de cultivo hidropônico e o fornecimento total de nitrogênio via solução nutritiva em todo período de cultivo em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	71
Figura 11 – Acúmulo de potássio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de enxofre na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.	72

Figura 12 – Acúmulo de cálcio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de magnésio na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.	74
Figura 13 – Acúmulo de boro na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de cobre na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.	76
Figura 14 – Acúmulo de ferro na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de zinco na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.	78
Figura 15 – Acúmulo de manganês na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.	79
Figura 16 – Acúmulo de nitrogênio nas raízes (A), fósforo (B), potássio (C), enxofre(D), cálcio (E) e magnésio (F) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	81
Figura 17 – Acúmulo de boro nas raízes (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e zinco (E) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	82
Figura 18 – Concentração foliar de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) aos 31 dias após o transplântio das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.	83
Figura 19 – Trocas gasosas foliares aos na concentração subestomática de gás carbônico (<i>C_i</i>) aos 17 DAT (A) e aos 31 DAT (E), condutância estomática (<i>g_s</i>) aos 17 DAT (B) e aos 31 DAT (F), taxa de fotossíntese líquida (A) aos 17 DAT (C) e aos 31 DAT (G), transpiração (<i>E</i>) aos 17 DAT (D) e aos 31 DAT (H) plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	85
Figura 20 – Trocas gasosas foliares aos na eficiência do uso da água (<i>EUA</i>) aos 17 DAT (A) e aos 31 DAT (B), e do estado hídrico das folhas no conteúdo relativo de água das folhas (C) e o índice de integridade de membranas celulares das folhas (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	87
Figura 21 – Acúmulo de amônio na parte aérea (A), nas raízes (C), acúmulo de nitrato na parte aérea (B), nas raízes (D), concentração de aminoácidos totais (E), carboidratos totais (F) e atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas (G) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva.....	88

Figura 22 – Mapa de calor dos coeficientes de correlação de Pearson obtidos das variáveis analisadas em alface em resposta à inoculação com doses de <i>A. brasilense</i> .	102
Figura 23 - Condições climáticas de umidade relativa do ar (UR), temperatura máxima (TM _{áxima}), média (TM _{édia}) e mínima (TMin _{íma}) e radiação PAR (PAR) durante a realização do experimento.	107
Figura 24 – Esquema da bancada de condução dos testes.	108
Figura 25 – Correção do pH e reposição condutividade elétrica (CE) em sistema hidropônico NFT no tratamento controle (A), com a inoculação de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva na dose 7,8 mL 100L ⁻¹ (B) 15,6 mL 100L ⁻¹ (C), 31,2 mL 100L ⁻¹ (D), 62,4 mL 100L ⁻¹ (E) e a elevação da CE ocasionada pela inoculação (F) no período do experimento.	110
Figura 26 – Comprimento da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o comprimento das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.	115
Figura 27 – Massa fresca da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa fresca das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.	118
Figura 28 – Massa seca da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa seca das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.	120
Figura 29 – Produtividade de massa fresca (A) e o número de folhas (B) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.	121
Figura 30 – Índice de clorofila foliar na 10 DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.	122
Figura 31 – Acúmulo de nitrogênio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de fósforo na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.	124
Figura 32– Acúmulo de nitrogênio total nas plantas de alface em toda bancada de cultivo hidropônico e o fornecimento total de nitrogênio via solução nutritiva em todo período de cultivo em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva...	125
Figura 33 – Acúmulo de potássio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de enxofre na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT	

(D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.....	126
Figura 34 – Acúmulo de cálcio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de magnésio na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.....	128
Figura 35 – Acúmulo de boro na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de cobre na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.....	130
Figura 36 – Acúmulo de ferro na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de zinco na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.....	132
Figura 37 – Acúmulo de manganês na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.....	133
Figura 38 – Acúmulo de nitrogênio nas raízes (A), fósforo (B), potássio (C), enxofre(D), cálcio (E) e magnésio (F) das plantas de alface americana em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva. ...	135
Figura 39 – Acúmulo de boro nas raízes (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e zinco (E) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.	136
Figura 40 – Concentração foliar de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) aos 31 dias após o transplântio das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva. ...	138
Figura 41 – Resultado da análise de trocas gasosas foliares na concentração subestomática de gás carbônico (Ci) aos 17 DAT (A) e aos 31 DAT (E), condutância estomática (gs) aos 17 DAT (B) e aos 31 DAT (F), taxa de fotossíntese líquida (A) aos 17 DAT (C) e aos 31 DAT (G), transpiração (E) aos 17 DAT (D) e aos 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.	139
Figura 42 – Resultado da eficiência do uso da água (EUA) aos 17 DAT (A) e aos 31 DAT (B), e do estado hídrico das plantas no conteúdo relativo de água das folhas (C) e o índice de integridade de membranas celulares das folhas (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.....	141
Figura 43 – Acúmulo de amônio na parte aérea (A), nas raízes (C), acúmulo de nitrato na parte aérea (B), nas raízes (D), concentração de aminoácidos totais (E), carboidratos totais (F) e atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas (G)	

das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.	142
Figura 44 – Mapa de calor dos coeficientes de correlação de Pearson obtidos das variáveis analisadas em alface em resposta à inoculação com doses de <i>B. subtilis</i>	159
Figura 45 - Condições climáticas de umidade relativa do ar (UR), temperatura máxima (TM _{áxima}), média (TM _{édia}) e mínima (TM _{ínima}) e radiação PAR (PAR) durante a realização do experimento.	164
Figura 46 – Esquema da bancada de condução dos testes.	165
Figura 47 – Correção do pH e reposição condutividade elétrica (CE) em sistema hidropônico NFT no tratamento controle (A), com a inoculação de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva na dose 8 mL 100L ⁻¹ (B) 16 mL 100L ⁻¹ (C), 32 mL 100L ⁻¹ (D), 64 mL 100L ⁻¹ (E) e a elevação da CE ocasionada pela inoculação (F) no período do experimento.	167
Figura 48 – Comprimento da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o comprimento das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas Fluorescens</i> via solução nutritiva.	173
Figura 49 – Massa fresca da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa fresca das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.	175
Figura 50 – Massa seca da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa seca das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.	177
Figura 51 – Produtividade de massa fresca (A) e o número de folhas (B) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.	178
Figura 52 – Índice de clorofila foliar na 10 DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.	179
Figura 53 – Acúmulo de nitrogênio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de fósforo na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.	181
Figura 54 – Acúmulo de nitrogênio total nas plantas de alface em toda bancada de cultivo hidropônico e o fornecimento total de nitrogênio via solução nutritiva em todo período de cultivo em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.	182

Figura 55 – Acúmulo de potássio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de enxofre na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	183
Figura 56 – Acúmulo de cálcio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de magnésio na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	185
Figura 57 – Acúmulo de boro na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de cobre na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	187
Figura 58 – Acúmulo de ferro na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de zinco na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	189
Figura 59 – Acúmulo de manganês na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	190
Figura 60 – Acúmulo de nitrogênio nas raízes (A), fósforo (B), potássio (C), enxofre(D), cálcio (E) e magnésio (F) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	192
Figura 61 – Acúmulo de boro nas raízes (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e zinco (E) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	193
Figura 62 – Concentração foliar de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) aos 31 dias após o transplântio das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	194
Figura 63 – Trocas gasosas foliares aos na concentração subestomática de gás carbônico (C_i) aos 17 DAT (A) e aos 31 DAT (E), condutância estomática (g_s) aos 17 DAT (B) e aos 31 DAT (F), taxa de fotossíntese líquida (A) aos 17 DAT (C) e aos 31 DAT (G), transpiração (E) aos 17 DAT (D) e aos 31 DAT (H) plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	196
Figura 64 – Trocas gasosas foliares aos na eficiência do uso da água (EUA) aos 17 DAT (A) e aos 31 DAT (B), e do estado hídrico das folhas no conteúdo relativo de água das folhas (C) e o índice de integridade de membranas celulares das folhas (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	197

Figura 65 – Acúmulo de amônio na parte aérea (A), nas raízes (C), acúmulo de nitrato na parte aérea (B), nas raízes (D), concentração de aminoácidos totais (E), carboidratos totais (F) e atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas (G) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.....	199
Figura 66 – Mapa de calor dos coeficientes de correlação de Pearson obtidos das variáveis analisadas em alface em resposta à inoculação com doses de <i>P. fluorescens</i>	215
Figura 67 - Condições climáticas de umidade relativa do ar (UR), temperatura máxima (TMáxima), média (TMédia) e mínima (TMiníma) e radiação PAR (PAR) durante a realização do experimento.	220
Figura 68 – Esquema da bancada de condução dos testes.....	221
Figura 69 – Correção do pH e reposição da condutividade elétrica (CE) em sistema hidropônico NFT no tratamento controle (A), inoculado com <i>A. brasilense</i> (B), <i>B. subtilis</i> (C), <i>P. fluorescens</i> (D), <i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i> (E), <i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i> (F), <i>B. subtilis</i> + <i>P. fluorescens</i> (G) e <i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. fluorescens</i> (H) durante o período do experimento.	223
Figura 70 – Comprimento da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o comprimento das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.....	229
Figura 71 – Massa fresca da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa fresca das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.....	231
Figura 72 – Massa seca da parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa seca das raízes na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.....	233
Figura 73 – Produtividade de massa fresca de folhas (A) e o número de folhas (B) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	234
Figura 74 – Índice de clorofila foliar na 10 DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.....	235
Figura 75– Acúmulo de nitrogênio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de fósforo na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	237

Figura 76 – Acúmulo de potássio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de enxofre na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	239
Figura 77 – Acúmulo de cálcio na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de magnésio na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	241
Figura 78 – Acúmulo de boro na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de cobre na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	243
Figura 79 – Acúmulo de ferro na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de zinco na parte aérea na 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	245
Figura 80 – Acúmulo de manganês na parte aérea na 10 DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	246
Figura 81 – Acúmulo de nitrogênio nas raízes (A), fósforo (B), potássio (C), enxofre(D), cálcio (E) e magnésio (F) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	248
Figura 82 – Acúmulo de boro nas raízes (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e zinco (E) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.....	249
Figura 83 – Concentração foliar de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) aos 31 dias após o transplântio das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	251
Figura 84 – Trocas gasosas foliares aos na concentração subestomática de gás carbônico (C_i) aos 17 DAT (A) e aos 31 DAT (E), condutância estomática (g_s) aos 17 DAT (B) e aos 31 DAT (F), taxa de fotossíntese líquida (A) aos 17 DAT (C) e aos 31 DAT (G), transpiração (E) aos 17 DAT (D) e aos 31 DAT (H) plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	253
Figura 85 – Trocas gasosas foliares aos na eficiência do uso da água (EUA) aos 17 DAT (A) e aos 31 DAT (B), e do estado hídrico das folhas no conteúdo relativo de água das folhas (C) e o índice de integridade de membranas celulares das folhas (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	255

Figura 86 – Acúmulo de amônio na parte aérea (A), nas raízes (C), acúmulo de nitrato na parte aérea (B), nas raízes (D), concentração de aminoácidos totais (E), carboidratos totais (F) e atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas (G) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	256
Figura 87 – Mapa de calor dos coeficientes de correlação de Pearson obtidos das variáveis analisadas em alface em resposta às inoculações e coinoculações via solução nutritiva.....	274

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise de variância dos valores de F calculado para o comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	61
Tabela 2 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (MFR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT. ...	63
Tabela 3 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	65
Tabela 4 – Análise de variância dos valores de F calculado para a produtividade de folhas e número de folhas por planta na 31 DAT.	67
Tabela 5 – Análise de variância dos valores de F calculado para o índice de clorofila foliar aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	68
Tabela 6 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N e de P na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	69
Tabela 7 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de K e de S na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	71
Tabela 8 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Ca e de Mg na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	73
Tabela 9 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B e de Cu na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	75
Tabela 10 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Fe e de Zn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	77
Tabela 11 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Mn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	79
Tabela 12 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N, de P, de K, de S, de Ca e de Mg nas raízes das plantas de alface na 31 DAT.	80
Tabela 13 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B, de Cu, de Fe, de Mn e de Zn nas raízes das plantas de alface na 31 DAT.	81
Tabela 14 – Análise de variância dos valores de F calculado para a concentração de clorofila a (Clo a), de clorofila b (Clo b), de clorofila total (Clo t) e de carotenóides (CAR) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	83
Tabela 15 – Análise de variância dos valores de F calculado para concentração interna de carbono (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A) nas folhas das plantas de alface na 17 e 31 DAT.	84
Tabela 16 – Análise de variância dos valores de F calculado para eficiência do uso da água (EUA) nas folhas das plantas de alface na 17 e 31 DAT e para o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas (IIM) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	86

Tabela 17 – Análise de variância dos valores de F calculado o acúmulo de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) na parte aérea e nas raízes, concentração de aminoácidos totais (AT), carboidratos totais (CT) e na atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	87
Tabela 18 – Custo operacional total (COT, R\$ m^{-2}) e rentabilidade (R\$ m^{-2}) modelo de estrutura de alface americana em hidroponia sob o tratamento controle (0 mL 100 L^{-1} solução nutritiva), e as doses de <i>Azospirillum brasilense</i> via solução nutritiva. ..	90
Tabela 19 – Análise de variância dos valores de F calculado para o comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	115
Tabela 20 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (MFR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT. .	117
Tabela 21 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT. ...	119
Tabela 22 – Análise de variância dos valores de F calculado para a produtividade de folhas e número de folhas por planta na 31 DAT.	121
Tabela 23 – Análise de variância dos valores de F calculado para o índice de clorofila foliar aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	122
Tabela 24 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N e de P na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	123
Tabela 25 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de K e de S na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	125
Tabela 26 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Ca e de Mg na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	127
Tabela 27 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B e de Cu na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	129
Tabela 28 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Fe e de Zn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	131
Tabela 29 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Mn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	133
Tabela 30 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N, de P, de K, de S, de Ca e de Mg nas raízes das plantas de alface na 31 DAT.....	134
Tabela 31 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B, de Cu, de Fe, de Mn e de Zn nas raízes das plantas de alface na 31 DAT.	135
Tabela 32 – Análise de variância dos valores de F calculado para a concentração de clorofila a (Clo a), de clorofila b (Clo b), de clorofila total (Clo t) e de carotenóides (Car) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	137
Tabela 33 – Análise de variância dos valores de F calculado para concentração interna de carbono (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A) nas folhas das plantas de alface na 17 e 31 DAT.....	138

Tabela 34 – Análise de variância dos valores de F calculado para eficiência do uso da água (EUA) nas folhas das plantas de alface na 17 e 31 DAT e para o conteúdo relativo de água (CRA.	140
Tabela 35 – Análise de variância dos valores de F calculado o acúmulo de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) na parte aérea e nas raízes, concentração de aminoácidos totais (AT), carboidratos totais (CT) e na atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	141
Tabela 36 - Custo operacional total (COT, R\$ m ⁻²) e rentabilidade (R\$ m ⁻²) modelo de estrutura de alface americana em hidroponia sob o tratamento controle (0 mL 100 L ⁻¹ solução nutritiva), e as doses de <i>Bacillus subtilis</i> via solução nutritiva.....	144
Tabela 37 – Análise de variância dos valores de F calculado para o comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	172
Tabela 38 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (MFR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT. .	174
Tabela 39 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT. ...	176
Tabela 40 – Análise de variância dos valores de F calculado para a produtividade de folhas e número de folhas por planta na 31 DAT.	178
Tabela 41 – Análise de variância dos valores de F calculado para o índice de clorofila foliar aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	178
Tabela 42 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N e de P na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	180
Tabela 43 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de K e de S na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	182
Tabela 44 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Ca e de Mg na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	184
Tabela 45 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B e de Cu na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	186
Tabela 46 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Fe e de Zn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	188
Tabela 47 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Mn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	190
Tabela 48 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N, de P, de K, de S, de Ca e de Mg nas raízes das plantas de alface na 31 DAT.....	191
Tabela 49 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B, de Cu, de Fe, de Mn e de Zn nas raízes das plantas de alface na 31 DAT.	192
Tabela 50 – Análise de variância dos valores de F calculado para a concentração de clorofila a (Clo a), de clorofila b (Clo b), de clorofila total (Clo t) e de carotenóides (CAR) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	194

Tabela 51 – Análise de variância dos valores de F calculado para concentração interna de carbono (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A) nas folhas das plantas de alface na 17 e 31 DAT.....	195
Tabela 52 – Análise de variância dos valores de F calculado para eficiência do uso da água (EUA) nas folhas das plantas de alface na 17 e 31 DAT e para o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas (IIM) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	197
Tabela 53 – Análise de variância dos valores de F calculado o acúmulo de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) na parte aérea e nas raízes, concentração de aminoácidos totais (AT), carboidratos totais (CT) e na atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	198
Tabela 54 - Custo operacional total (COT, R\$ m ⁻²) e rentabilidade (R\$ m ⁻²) modelo de estrutura de alface americana em hidroponia sob o tratamento controle (0 mL 100 L ⁻¹ solução nutritiva), e as doses de <i>Pseudomonas fluorescens</i> via solução nutritiva.	201
Tabela 55 – Análise de variância dos valores de F calculado para o comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	228
Tabela 56 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (MFR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT. .	230
Tabela 57 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT. ...	232
Tabela 58 – Análise de variância dos valores de F calculado para a produtividade de folhas e número de folhas por planta na 31 DAT.	234
Tabela 59 – Análise de variância dos valores de F calculado para o índice de clorofila foliar aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	235
Tabela 60 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N e de P na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	236
Tabela 61 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de K e de S na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	238
Tabela 62 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Ca e de Mg na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	240
Tabela 63 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B e de Cu na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.	242
Tabela 64 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Fe e de Zn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	244
Tabela 65 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Mn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.....	246
Tabela 66 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N, de P, de K, de S, de Ca e de Mg nas raízes das plantas de alface na 31 DAT.....	247

Tabela 67 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B, de Cu, de Fe, de Mn e de Zn nas raízes das plantas de alface na 31 DAT.	248
Tabela 68 – Análise de variância dos valores de F calculado para a concentração de clorofila A (Clo a), de clorofila B (Clo b), de clorofila total (Clo t) e de carotenóides (Car) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	250
Tabela 69 – Análise de variância dos valores de F calculado para concentração interna de carbono (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A) nas folhas das plantas de alface na 17 e 31 DAT.....	251
Tabela 70 – Análise de variância dos valores de F calculado para eficiência do uso da água (EUA) nas folhas das plantas de alface na 17 e 31 DAT e para o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas (IIM) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	254
Tabela 71 – Análise de variância dos valores de F calculado o acúmulo de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) na parte aérea e nas raízes, concentração de aminoácidos totais (AT), carboidratos totais (CT) e na atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas das plantas de alface na 31 DAT.	256
Tabela 72 - Custo operacional total (COT, R\$ m ⁻²) e rentabilidade (R\$ m ⁻²) modelo de estrutura de alface americana em hidroponia sob as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.	259

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	27
2	REVISÃO DE LITERATURA	31
2.1	Associação entre plantas e bactérias promotoras de crescimento de plantas.....	31
2.2	Rizobactérias para melhorar absorção e uso de nutrientes pelas plantas.....	33
2.3	Técnica do fluxo laminar de nutriente (NFT) no cultivo da alface.....	35
2.4	Utilização de rizobactérias para melhorar a qualidade e produtividade de alface em sistema hidropônico.....	36
	REFERÊNCIAS.....	39
3	Capítulo I. RESPOSTA DE ALFACE AMERICANA A DOSES DE <i>Azospirillum brasilense</i> EM SISTEMA HIDROPÔNICO	49
3.1	INTRODUÇÃO	50
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	52
3.2.1	Localização e caracterização de cultivo.....	52
3.2.2	Delineamento experimental	54
3.2.3	Avaliações biométricas	56
3.2.4	Avaliações nutricionais	57
3.2.5	Avaliações trocas gasosas e estado hídrico da folha	57
3.2.6	Avaliações enzimáticas, clorofila, aminoácidos e carboidratos.....	58
3.2.7	Análise econômica.....	60
3.2.8	Análise estatística	60
3.3	RESULTADOS.....	60
3.3.1	Efeito de doses de <i>A. brasilense</i> sobre o crescimento das plantas	60
3.3.2	Efeito de doses de <i>A. brasilense</i> sobre o acúmulo de nutrientes na parte aérea	69
3.3.3	Efeito de doses de <i>A. brasilense</i> sobre o acúmulo de nutrientes nas raízes	80
3.3.4	Efeito das doses de <i>A. brasilense</i> sobre as trocas gasosas e clorofila foliar	83
3.3.5	Efeito de doses de <i>A. brasilense</i> sobre a atividade da enzima nitrato redutase e do acúmulo de nitrato.....	87
3.3.6	Análise econômica.....	89

3.4	DISCUSSÃO	91
3.5	CONCLUSÕES	96
	REFERÊNCIAS.....	97
	APÊNDICE A – Mapa de calor de correlações	102
4	Capítulo II. RESPOSTA DE ALFACE AMERICANA A DOSES DE <i>Bacillus</i> EM SISTEMA HIDROPÔNICO	103
4.1	INTRODUÇÃO	105
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	107
4.2.1	Localização e caracterização de cultivo.....	107
4.2.2	Delineamento experimental	108
4.2.3	Avaliações biométricas	110
4.2.4	Avaliações nutricionais	111
4.2.5	Avaliações trocas gasosas e estado hídrico da folha	111
4.2.6	Avaliações enzimáticas, clorofila, aminoácidos e carboidratos.....	112
4.2.7	Análise econômica.....	114
4.2.8	Análise estatística	114
4.3	RESULTADOS.....	114
4.3.1	Efeito de doses de <i>B. subtilis</i> sobre o crescimento das plantas.....	114
4.3.2	Efeito das doses de <i>B. subtilis</i> sobre o acúmulo de nutrientes na parte aérea	123
4.3.3	Efeito das doses de <i>B. subtilis</i> sobre o acúmulo de nutrientes nas raízes	134
4.3.4	Efeito das doses de <i>B. subtilis</i> sobre as trocas gasosas e clorofila foliar .	137
4.3.5	Efeito das doses de <i>B. subtilis</i> sobre a atividade da enzima nitrato redutase e do acúmulo de nitrato.....	141
4.3.6	Análise econômica.....	143
4.4	DISCUSSÃO	145
4.5	CONCLUSÕES	152
	REFERÊNCIAS.....	153
	APÊNDICE B – Mapa de calor de correlações	159
5	Capítulo III. RESPOSTA DE ALFACE AMERICANA A DOSES DE <i>Pseudomonas fluorescens</i> EM SISTEMA HIDROPÔNICO	160
5.1	INTRODUÇÃO	162
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	164

5.2.1	Localização e caracterização de cultivo.....	164
5.2.2	Delineamento experimental	165
5.2.3	Avaliações biométricas	167
5.2.4	Avaliações nutricionais	168
5.2.5	Avaliações trocas gasosas e estado hídrico da folha	168
5.2.6	Avaliações enzimáticas, clorofila, aminoácidos e carboidratos.....	169
5.2.7	Análise econômica.....	171
5.2.8	Análise estatística	171
5.3	RESULTADOS.....	171
5.3.1	Efeito das doses de <i>P. fluorescens</i> sobre o crescimento das plantas	171
5.3.2	Efeito das doses de <i>P. fluorescens</i> sobre o acúmulo de nutrientes na parte aérea.....	179
5.3.3	Efeito das doses de <i>P. fluorescens</i> sobre o acúmulo de nutrientes nas raízes	191
5.3.4	Efeito das doses de <i>P. fluorescens</i> sobre as trocas gasosas e clorofila foliar	193
5.3.5	Efeito das doses de <i>P. fluorescens</i> sobre a atividade da enzima nitrato redutase e do acúmulo de nitrato.....	198
5.3.6	Análise econômica.....	199
5.4	DISCUSSÃO	202
5.5	CONCLUSÕES	208
	REFERÊNCIAS.....	209
	APÊNDICE C – Mapa de calor de correlações	215
6	Capítulo IV. INOCULAÇÕES E COINOCULAÇÕES DE <i>Azospirillum brasilense</i>, <i>Bacillus subtilis</i> E <i>Pseudomonas fluorescens</i> EM ALFACE AMERICANA CULTIVADA EM SISTEMA HIDROPÔNICO	216
6.1	INTRODUÇÃO	218
6.2	MATERIAL E MÉTODOS	220
6.2.1	Localização e caracterização de cultivo.....	220
6.2.2	Delineamento experimental	221
6.2.3	Avaliações biométricas	224
6.2.4	Avaliações nutricionais	224
6.2.5	Avaliações trocas gasosas e estado hídrico da folha	224
6.2.6	Avaliações enzimáticas, clorofila, aminoácidos e carboidratos.....	226
6.2.7	Análise econômica.....	227

6.2.8	Análise estatística	227
6.3	RESULTADOS.....	228
6.3.1	Componentes produtivos em resposta as inoculações.....	228
6.3.2	Acúmulo de nutrientes na parte aérea em resposta às inoculações...	236
6.3.3	Acúmulo de nutrientes nas raízes em resposta às inoculações	247
6.3.4	Efeito das inoculações sobre as trocas gasosas e clorofila foliar	249
6.3.5	Efeito das inoculações sobre a atividade da enzima nitrato redutase e acúmulo de nitrato	255
6.3.6	Análise econômica.....	258
6.4	DISCUSSÃO	261
6.5	CONCLUSÕES	267
	REFERÊNCIAS.....	268
	APÊNDICE D – Mapa de calor de correlações	274

1 INTRODUÇÃO

A população mundial em 2050, pode chegar a 9,7 bilhões de habitantes de acordo com as estimativas da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), com aumento de 26% em relação à população atual (FAO, 2019). Com o incremento da população global, associado ao esgotamento previsto dos recursos naturais, há um impulso para uma produção de alimentos mais intensiva e eficiente (LANDERS, 2017). O Institution of Mechanical Engineers (IME) estimaram em 2013 que a produção de alimentos anual no mundo foi de 4 bilhões de toneladas, e cerca de 35 a 50% do que foi produzido foi utilizado para alimentar os seres humanos, dada a baixa eficiência de armazenamento, transporte e durabilidade em pós-colheita e/ou processamento (FOX, 2013).

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo. A alface é a hortaliça folhosa com maior importância econômica e social no Brasil; contribuindo na geração de emprego e renda (ZÁRATE *et al.*, 2010), sobretudo para pequenos produtores. Estima-se que sejam cultivados em torno de 86,8 mil hectares anualmente no Brasil (VILELA; LUENGO, 2022). Contudo, devido sua perecibilidade tem grande percentual de perdas de pós-colheita, e se destaca por ser a mais produzida em sistema hidropônico, cuja técnica mais utilizada no país é a de fluxo laminar de nutrientes, denominada NFT ("Nutrient Film Technique"). No cenário atual, o uso de hidroponia como forma de cultivo de hortaliças, principalmente a alface, tem permitido ganhos de produtividade, versatilidade e principalmente melhoria de pós-colheita (JENSEN, 1999). Além disso, a produção hidropônica oferece aos produtores que estão em regiões de temperaturas elevadas não ideais para cultivo de alface o ano todo (XU *et al.*, 2015). A produção hidropônica também tem como benefícios a menor ocorrência de pragas e patógenos de solos.

A alface é uma das hortaliças mais consumidos no mundo, porém existe grande preocupação por parte dos consumidores e dos produtores, com a qualidade dos alimentos, destacando-se as questões sanitárias, organolépticas e nutricionais. Seu consumo ocorre de maneira geral cru em forma de saladas, por terem folhas ricas em nutrientes e água. Neste contexto de alimentos nutritivos, o aumento da eficiência da absorção e acúmulo dos nutrientes nas plantas, fazem com que ocorra a redução do uso de fertilizantes minerais, que atualmente é um grande desafio na

horticultura (FINCHEIRA *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2017). Entre as características nutricionais estudadas, a concentração de nitrato em alface cultivada em hidroponia destaca-se pela possibilidade de ser nociva à saúde humana. O nitrato (NO_3^-) no organismo humano pode se tornar tóxico (PIGNATELLI *et al.*, 1993; JOOSSENS *et al.*, 1996; YANG *et al.*, 2000). O NO_3^- ingerido a partir dos alimentos pode ser reduzido a nitrito (NO_2^-) no trato digestivo e ao chegar à corrente sanguínea oxida o ferro (Fe^{2+} a Fe^{3+}) da hemoglobina, produzindo a metahemoglobina. A metahemoglobina é incapaz de transportar oxigênio para a respiração celular, o que leva à doença conhecida como metahemoglobinemia, ou doença do "sangue azul" (WRIGHT; DAVISON, 1964). Existe também a possibilidade de o nitrito combinar-se com aminas formando "nitrosaminas", substâncias caracterizadas como carcinogênicas e mutagênicas. Logo, ao aumentar a eficiência do uso do N, a concentração de nitrato na planta será reduzida.

A fisiologia, crescimento e desenvolvimento das plantas estão intimamente associados às condições ambientais e suprimento de nutrientes (SIGNORE *et al.*, 2016). A otimização da aplicação de nutrientes às plantas é fundamental para melhorar a produção agrícola, especialmente para vegetais folhosos de crescimento rápido (HAYDON *et al.*, 2015). O gerenciamento inadequado da solução nutritiva, como o uso de uma concentração muito alta ou muito baixa da solução nutritiva, ou uma composição de íons desequilibrada pode inibir o crescimento das plantas, devido à toxicidade ou deficiência induzida por nutrientes (NOZZI *et al.*, 2018). Com a intenção de reduzir ou eliminar o uso de fertilizantes minerais para agricultura, são necessários estudos que identifiquem ferramentas que facilitam a redução de uso de insumos minerais. Neste aspecto, a exemplo de o uso de rizobactérias para aumentar a resistência a doenças, e promover o crescimento através de mecanismos relacionados com a síntese de enzimas e hormônios que proporcionam aumento do desenvolvimento do sistema radicular e, assim, maior a absorção de água e nutrientes (BUENO *et al.*, 2017).

Deste modo, a utilização de novas tecnologias sustentáveis, visando aumento na produtividade e qualidade de alimentos se faz imprescindível na busca de uma agricultura competitiva e de baixa emissão de carbono. Nesse contexto, práticas que busquem mitigar a utilização de insumos e/ou otimizar sua utilização são estratégias que devem ser utilizadas nos sistemas agrícolas. Por isso, a utilização de inoculantes contendo bactérias diazotróficas que promovem o crescimento e

incrementam a produtividade de plantas chamam cada vez mais atenção. Na literatura existem vários trabalhos confirmando que *Azospirillum spp.* produz fitormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas. A aplicação de *Pseudomonas spp.* e *Bacillus subtilis* promovem melhor eficiência fotossintética em plantas de alface (CORRÊA *et al.*, 2010).

Com o uso de *A. brasilense* no cultivo foi relatado o aumento da atividade da enzima nitrato redutase nas folhas das plantas, reduzindo a concentração de nitrato (REIS JUNIOR *et al.*, 2008). Em contrapartida, aumentando as concentrações de amônio, que por sua vez evita gastos energéticos da planta na conversão de nitrato em amônio, promovendo maior crescimento e acúmulo de massas nas folhas (LUZ *et al.*, 2008). Tien *et al.* (1979) verificaram que os componentes responsáveis pelo estímulo do crescimento de raízes liberados por *A. brasilense* eram o ácido indol-3-acético (AIA), giberelinas e citocininas. Foram constatados também incrementos na absorção da água e nutrientes minerais, maior tolerância a estresses como salinidade, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (BASHAN *et al.*, 2004). O que pode ser aplicado a utilização de *B. subtilis*, que proporciona aumento da eficiência de absorção de fosfatos, contribuindo para maior produtividade, por serem capazes de promover o crescimento das plantas por meio da produção de hormônios de crescimento e da mobilização de fósforo, zinco e nitrogênio para as plantas (CORRÊA; BETTIOL, 2009). As bactérias do gênero *Pseudomonas* são capazes de produzir metabólitos secundários como antibióticos, compostos voláteis, fitormônios e sideróforos, cuja capacidade destas bactérias de promover crescimento das plantas, está ligado ao fato desses organismos produzirem o AIA e outros compostos importantes como a disponibilização de ferro para as plantas em ambientes aquáticos (SIVASAKTHI *et al.*, 2014).

Dessa forma, acredita-se que mesmo em sistema hidropônico a inoculação com *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus subtilis* irá aumentar a eficiência do uso e acúmulo dos nutrientes na planta, reduzir as concentrações de nitrato nas folhas e aumentar a produtividade de massa fresca da alface. Além disso, frente à carência de informações sobre esta interação destas bactérias (pesquisa inédita), acredita-se que possa existir efeito sinérgico entre o uso de *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *B. subtilis* com incremento das concentrações nitrogênio, fósforo, potássio, zinco e ferro nas folhas, além de aumentar a atividade da enzima nitrato redutase. Ressalta-se, ainda, que em função do baixo custo e

facilidade de aquisição de fontes de inoculantes de *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *B. subtilis* a adoção destas tecnologias por parte dos agricultores poderá ser viável e interessante para uma horticultura mais sustentável.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Associação entre plantas e bactérias promotoras de crescimento de plantas

Atualmente, as pesquisas têm se voltado para utilização de bactérias na agricultura, conhecidas como bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), destacando-se as bactérias dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia* (TEIXEIRA FILHO; GALINDO, 2019). O crescimento das plantas são estimulados por uma vasta gama de mecanismos que são descritos conforme sua atuação, como a produção e secreção de fitormônios como o AIA, etileno, citocininas e giberelinas (TIEN *et al.*, 1979; MEZA *et al.*, 2015), o ácido abscísico agindo como regulador de crescimento de plantas (COHEN *et al.*, 2008), óxido nítrico (FIBACH-PALDI *et al.*, 2012) e poliaminas como espermidina, espermina e cadaverina (CASSÁN *et al.*, 2009), aumento na disponibilidade de nutrientes (HUNGRIA *et al.*, 2010), solubilização do fosfato (PUENTE *et al.*, 2004; GALINDO *et al.*, 2016), solubilização de zinco (MUMTAZ *et al.*, 2017), metabólitos secundário como os sideróforos, que agem como carreadores de ferro, aumentando sua disponibilidade para as raízes das plantas (GLASAUER *et al.*, 2022), fixação biológica de nitrogênio (PANKIEVICZ *et al.*, 2015), aumento na eficiência de uso do N (HUNGRIA *et al.*, 2016; GALINDO *et al.*, 2016), biocontrole de fitopatógenos e doenças (CORRÊA *et al.*, 2010), proteção das plantas contra stress salino e componentes tóxicos do solo (CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016) e melhora a estabilidade das membranas celulares das folhas e reduz a taxa da abscisão foliar em condições de estresse hídrico (SILVA *et al.*, 2019). A resposta positiva à inoculação vem sendo descrita como a teoria dos mecanismos múltiplos, dependente da interação inoculante-planta-ambiente (SALVO *et al.*, 2018).

As BPCPs são residentes epifíticas ou endofíticas, não patogênicas, que atuam de forma direta ou indireta promovendo o crescimento das plantas, atuando também como agentes de controle biológico de doenças de plantas (MARIANO *et al.*, 2004). A realização da inoculação em culturas não leguminosas com BPCPs é crescente em diversos países, principalmente na América Latina, em culturas como o trigo e milho (MARKS *et al.*, 2015; SALVO *et al.*, 2018), arroz (SAHOO *et al.*, 2014), cana-de-açúcar (SCHULTZ *et al.*, 2012; ROSA *et al.*, 2020), sorgo (SANTOS *et al.*, 2017), pastagens (HUNGRIA *et al.*, 2016; SAMPAIO *et al.*, 2021), alface

(MORAES *et al.*, 2018), batata (DEVI *et al.*, 2016), tomate (LIMA *et al.*, 2018), cebola (HARTHMANN *et al.*, 2010) e melão (SEIDO *et al.*, 2019). Ensaios conduzidos por mais de 20 anos, em distintas condições de solo e clima, utilizando a campo com variadas culturas não leguminosas verificou-se que as BPCPs têm potencial em aumentar a produtividade das culturas em até 30% (FUKAMI *et al.*, 2016; FUKAMI *et al.*, 2017).

A contribuição do uso de microrganismos rizosféricos tem sido enfatizada pela promoção do crescimento de plantas, aumento da produtividade das culturas, controle e/ou redução da infecção de fitopatógenos, bem como mitigadores de estresses de origem biótica e abiótica (SALVO *et al.*, 2018). Além de ser uma alternativa econômica, ecológica e sustentável que possibilita o aumento na eficiência de uso dos fertilizantes (GARCÍA DE SALAMONE, 2011). De maneira geral, o funcionamento das BPCPs ocorre devido três mecanismos principais: 1) síntese de compostos específicos e fitormônios para as plantas, 2) facilidade de aquisição de nutrientes do solo e 3) prevenção ou redução ao ataque de pragas e doenças (BASHAN *et al.*, 2014; SALVO *et al.*, 2018). As BPCPs apresentam interações associativas com as plantas, em dois principais tipos de associação: 1) associação entre plantas e bactérias de vida livre ou rizosféricas e 2) associação entre plantas e bactérias diazotróficas endofíticas (TEIXEIRA FILHO; GALINDO, 2019).

Bactérias de vida livre: são microrganismos que vivem livremente no solo e podem eventualmente chegar a colonizar os tecidos dos vegetais, desde que o ambiente seja favorável (REIS *et al.*, 2018). De acordo com a vantagem na captação de N, os microrganismos diazotróficos de vida livre são precursores na colonização de ambientes escassos deste nutriente dentro dos mais distintos ecossistemas (KENNEDY; TCHAN, 1992). Como as bactérias do gênero *Azospirillum* que tem como principal característica a capacidade de colonizar as plantas em diferentes ecossistemas, ocorrendo desde regiões árticas a tropicais (REED *et al.*, 2011). Bactérias como a *Azospirillum brasilense* são promotoras de crescimento radicular pela ação dos AIA, giberelinas e citocininas, que são produzidos em associação da planta com a rizobactéria (TIEN *et al.*, 1979).

Bactérias diazotróficas endofíticas são microrganismos que colonizam os tecidos internos das plantas, sem ocasionar nenhum sintoma de patogenicidade, promovendo o crescimento da planta hospedeira (KANEKO *et al.*, 2010). Os gêneros

mais comuns de bactérias endofíticas são *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Micrococcus*, *Pantoea* e *Microbacterium* (HALLMANN *et al.*, 1997; SHI *et al.*, 2014). Todos esses gêneros descritos como de bactérias endofítica, também são habitantes comuns da rizosfera.

No interior da planta, bactérias do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus* também desempenham importante papel como BPCPs e inibem o crescimento de alguns agentes patogênicos por meio de vários mecanismos (COMPANT *et al.*, 2005; RYAN *et al.*, 2008). As *Pseudomonas* são consideradas o grupo mais promissor de rizobactérias no crescimento de plantas envolvendo o controle biológico das doenças em vegetais, além disso, ainda são capazes de produzir metabolitos secundários como antibióticos, fitormônios, compostos voláteis e sideróforos, sendo assim, a habilidade dessas bactérias em promover o crescimento de plantas, está relacionado principalmente pelo fato desse organismos produzirem o AIA e outros compostos importantes (SIVASAKTHI *et al.*, 2014).

O *Bacillus subtilis* tem características de promoção de crescimento múltiplas, incluindo capacidade para crescer a níveis mais elevados de estresse alcalino (pH), além da capacidade de solubilização de fosfato, sendo assim, essa linhagem pode colonizar eficientemente as raízes do algodão sob solos afetados por sais e ajudar as plantas na nutrição do fósforo (AHMAD *et al.*, 2018). Esta espécie também é utilizada em sistema hidropônico para o controle de doenças radiculares como o *Pythium aphanidermatum* que impossibilita o desenvolvimento radicular, absorção de água e nutrientes e por fim leva as plantas a morte, o uso *B. subtilis* proporcionou aumento na produtividade em alface hidropônico (CORRÊA *et al.*, 2010).

2.2 Rizobactérias para melhorar absorção e uso de nutrientes pelas plantas

Na literatura existe vários relatos confirmando que *Azospirillum spp.* produz fitormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas. Galindo *et al.* (2016) relataram que são bactérias capazes de fixar nitrogênio atmosférico, aumentar a eficiência fotossintética e, ainda, a eficiência do uso de nitrogênio. A aplicação de *Pseudomonas spp.* e *Bacillus subtilis* promovem melhor eficiência fotossintética e o aumento da produtividade de alface em sistema hidropônico (CORRÊA *et al.*, 2010).

Em ensaio realizado *in vitro* com plântulas de tomate inoculados com *B. amyloliquefaciens*, verificaram aumento no crescimento de plântulas, ocorrência da

produção de sideróforos e AIA, e também ocorreu a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a solubilização de fosfato, plantas inoculadas mostraram aumento de 36,27% nos comprimentos de raízes, além de o aumento da massa fresca da plântula, ocorreu devido ao aumento do desenvolvimento da raiz e a melhora na absorção de nutrientes e água (ABDALLAH *et al.*, 2018). Existem estirpes de *Bacillus* solubilizadoras de Zn, as quais solubilizam o Zn não disponível através da produção de quelantes, secreção de ácidos orgânicos, aminoácidos, vitaminas e fitormônios, e por meio de sistemas oxido-redutores e extrusão de protões (SARAVANAN *et al.*, 2003). A produção de ácido orgânico por cepas microbianas é um dos principais mecanismos de solubilização do Zn, entre estes ácidos orgânicos, a produção de ácido 2-cetoglucônico e ácido glucônico por BPCP é responsável pela solubilização de Zn (FASIM *et al.*, 2002).

As BPCPs do gênero *Pseudomonas* tem a capacidade de produzir compostos secundários como os sideróforos, que são produzidos por enzimas denominadas de peptídeo sintetase não ribossômica (NRPS), que estão envolvidas na biossíntese não-ribossômica e antibióticos (STACHELHAUSS; MARAHIEL, 1995). Os sideróforos são metabólitos secundário produzidos pelas rizobactérias, estes metabólitos e proteínas com ação quelatizante com massa molecular entre 0,4 e 2 KDa, tendo a função de se ligar ao Fe^{+3} , em condições de baixa disponibilidade de ferro, aumentando sua disponibilidade para planta (GLASAUER *et al.*, 2022). A disponibilidade do ferro no sistema radicular das plantas depende da ação destes quelantes orgânicos, que conserva um apropriado suprimento de ferro por difusão e fluxo de massa em concentrações tão baixas como 10^{-8} M (POWELL *et al.*, 1980). Como estratégia para a obtenção do ferro, as bactérias produzem metabólitos secundários que conseguem se ligar ao Fe e transportá-lo para dentro da célula (PATRIARCA *et al.*, 2002). Esse processo acontece com algumas bactérias que se relacionam simbioticamente com as plantas.

A presença de formas assimiláveis de N diminui a atividade da enzima nitrogenase das bactérias associativas, por outro lado, a produção de auxinas compõe o mecanismo de sinalização de relações simbiótica e associativas entre bactéria e planta e em solos pobres favorecem a FBN (SANTOYO *et al.*, 2016), o que explica a maior contribuição da FBN associativa em condições de solos deficientes em nutrientes. Vale ressaltar que em função da ausência de estruturas simbióticas aparentes, as contribuições da FBN ocorrem de maneira menos intensa,

e mais dependente de fatores relacionados ao meio ambiente, como a disponibilidade de carbono como suprimento energético, disponibilidade hídrica, pH do solo, da rizosfera e do rizoplane, a composição da comunidade microbiana, dentre outros fatores (ANDREOTE *et al.*, 2014). O *A. brasilense* foi relatado como bactéria que aumenta os níveis da atividade da enzima nitrato redutase nas folhas das plantas, em consequência reduz as concentrações de nitrato nas folhas das plantas (REIS JUNIOR *et al.*, 2008), sendo este prejudicial para a saúde humana.

2.3 Técnica do fluxo laminar de nutriente (NFT) no cultivo da alface

O sistema hidropônico Nutrient Film Technique - NFT (Técnica do Fluxo Laminar de Nutriente), caracteriza-se pela aplicação e circulação de lâminas de soluções nutritivas nos canais de cultivo entre as raízes das plantas, com frequência e turnos previamente programados (COOPER, 1996). A alface é a espécie de maior expressão no sistema de cultivo NFT, possivelmente por ser a hortaliça folhosa de maior aceitação pelos consumidores, apresentar ciclo curto, alta produtividade e rápido retorno do capital investido (SANTOS, 2000). Adicionalmente, no cultivo hidropônico de alface, as plantas geralmente apresentam melhor qualidade e redução acentuada de doenças e pragas, e sua adequabilidade confere produções uniformes (HELBEL JÚNIOR *et al.*, 2008).

A alface é utilizada na alimentação humana em todo mundo, oferecendo grande importância em dietas com restrição calórica, por conter apenas 15 kcal em uma porção de 100 gramas (BEZERRA NETO *et al.*, 2006). A hortaliça contribui com uma quantidade notável de compostos polifenólicos, vitaminas A, B1, B2, B6, C, E, cálcio e ferro (ROMANI *et al.*, 2002). E ainda contribui como uma importante fonte de antioxidantes e possui alta atividade de eliminação de radicais, que é frequentemente creditada como auxiliar na prevenção de muitas doenças crônicas, como câncer e doenças cardiovasculares (CARTEA *et al.*, 2011).

O cultivo da alface ocorre, principalmente, em regiões de clima ameno com temperatura ideal entre 15 e 20 °C (BEZERRA NETO *et al.*, 2005). A temperatura base para as cultivares do tipo americana gira entorno de 10 °C, e o acúmulo térmico exigido entre 380 a 450 graus-dias, para atingir o ponto de colheita em ambiente protegido (ARAUJO *et al.*, 2005). Temperaturas extremas da solução nutritiva na zona das raízes na alface reduz a absorção de água e nutrientes, em consequência dificultando cultivo de alface por reduzir a translocação de nutrientes e

a eficiência do uso dos mesmos pela planta (NELSON, 2012). Uma das maiores dificuldades do cultivo de alface americana em região tropical está relacionada ao aquecimento da solução nutritiva e aumento da taxa de transpiração das plantas, que prejudica o estado hídrico e fisiológico das plantas, prejudicando seu cultivo durante a maior parte do ano (DALASTRA, 2017).

Devido à grande quantidade de tipos e cultivares de alface disponíveis no mercado e ao clima do ambiente produtivo, demandam um constante ajuste em vários aspectos do sistema NFT, a solução nutritiva e sua concentração de sais (condutividade elétrica) tem sido muito discutida em condições tropicais, a absorção da solução nutritiva pela planta visa o suprimento hídrico e mineral para o desempenho normal de suas atividades fisiológicas. Contudo, o aspecto de maior relevância é a condutividade elétrica da solução nutritiva, que em condições de elevada temperatura prejudicam a absorção da solução nutritiva pelo excesso de sais, sendo necessário readequar a condutividade utilizada para cada condição de cultivo (DALASTRA, 2017). Em ocasião de elevação da concentração salina, ocorre a redução do potencial osmótico da solução, fazendo com que a planta tenha dificuldade em absorver água suficiente para repor a perda por transpiração nas horas mais quentes do dia, levando a morte (SAMARAKOON *et al.*, 2006).

2.4 Utilização de rizobactérias para melhorar a qualidade e produtividade de alface em sistema hidropônico

Com a intenção de reduzir o uso de fertilizantes minerais para uma agricultura sustentável, são necessários estudos que identifiquem tecnologias (“ferramentas”) que facilitem a redução de insumos minerais. As rizobactérias podem ser utilizadas para aumentar a resistência a doenças, promover o crescimento por meio de mecanismos relacionados com a síntese de enzimas e hormônios que proporcionam um aumento do desenvolvimento do sistema radicular, assim como da absorção de água e nutrientes (BUENO *et al.*, 2017). Deste modo, a utilização de novas tecnologias sustentáveis, visando aumento na produtividade e qualidade de alimentos se faz imprescindível na busca de uma agricultura competitiva; nesse contexto, práticas que busquem mitigar a utilização de insumos e/ou otimizar sua utilização são estratégias que devem ser utilizadas nos sistemas agrícolas (TEIXEIRA FILHO; GALINDO, 2019).

A utilização de inoculantes contendo bactérias diazotróficas que promovem o crescimento e incrementam a produtividade de plantas chamam cada vez mais atenção. As BPCPs foram introduzidas nos sistemas hidropônico e no campo, por promoverem efeitos positivos na qualidade e produtividade das plantas (LEE; LEE, 2015). A microflora microbiana pode se desenvolver rapidamente após o plantio em sistemas hidropônicos, podendo utilizar os exsudatos de plantas, compostos da solução nutritiva e materiais vegetais mortos para sustentação (WAECHTER-KRISTENSEN *et al.*, 1996). A composição da microflora nos sistemas hidropônicos pode ser afetada pelas fontes dos nutrientes e pelos fatores ambientais (KHALIL; ALSANIUS, 2001). A utilização de *Pseudomonas spp.* e *Bacillus spp.* têm sido relatado entre os pesquisadores como biocontroladores de doenças radiculares em alface cultivado em sistemas hidropônicos, entretanto, foi verificado promoção de crescimento das plantas aliados ao controle biológico utilizando estas bactérias (CORRÊA; BETTIOL, 2009; KHALIL; ALSANIUS, 2009; CORRÊA *et al.*, 2010; RAAIJMAKERS *et al.*, 2010).

Análise do uso de *Pseudomonas spp.* no cultivo de alface em sistema hidropônico, forneceram evidências que os acionamentos de mecanismos de defesa e vias metabólicas melhoraram o desenvolvimento da alface e sua qualidade nutricional (LEE *et al.*, 2016). Este resultado do estudo fornece conhecimento importante sobre a relação entre plantas e BPCPs em sistemas hidropônicos. No cultivo de alface, tomate e pepino hidropônico com utilização de *Pseudomonas spp.* constatou-se aumento no crescimento radicular e no rendimento das culturas (RANKIN; PAULITZ, 1994). A *Bacillus subtilis*, é uma bactéria Gram-positiva, bem conhecida como um potenciador de crescimento de plantas com a capacidade de diminuir altas concentrações de salinidade da água ou soluções nutritivas (WOITKE *et al.*, 2004). Constatou-se com a inoculação de *Bacillus subtilis* aumento da eficiência do uso da água e aumento da concentração de vitamina C em tomate (GÜL *et al.*, 2008), incremento da produtividade, do diâmetro e do peso dos pimentões e tomates (GARCÍA *et al.*, 2004). O *Bacillus subtilis* está relacionado diretamente com a maior eficiência da absorção de zinco, por ser uma bactéria solubilizadora deste micronutriente (SARAVANAN *et al.*, 2003). O uso de *Pseudomonas spp.* melhora a eficiência da absorção de fósforo, por serem bactérias solubilizadoras de fosfato, aumenta a absorção de ferro pelas raízes por serem carreadoras de ferro pela sua afinidade com o micronutriente (SOUZA *et al.*, 2015).

A utilização de *Azospirillum spp.* promoveu maior massa fresca e seca das raízes e da parte aérea, teor de clorofila, área foliar e produtividade de morango em cultivo hidropônico (RUEDA *et al.*, 2016). As BPCPs do gênero *Azospirillum* mitigam os efeitos osmóticos e fisiológicos do estresse salino quando associados ao cultivo de alface (FASCIGLIONE *et al.*, 2012; FASCIGLIONE *et al.*, 2015). Não há relatos do uso de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva no cultivo de alface hidropônico; neste sentido, é indispensável realizar a utilização desta rizobactéria neste sistema de cultivo. Porém, existem resultados promissores da inoculação via foliar de *A. brasilense* no cultivo de alface americana hidropônica em região de clima tropical, em que esta bactéria promoveu aumento do acúmulo de massas, crescimento, acúmulo de nutrientes e redução do nitrato foliar (OLIVEIRA *et al.*, 2022; MOREIRA *et al.*, 2022; GATO *et al.*, 2023), que ocorre principalmente pela capacidade do *A. brasilense* de aumentar a atividade da enzima nitrato redutase nas folhas, que em consequência reduz as concentrações de nitrato nas folhas, o que tem se tornado uma problemática no cultivo hidropônico de alface (REIS JUNIOR *et al.*, 2008). Além de promover maior crescimento radicular e auxiliar no aumento da absorção de água e nutrientes, formando plantas com maior qualidade (MOREIRA *et al.*, 2022).

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, D. B.; FRIKHA-GARGOURI, O.; TOUNSI, S. Rhizospheric competence, plant growth promotion and biocontrol efficacy of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* strain 32a. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 124, p.61-67, 2018.
- AHMAD, M.; AHMAD, I.; HILGER, T. H.; NADEEM, S. M.; AKHTAR, M. F.; JAMIL, M.; HUSSAIN, A.; ZAHIR, Z. A. Preliminary study on phosphate solubilizing *Bacillus subtilis* strain Q3 and *Paenibacillus* sp. strain Q6 for improving cotton growth under alkaline conditions. **PeerJournal**, London, [s. l.], v. 6, p.1-22, 2018.
- ANDREOTE, F. D.; GUMIERE, T.; DURRER, A. Exploring interactions of plant microbiomes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 71, p. 528-539, 2014.
- ARAUJO, T. S.; FIDELES FILHO, J.; KUMAR, K. K.; RAO, T. V. R. Crescimento da alface-americana em função dos ambientes, épocas e graus-dias. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 4 p. 25-38, 2005.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J. P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 378, p. 1-33, 2014.
- BEZERRA NETO, F.; ROCHA, R. H. C.; ROCHA, R. C. C.; NEGREIROS, M. Z.; LEITÃO, M. M. V. B. R.; NUNES, G. H. S.; ESPÍNOLA SOBRINHO, J.; QUEIROGA, R. C. L. F. Sombreamento para produção de mudas de alface em alta temperatura e ampla luminosidade. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 133-137, 2005.
- BEZERRA NETO, F.; BARROS JÚNIOR, A. P.; SILVA, E. O.; NEGREIROS, M. Z.; OLIVEIRA, E. Q.; SILVEIRA, L. M.; CÂMARA, M. J. T.; NUNES, G. H. S. Qualidade nutricional de cenoura e alface cultivadas em Mossoró-RN em função da densidade populacional. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p.476-480, 2006.
- BUENO, A. C. S. O.; CASTRO, G. L. S.; SILVA JUNIOR, D. D.; PINHEIRO, H. A.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Response of photosynthesis and chlorophyll a fluorescence in leaf scald-infected rice under influence of rhizobacteria and silicon fertilizer. **Plant Pathology**, Oxford, v. 66, n. 9, p. 1487-1495, 2017.
- CARTEA, M. E.; FRANCISCO, M.; SOENGAS, P.; VELASCO, P. Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. **Molecules**, Basel, v. 16, n. 1, p. 251–280, 2011.
- CASSÁN, F.; MAIALE, S.; MASCIARELLI, O.; VIDAL, A.; LUNA, V.; RUIZ, O. Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. **European Journal Soil Biology**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 45, p. 12-19, 2009.

CASSÁN, B.; DIAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: from the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.103, p.117-130, 2016.

COHEN, A.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. *Azospirillum brasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in *Arabidopsis* plants. **Plant Growth Regulations**, Dordrecht, v. 54, p. 97-103, 2008.

COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLEMENT, C.; BARKA, E. A. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. **Journal of Applied Environmental Microbiology**, Newark, v. 71, p. 4951-4959, 2005.

COOPER, A. **The ABC of NFT**. Narrabeen: Casper, 1996. 171 p.

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 Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, p. 275-281, 2010.

CORRÊA, E. B.; BETTIOL, W. **Controle biológico da podridão de raízes causada por *Pythium* spp. em cultivos hidropônicos**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 26 p.

DALASTRA, C. **Nutrição e produção de alface americana em função da vazão, periodicidade de exposição e condutividade elétrica da solução nutritiva em sistema hidropônico**. 2017. 98 f. Tese (doutorado em agronomia) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Pós-graduação em sistema de produção, 2017.

DEVI, A. R.; KOTOKY, R.; PANDEY, P.; SHARMA, G. D. Application of *Bacillus* spp. for Sustainable Cultivation of Potato (*Solanum tuberosum* L.) and the Benefits, p. 185-213, in: ISLAM, M. T.; PANDEY, M. R. P.; AERON, C. K. J. A. **Bacilli and Agrobiotechnology**, London: Springer, 2016. 397 p.

FASCIGLIONE, G.; CASANOVAS, E. M.; YOMMI, A.; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. *Azospirillum* improves lettuce growth and transplant under saline conditions. **Journal Science Food Agriculture**, Elmhurst, v. 92, n. 12, p. 2518–2523, 2012.

FASCIGLIONE, G.; CASANOVAS, E. M.; QUILLEHAUQUY, V.; YOMMI, A. K.; GONI, M. G.; ROURA, S. I.; BARASSI, C. A. *Azospirillum* inoculation effects on growth, product quality and storage life of lettuce plants grown under salt stress. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 195, p. 154–162, 2015.

FASIM, F.; AHMED, N.; PARSONS, R.; GADD, G. M. Solubilization of zinc salts by a bacterium isolated from the air environment of a tannery. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 213, p. 1-6 2002.

FIBACH-PALDI, S.; BURDMAN, S.; OKON, Y. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of

Azospirillum brasilense. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 326, p. 99-108, 2012.

FINCHEIRA, P.; VENTHUR, H.; MUTIS, A.; PARADA, M.; QUIROZ, A. Growth promotion of *Lactuca sativa* in response to volatile organic compounds emitted from diverse bacterial species. **Microbiological Research**, Muenchen, v. 193, p. 39-47, 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. **FAO participa de fórum na semana da alimentação**. [S. l.], 2021. Disponível em: <http://www.fao.org.br/FAOpFSA.asp>. Acesso em: 15 mar. 2021.

FOX, T. INSTITUTION OF MECHANICAL ENGINEERS - IME. **Global food waste not want not**. [S. l.], 2013. Disponível em: http://www.imeche.org/docs/default-source/news/Global_Food_Waste_Not_Want_Not.pdf. Acesso em: 17 de outubro de 2021.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, Heidelberg, v. 6, p. 3-16, 2016.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, Heidelberg, v. 7, p. 153-163, 2017.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J.; NOGUEIRA, L. M.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J. L. M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 40, p. 1-18, 2016.

GARCÍA, J. A. L.; PROBANZA, A.; RAMOS, B.; PALOMINO, M. R.; MAÑERO, F. J. G. Effect of inoculation of *Bacillus licheniformis* on tomato and pepper. **Agronomie**, Paris, v. 24, n. 4, p. 169-176, 2004.

GARCÍA DE SALAMONE, I. E. Microorganismos del suelo y sustentabilidad de los agroecosistemas. **Revista Argentina Microbiologia**, Buenos Aires, v. 43, p. 1-3, 2011.

GATO, I. M. B.; OLIVEIRA, C.E.S.; OLIVEIRA, T. J. S. S.; JALAL, A.; MOREIRA, V. A.; GIOLO, V. M.; VITORIA, L. S.; LIMA, B. H.; VARGAS, P. F.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Nutrition and yield of hydroponic arugula under inoculation of beneficial microorganisms. **Horticulture Environmental and Biotechnology**, Suwon, v. 63, p.1-12, 2023.

GLASAUER, S. M.; BURFORD, E. P.; GADD, G. M. Transformation of metals and metalloids by microorganisms. In: **Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences**. London: Elsevier, 2022.

GÜL, A.; KIDOĞLU, F.; TÜZEL, Y.; AND TÜZEL, H. Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v.6, n.3, p.422-429, 2008.

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, v.43, p.895-914, 1997.

HARTHMANN, O. E. L.; MÓGOI, A. F.; WORDELL FILHO, J. A.; LUZ, W. C. Rizobactérias no crescimento e na produtividade da cebola, **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.2, p.462-465, 2010

HAYDON, M. J.; MIELCZAREK O.; ROBERTSON F.C.; HUBBARD K.E.; WEBB A.A. Nutrient homeostasis within the plant circadian network. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.6, n.299, p.1-6, 2015.

HELBEL JÚNIOR, C.; REZENDE, R.; FREITAS, P. S. L.; GONÇALVES, A. C. A.; FRIZZONE, J. A. Influência da condutividade elétrica, concentração iônica e vazão de soluções nutritivas na produção de alface hidropônica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.2, p.1142-1147, 2008.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazilian. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.331, p.413-425, 2010.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v.221, p.125-131, 2016.

JENSEN, M. H. Hydroponics Worldwide. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.481, p.719-730. 1999.

JOOSSENS, J.; HILL, M. J.; ELLIOTT, P.; STAMLER, R.; LESAFFRE, E.; DYER, A.; NICHOLS, R.; KESTELOOT, H. Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries. **International Journal of Epidemiology**, Oxford, v.25, n.3, p.494-504, 1996.

KHALIL, S.; ALSANIUS, B. W. Dynamics of the indigenous microflora inhabiting the root zone and the nutrient solution of tomato in a commercial closed greenhouse system. **Gartenbauwissenschaft**, Berlim, v.66, n.4, p.188–198, 2001.

KHALIL, S.; ALSANIUS, B.W. Utilisation of carbon sources by *Pythium*, *Phytophthora* and *Fusarium* species as determined by Biolog® microplate assay. **Open Microbiology Journal**, Soest, v.3, p.9-14, 2009.

KANEKO, T.; MINAMISAWA, K.; ISAWA, T.; NAKATSUKASA, H.; MITSUI, H.; KAWAHARADA, Y.; NAKAMURA, Y.; WATANABE, A.; KAWASHIMA, K.; ONO, A.; SHIMIZU, Y.; TAKAHASHI, C.; MINAMI, C.; FUJISHIRO, T.; KOHARA, M.; KATOH, M.; NAKAZAKI, N.; NAKAYAMA, S.; YAMADA, M.; TABATA, S.; SATO, S. Complete genomic structure of the cultivated rice endophyte *Azospirillum* sp. B510. **DNA Research**, Kisarazu, v.17, p.37-50, 2010.

KENNEDY, I. R.; TCHAN, Y. T. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: recent advances. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.141, p.93-118, 1992.

LANDERS, E. T. **Effects of nutrient solution temperature on lettuce grown in a nutrient film technique system**. 2017. 53 f. Tese (Doutorado em Ciência) – Graduate Faculty of Auburn University, Auburn University, Auburn, 2017.

LEE, S.; AN, R.; GREWAL, P.; YU, Z.; BORHEROVA, Z.; LEE, J. High-performing windowfarm hydroponic system: Transcriptomes of fresh produce and microbial communities in response to beneficial bacterial treatment. **Molecular Plant-Microbe Interact**, Saint Paul, v.29, p.965–976, 2016.

LEE, S.; LEE, J. Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems: Types and characteristics of hydroponic food production methods. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.195, p.206–215, 2015.

LIMA, N. S. A.; VOGEL, G. F.; FEY, R. Rates of application of *Azospirillum brasilense* in tomato crop. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v.5, n.4, p.81-87, 2018.

LUZ, G. L.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A.; AMARAL, A. D.; MÜLLER, L.; TORRES, M. G.; MENTGES, L. A questão do nitrato em alface hidropônica e a saúde humana. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, p. 2388- 2394, 2008.

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

MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F. J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Maize growth promotion by inoculation with *Azospirillum brasilense* and metabolites of *Rhizobium tropici* enriched on lipo-chitooligosaccharides (LCOs). **AMB Express**, Heidelberg, v.5, p.71-82, 2015.

MEZA, B.; BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Involvement of indole-3-acetic acid produced by *Azospirillum brasilense* in accumulating intracellular ammonium in *Chlorella vulgaris*. **Research of Microbiology**, San Francisco, v.166, p.72-83, 2015.

MORAES, M. C. H. S.; MEDEIROS, E. V.; ANDRADE, D. S.; LIMA, L. D.; SANTOS, I. C. S. MARTINS FILHO, A. P. Microbial biomass and enzymatic activities in sandy

soil cultivated with lettuce inoculated with plant growth promoters. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 860-870, 2018.

MOREIRA, V. A.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; GATO, I. M. B.; OLIVEIRA, T. J. S. S.; BOLETA, G. H. M.; GIOLO, V. M.; VITÓRIA, L. S.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* increases nutrition and yield of hydroponic lettuce. **Archives of Microbiology**, Berlin, v.204, n.440, p.1-12, 2022.

MUMTAZ, Z. M.; AHMADA, M.; JAMIL, M.; HUSSAIN, T. Zinc solubilizing *Bacillus* spp. potential candidates for biofortification in maize. **Microbiological Research**, Muenchen, v.202, p.51-60, 2017.

NELSON, P. V. **Greenhouse operation and management**. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey. 2012.

NOZZI, V.; GRABER, A.; SCHMAUTZ, Z.; MATHIS, A.; JUNGE, R. Nutrient management in aquaponics: comparison of three approaches for cultivating lettuce, mint and mushroom herb. **Agronomy**, Basel, v.27, n.8, p.1-15, 2018.

OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; OLIVEIRA, J. R.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Foliar inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Trichoderma harzianum* in hydroponic arugula improves the productive components and plant nutrition and reduces foliar nitrate. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiania, v.52, e72755, 2022.

OLIVEIRA, L. M.; SUCHISMITA, D.; GRESS, J.; RATHINASABAPATHI, B.; CHEN, Y.; MA, L. Q. Arsenic uptake by lettuce from As-contaminated soil remediated with *Pteris vittata* and organic amendment. **Chemosphere**, Oxford, v.176, p.249-254, 2017.

PANKIEVICZ, V. C. S.; AMARAL, F. P.; SANTOS, K. F. D. N.; AGTUCA, B.; XU, Y.; SCHUELLER, M. J.; ARISI, A. C. M.; STEFFENS, M. B. R.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; STACEY, G.; FERRIERI, R. A. Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. **The Plant Journal**, Oxford, v.81, p.907-919, 2015.

PATRIARCA, E.J.; TATÈ, R.; IACCARINO, M. Key Role of Bacterial NH₄⁺ metabolism in Rhizobium-Plant Symbiosis. **Microbiology and Molecular Biology Review**, Houston, v.66, p.203–222, 2002.

PIGNATELLI, B.; MALAVEILLE, C.; ROGATKO, A.; HAUTEFEUILLE, A.; THUILLIER, P.; MUNOZ, N.; MOULINIER, B.; BERGER, F.; DE MONTCLOS, H.; LAMBERT, R. Mutagens, N-nitroso compounds and their precursors in gastric juice from patients with and without precancerous lesions of the stomach. **European Journal of Cancer**, Foster, v.29, n.14, p.2031-2039, 1993.

POWELL, P.; CLINE, G.; REID, C.; SZANISZLO, P. J. Occurrence of hydroxamate siderophore iron chelators in soils. **Nature**, London, v.287, p.833–834, 1980.

PUENTE, M.; LI, C.; BASHAN, Y. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. II. Growth promotion of cactus seedlings. **Plant Biology**, Stuttgart, v.6, p.643-650, 2004.

RAAIJMAKERS, J. M.; DE BRUIJN, I.; NYBROE, O.; ONGENA, M. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v.34, p.1037–1062, 2010.

RANKIN, L.; PAULITZ, T. C. Evaluation of rhizosphere bacteria for biological control of *Pythium* root rot of greenhouse cucumbers in hydroponic culture. **Plant Disease**, Saint Paul, v.78, n.5, p.447-451, 1994.

REED, M. S.; BUENEMANN, M.; ATLHOPHENG, J.; AKHTAR-SCHUSTER, M.; BACHMANN, F.; BASTIN, G.; BIGAS, H.; CHANDA, R.; DOUGILL, A. J.; ESSAHLI, W.; EVELY, A. C.; FLESKENS, L.; GEESON, N.; GLASS, J. H.; HESSEL, R.; HOLDEN, J.; IORIS, A. A. R.; KRUGER, B.; LINIGER, H. P.; MPHINYANE, W.; NAINGGOLAN, D.; PERKINS, J.; RAYMOND, C. M.; RITSEMA, C. J.; SCHWILCH, G.; SEBEGO, R.; SEELY, M.; STRINGER, L. C.; THOMAS, R.; TWOMLOW, S.; VERZANDVOORT, S. Cross-scale monitoring and assessment of land degradation and sustainable land management: a methodological framework for knowledge management. **Land Degradation Development**, Chichester, v.22, p.261-271, 2011.

REIS, V. M.; JESUS, E. C.; SCHWAB, S.; OLIVEIRA, A. L. M.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.; SANTOS, L. A. **Nutrição Mineral de plantas** 2 ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2018. p.280-307.

REIS JUNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHDO, A. T.; SODEK, L. Inoculation of *Azospirillum amazonense* in two maize genotypes under different N treatments. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, p.1139-1146, 2008.

ROMANI, A.; PINELLI, P.; GALARDI, C.; SANI, G.; CIMATO, A.; HEIMLER, D. Polyphenols in Greenhouse and Open-Air-Grown Lettuce. **Food Chemistry**, London, v.79, p.337–342, 2002.

ROSA, P. A. L.; MORTINHO, E. S.; JALAL, A.; GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; FERNANDES, G. C.; BARCO NETO, M.; PAVINATO, P. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation With Growth-Promoting Bacteria Associated With the Reduction of Phosphate Fertilization in Sugarcane. **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v.8, a.32, p.1-18, 2020.

RUEDA, D.; VALENCIA, G.; SORIA, N.; RUEDA, B. B.; MANJUNATHA, B.; KUNDAPUR, R. R.; SELVANAYAGAM, M. Effect of *Azospirillum* spp. and *Azotobacter* spp. on the growth and yield of strawberry (*Fragaria vesca*) in hydroponic system under different nitrogen levels. **Journal Applied Pharm Science**, Madhya Pradesh, v.6, p.48–54, 2016.

RYAN, R. P.; GERMAINE, K.; FRANKS, A.; RYAN, D. J.; DOWLING, D. N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v.278, p.1-9, 2008.

SÁ, G. C. R.; HUNGRIA, M.; CARVALHO, C. L. M.; MOREIRA, A.; NOGUEIRA, M.; HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C. V. Nutrients uptake in shoots and biomass yields and roots and nutritive value of Zuri Guinea grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.50, n.22, p.2927-2940, 2019.

SAHOO, R. K.; ANSARI, M. W.; PRADHAN, M.; DANGAR, T. K.; MOHANTY, S.; TUTEJA, N. Phenotypic and molecular characterization of native *Azospirillum* strains from rice fields to improve crop productivity. **Protoplasma**, Wien, v.251, p.943–953, 2014.

SALVO, L. P.; FERRANDO, L.; FERNANDÉZ-SCAVINO, A.; SALAMONE, I. E. G. Microorganisms reveal what plants do not: wheat growth and rhizosphere microbial communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.424, p.405-417, 2018.

SAMARAKOON, U. C.; WEERASINGHE, P.A.; WEERAKKODY, W.A.P Effect of Electrical Conductivity [EC] of the Nutrient Solution on Nutrient Uptake, Growth and Yield of Leaf Lettuce (*Lactuca sativa* L.) in Stationary Culture. **Tropical Agricultural Research**, Peradeniya, v.18, p.13-21, 2006.

SAMPAIO, F. A. R.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; BOLETA, E. H. M.; LIMA, B. H.; ROSA, P. A. L.; GALINDO, F. S.; SOUZA, J. S. Nitrogen supply associated with rhizobacteria in the first productive cycle of Marandu grass. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, Seul, v.24, p.429–439, 2021.

SANTOS, C. L. R.; ALVES, G. C.; MACEDO, A. V. M.; GIORI, F. G.; PEREIRA, W.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Contribution of a mixed inoculant containing strains of *Burkholderia* spp. and *Herbaspirillum* ssp. to the growth of three sorghum genotypes under increased nitrogen fertilization levels. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.113, p.96-106, 2017.

SANTOS, O. **Hidroponia da alface**. Santa Maria: UFSM, 2000. 107p.

SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M.; GLICK, B. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiology Research**, Basel, v.183, p.92-99, 2016.

SARAVANAN, V. S.; SUBRAMONIAM, S. R.; RAJ, S. A. Assessing in vitro solubilization of different zinc solubilizing bacterial (ZBS) strains. **Brazilian Journal Microbiology**, São Paulo, v.34, p.121-125, 2003.

SCHULTZ, N.; MORAIS, R. F.; SILVA, J. A.; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JUNIOR, J. B.; ALVES, B. J. R.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Avaliação agronômica de

variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, p.261-268, 2012.

SEIDO, S. L.; SOUSA, L. P.; SILVA, M. J.; DONZELI, V. P.; QUEIROZ, S. O. P. Melon growth-promoting rhizobacteria under saline stress. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.14, n.1, p.1-7, 2019.

SHI, Y.; YANG, H.; ZHANG, T.; SUN, J. K. Loulllumina-based analysis of endophytic bacterial diversity and space-time dynamics in sugar beet on the north slope of Tianshan mountain. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v.98, p.6375-6385, 2014.

SIGNORE, A.; SERIO, F.; SANTAMARIA, P. A. A Targeted management of the nutrient solution in a soilless tomato crop according to plant needs. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.7, n.391, p.1-15, 2016.

SILVA, E.R.; ZOZ, J.; OLIVEIRA, C.E.S.; ZUFFO, A.M.; STEINER, F.; ZOZ, T.; VENDRUSCOLO, E.P. Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)? **Archives of Microbiology**, Berlin, v.201, p.325-335, 2019.

SIVASAKTHI, S.; USHARANI, G.; SARANRAJ, P. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) -*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. **African Journal of Agricultural Research**, Saharan, v.16, n.9, p.1265-1277, 2014.

SOUZA, R.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.38, n.4, p.401-419, 2015.

STACHELHAUSS, T.; MARAHIEL, E. Modular structure of genes encoding multifunctional peptide synthetases required for non-ribosomal peptide synthesis. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v.125, p.3-14, 1995.

TEIXEIRA FILHO, M. M.; GALINDO, F. S. Inoculação de bactérias com foco na fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento vegetal. Cap.11, in: SEVERIANO, E. C.; MORAES, M. F.; PAULA, A. M. **Tópicos em Ciência do Solo** - Volume X, ed.1, editora, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2019. 728p.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.37, n.5, p.1016-1024, 1979.

VILELA, N. J.; LUENGO, R. F. A. Produção de hortaliças folhosas no Brasil. **Revista Campo & Negócio**, Hortifruti, Uberlândia, ano XVII, n.146, 2022.

WAECHTER-KRISTENSEN, B.; SUNDIN, P.; GERTSSON, U.E.; HULTBERG, M.; KHALIL, S.; JENSÉN, P.; BERKELMANN-LOEHNERTZ, B.; WOHANKA, W. Management of microbial factors in the rhizosphere and nutrient solution of hydroponically grown tomato. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.450, p.335-342, 1996.

WOITKE, M.; JUNGE, H.; SCHNITZLER, W.H. *Bacillus subtilis* as growth promotor in hydroponically grown tomatoes under saline conditions. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.659, p.363-369, 2004.

WRIGHT, M. J.; DAVISON, K. L. Nitrate accumulation in crops and nitrate poisoning in animals. **Advances in Agronomy**, Amsterdam, v.16, p.197-274, 1964.

XU, X. LOKE, M.; LEUNG, P. Is There a Price Premium for Local Food? The Case of the Fresh Lettuce Market in Hawaii. **Agricultural and Resource Economics Review**, Fayetteville, v.44, p.110-123. 2015.

YANG, C. Y.; CHIU, H. F.; CHENG, M. F.; HSU, T. Y.; CHENG, M. F.; WU, T. N. Calcium and magnesium in drinking water and the risk of death from breast cancer. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Washington, v.60, n.4, p.231-241 2000.

ZÁRATE, A.H.N.; VIEIRA, M.C.; HELMICH, M.; HEID, M.D.; MENEGATI, T.C. Produção agroeconômica de três variedades de alface: cultivo com e sem amontoa. **Revista Ciência Agronômica**, Recife, v. 41, n. 4, p. 646-653, 2010.

3 Capítulo I. RESPOSTA DE ALFACE AMERICANA A DOSES DE *Azospirillum brasilense* EM SISTEMA HIDROPÔNICO

RESUMO: A inoculação com *Azospirillum brasilense* tem sido promissora no aumento da aquisição de nutrientes e de rendimento das plantas, porém pouco se sabe do efeito deste microrganismo em cultivo hidropônico. Logo, estabeleceu-se as hipóteses de estimar a dose do inoculante via solução nutritiva com *A. brasilense* que consiga proporcionar aumento de componentes produtivos, fisiológicos, nutricionais, econômicos na dose correta. O objetivo deste estudo foi estimar a dose de inoculante com a bactéria *A. brasilense* que aumente a produtividade, os componentes produtivos, as trocas gasosas, nutrição de plantas e a análise econômica, assim como a redução do nitrato foliar de alface hidropônica. A pesquisa foi realizada em casa de vegetal, em Ilha Solteira, em sistema hidropônico (Técnica do Fluxo Laminar de Nutriente) NFT. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos foram cinco doses de inoculante com *A. brasilense* via solução nutritiva (0, 8, 16, 32 e 64 mL 100 L⁻¹). A inoculação com *A. brasilense* na dose entre 20 e 44 mL proporcionou maior massa fresca e seca da parte aérea e das raízes, número de folhas e produtividade de massa fresca das folhas da alface, além de proporcionar aumento do acúmulo de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Mn e Zn na parte aérea e raízes da alface, com exceção do acúmulo de Ca das raízes. O uso de *A. brasilense* aumentou a integridade das membranas celular, conteúdo relativo de água, taxa de fotossíntese líquida, concentração de CO₂ intracelular, clorofila total, condutância estomática, transpiração e eficiência do uso da água alface. Houve menor acúmulo de NO₃⁻ e aumento da atividade da enzima nitrato redutase nas folhas de alface com o aumento das doses de *A. brasilense*. A dose de 44 mL 100 L⁻¹ do inoculante de *A. brasilense* proporcionou maior produtividade de folhas frescas de alface americana (cultivar Angelina), sendo a dose indicada para conseguir proporcionar a maior eficiência produtiva.

Palavras-Chave: *Lactuca sativa*; Assimilação de carbono; absorção de nutrientes; bactérias promotoras do crescimento de plantas; nitrato redutase, Técnica do Fluxo Laminar de Nutriente.

AMERICAN LETTUCE RESPONSE TO DOSES OF *Azospirillum brasilense* IN A HYDROPONIC SYSTEM

ABSTRACT: Inoculation with *Azospirillum brasilense* has been promising in increasing nutrient acquisition and plant yield, but little is known about the effect of this microorganism in hydroponic cultivation. Therefore, hypotheses were established to estimate the inoculant dose via nutrient solution with *A. brasilense* that can provide an increase in productive, physiological, nutritional and economic components at the correct dose. The objective of this study was to estimate the dose of inoculant with the bacteria *A. brasilense* that increases productivity, productive components, gas exchange, plant nutrition and economic analysis, as well as the reduction of foliar nitrate in hydroponic lettuce. The research was carried out in a greenhouse in Ilha Solteira, Sao Paulo state, Brazil, in a hydroponic system NFT, carried out in randomized blocks with four replications, the treatments were doses of inoculant with *A. brasilense* via nutrient solution (0, 8, 16, 32 and 64 mL 100 L⁻¹). Inoculation with *A. brasilense* at a dose between 20 and 44 mL provided greater fresh and dry mass of shoots and roots, number of leaves and productivity of fresh mass of leaves. In addition to providing an increase in the accumulation of N, P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Mn and Zn in the shoots and roots, with the exception of the accumulation of Ca in the roots. It also increased the integrity of cell membranes, relative water content, net photosynthesis rate, intracellular CO₂ concentration, total chlorophyll, stomatal conductance, transpiration and water use efficiency. There was less accumulation of NO₃⁻ and an increase in the activity of the enzyme nitrate reductase in lettuce leaves with increasing doses of *A. brasilense*. Inoculation with dose of 44 mL 100 L⁻¹ of the inoculant of *A. brasilense* provided greater yield of fresh head lettuce leaves (cultivar Angelina), being the indicated dose to achieve greater productive efficiency.

Keywords: *Lactuca sativa*; Carbon assimilation; nutrients uptake; plant growth-promoting bacteria; nitrate reductase, Nutrient Film Technique.

3.1 INTRODUÇÃO

A alface é a hortaliça folhosa mais produzida e consumida no mundo, por possuir características culinárias desejáveis para consumo "in natura" na forma de saladas (DALASTRA *et al.*, 2020a). A alface americana é uma hortaliça minimamente processada, cada vez mais solicitada para consumo doméstico, em restaurantes e em fast foods (FAOSTAT, 2022). Devido ao seu conteúdo em vitaminas, minerais e compostos biologicamente ativos como pigmentos fotossintéticos e fenóis, a alface também tem sido reconhecida como um importante alimento funcional (ARTÉS; ALLENDE, 2014).

O sistema de recirculação de solução nutritiva que ocorre na Nutrient Film Technique “NFT” em hidroponia proporciona economia no consumo de água em relação à produção em solo (CARVALHO *et al.*, 2018). A técnica NFT proporciona maior eficiência no uso da água, que é essencial para a crise hídrica global (KAPPEL *et al.*, 2021). No cenário atual, o uso do sistema hidropônico como forma de cultivo de hortaliças tem permitido ganhos de produtividade, versatilidade, precocidade e principalmente melhorias pós-colheita (DALASTRA *et al.*, 2020b).

A maior concentração de nutrientes (condutividade elétrica) na solução nutritiva pode reduzir o consumo de água e aumentar a produtividade e a precocidade da alface hidropônica (DALASTRA *et al.*, 2020b). Porém, o aumento da condutividade elétrica (CE) da solução nutritiva pode proporcionar maior aproveitamento de fertilizantes e concentração de nutrientes nas folhas de alface como o nitrato (NO_3^-), que é prejudicial à saúde humana (TABAGLIO *et al.*, 2020). Soluções para reduzir o acúmulo de NO_3^- na parte aérea das plantas de alface tem sido estudada, como a inoculação com microrganismos benéficos.

O uso de microrganismos benéficos é uma tecnologia emergente para melhorar a aquisição de nutrientes em hortaliças (OLIVEIRA *et al.*, 2022; MOREIRA *et al.*, 2022; GATO *et al.*, 2023). A inoculação de *Azospirillum brasilense* está associada ao aumento da atividade da enzima nitrato redutase nas folhas das plantas; esta enzima tem como principal função reduzir o nitrogênio (N) nítrico das folhas em proteínas, carboidratos, aminoácidos e açúcares, como consequência reduz a concentração de nitrato nas folhas (GEWEHR *et al.*, 2020). A inoculação foliar de *A. brasilense* em plantas de alface hidropônica promoveu aumento do acúmulo de N na parte aérea e a redução do acúmulo de NO_3^- em 44% na parte aérea (MOREIRA *et al.*, 2022). Também, contribuiu para melhorar a eficiência do uso de N e reduzir a aplicação de fertilizantes em 25% em milho e trigo (FUKAMI *et al.*, 2016; GALINDO *et al.*, 2020).

Com a intenção de produzir alimentos saudáveis e de qualidade, amenizando o consumo de fertilizantes, e aumentar a produtividade da alface em cultivo hidropônico, justifica-se avaliar a inoculação com *A. brasilense* na solução nutritiva para melhorar o cultivo de alface em sistema hidropônico. Pela

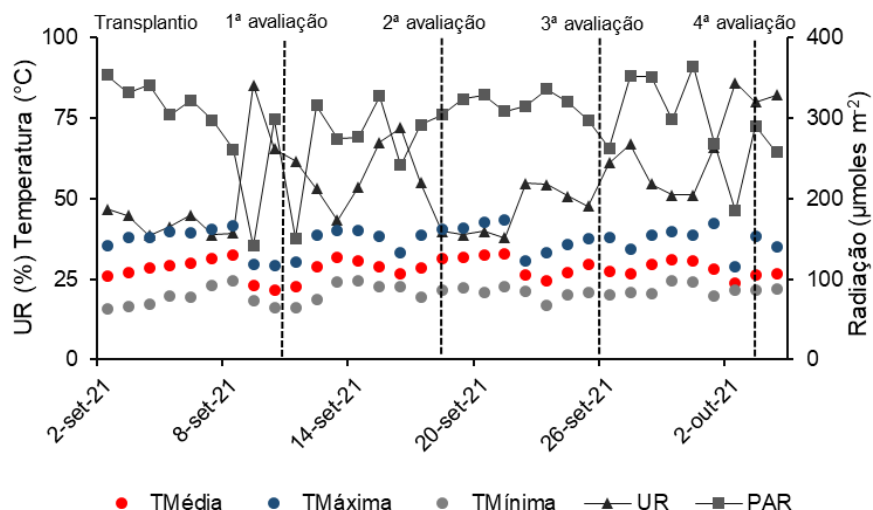
escassez de estudos relacionados à inoculação com BPCPs neste sistema de cultivo, estudos para calibrar a dose ideal do inoculante são indispensáveis, considerando-se o baixo custo, facilidade de aplicação e não ser poluente, dentre outras. Neste contexto, estabeleceu-se as hipóteses de que encontrar as doses de *A. brasilense* que proporcione aumento dos componentes produtivos, fisiológicos, nutricionais e econômicos. Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar os efeitos de doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva sob aspectos fisiológicos, crescimento, produtividade, econômicos, nutrição e redução do nitrato foliar de plantas de alface em sistema hidropônico, além do seu efeito sobre a lucratividade da cultura.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Localização e caracterização de cultivo

O sistema de cultivo empregado neste estudo foi o Técnica do Fluxo Laminar de Nutriente (NFT) de alface hidropônica, desenvolvida em cultivo protegido com 35% de sombreamento, na Universidade Estadual Paulista - (UNESP), Ilha Solteira – SP, com coordenadas geográficas (20°25'07"S 51° 20'31"W) e altitude de 376 m. Os dados meteorológicos foram coletados da área externa à estufa de uma estação meteorológica automática da UNESP, entre o período de 2 de setembro a 4 de outubro de 2021 (Figura 1).

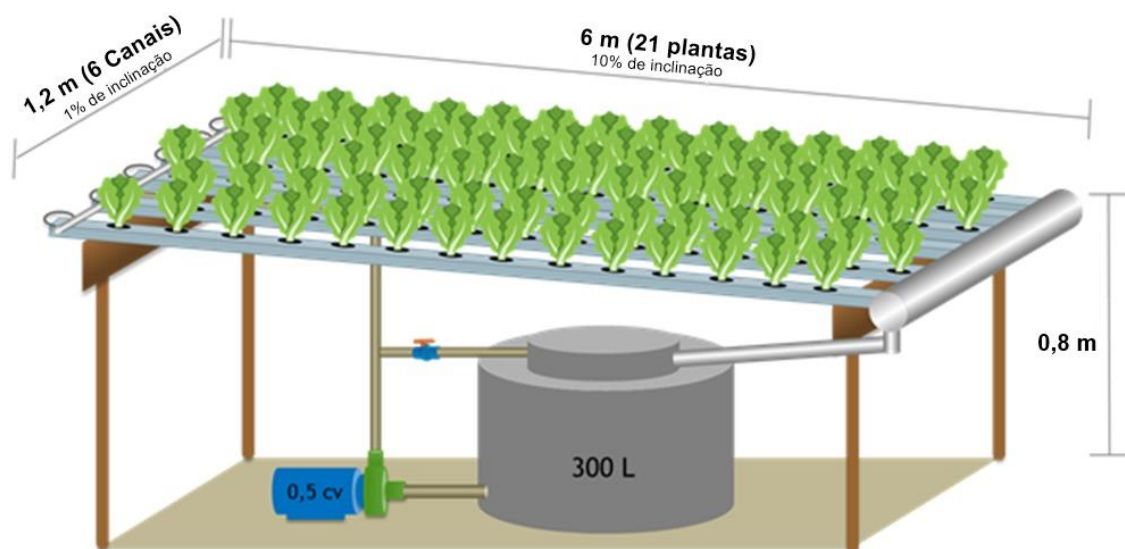
Figura 1 - Condições climáticas de umidade relativa do ar (UR), temperatura máxima (TM_{máxima}), média (TM_{média}) e mínima (TM_{mínima}) e radiação PAR (PAR), ocorridas durante a realização do experimento com cultivo de alface americana (cultivar Angelina), sob hidroponia.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O sistema hidropônico utilizado foi o NFT onde o experimento foi instalado em bancadas individuais de seis metros de comprimento, com 10% de declividade. Os canais de cultivo foram confeccionados em PVC com seção retangular de 8 cm de largura e 4 cm de altura e perfurações superiores para acomodar plantas a cada 25 cm (Figura 2). Cada bancada consistia em seis canais de cultivo distantes 20 cm, com um sistema de bombeamento individual e um reservatório de 300 L, com vazão de 1 L por minuto e período de exposição da solução nutritiva com fluxo contínuo.

Figura 2 – Esquema da bancada de condução de ensaios com cultivo de alface americana (cultivar Angelina), Ilha Solteira, SP, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Utilizou-se a alface americana (cultivar Angelina), que segundo informações da Sakata (2022), são plantas vigorosas, com excelente formação de saia, cabeças fechadas, compactas e uniformes em campo aberto e em hidroponia, nível moderado de resistência à bacteriose, folhas verdes intensas e brilhantes, segurança de plantio em períodos de oscilações climáticas (alta adaptação às condições de cultivo tropical).

3.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com cinco repetições, cada unidade experimental foi constituída por quatro plantas de alface coletadas na bancada aleatoriamente dos quatro canais centrais da bancada hidropônica. Os tratamentos foram constituídos de doses do inoculante de *Azospirillum brasilense* com as estirpes AbV5 e AbV6 (garantia de 2×10^8 Unidades Formadoras de colônia - UFC mL⁻¹), nas doses de 0 (testemunha não inoculada), 8, 16, 32 e 64 mL do inoculante líquido para cada 100 litros de solução nutritiva, adicionado no dia do transplantio das mudas.

As mudas foram desenvolvidas em bandeja com substrato inerte por 15 dias e, posteriormente, transplantadas para bancadas permanentes do sistema NTF, onde permaneceram por 31 dias até a colheita. Foi realizada aplicação via solução nutritiva de inseticida sistêmico com princípio ativo imidacloprido (neonicotinoides), na dose de 0,1 g L⁻¹ de solução nutritiva, para o controle de trips (*Frankliniella schultzei*) aos 10 dias após o transplantio (DAT).

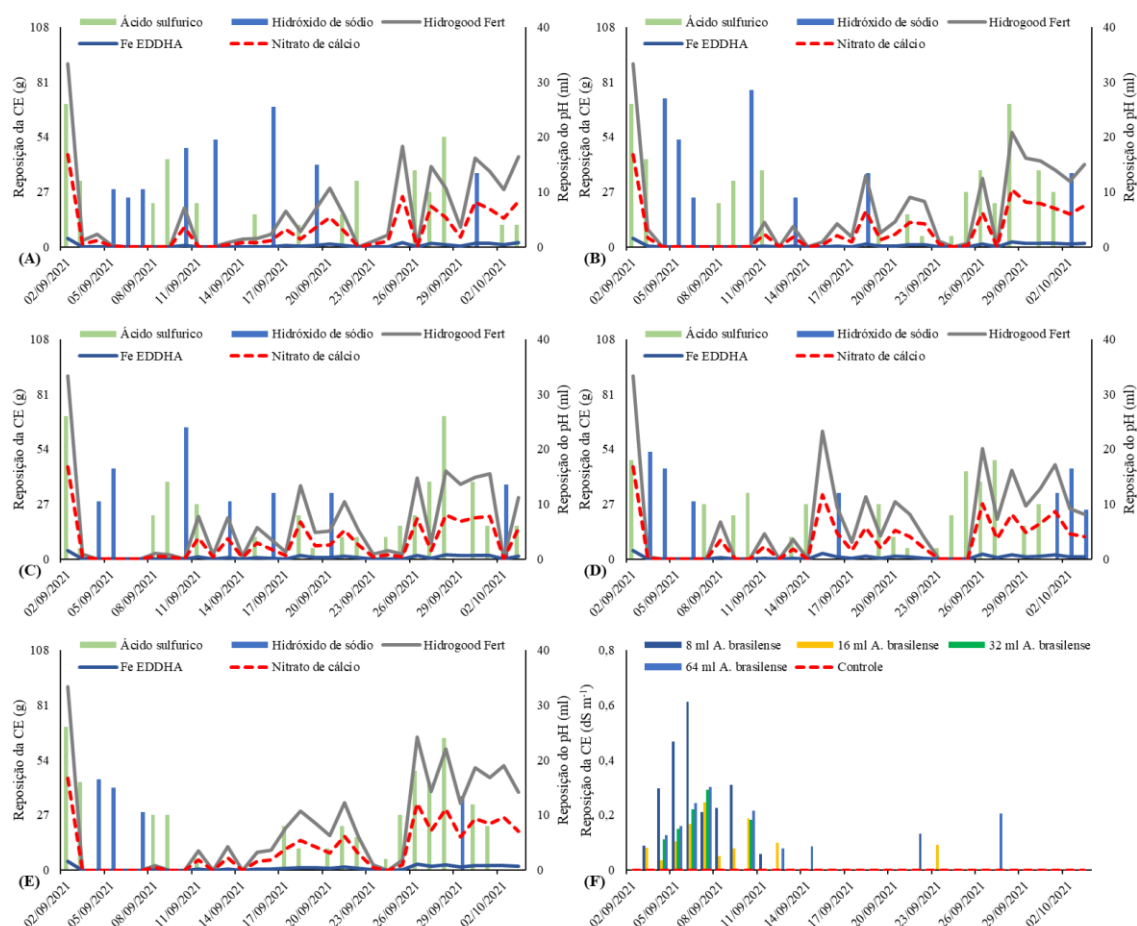
A solução nutritiva composta por fertilizantes concentrados Hidrogood Fert Nacional foi utilizada na dose de (0,666 g L⁻¹) indicada para todas as fases de desenvolvimento da cultura, com as seguintes concentrações de nutrientes (%): 10 de N; 9 de P; 28 de K; 4,3 de S; 3,3 de Mg; 0,06 de B; 0,01 de Cu; 0,05 de Mn; 0,07 de Mo e 0,02 de Zn; também utilizou-se o Nitrato de Cálcio na dose de 0,495 g L⁻¹ com as seguintes concentrações de nutrientes (%): 15,5 de N e 26,5 de Ca; e o Hidrogood Fert Ferro EDDHA 6% de Fe na dose de 0,020 g L⁻¹.

A medição e correção da condutividade elétrica (CE) e do pH da solução nutritiva foram realizadas diariamente pela manhã, nesta ocasião a CE foi reajustada para a CE determinada para cada bancada de cultivo com a reposição de fertilizantes se necessário. Além disso, foi realizado no 1º, 8º, 16º

e 24° DAT, a suplementação com 35 mg L⁻¹ de KCl, para melhorar o estado hídrico das plantas pelo efeito das elevadas temperaturas da região (determinação realizada em estudos prévios, pois a não suplementação proporcionou murcha nas plantas no período de maior temperatura diária) (Informação pessoal).

A condutividade elétrica inicial foi de 1,3 dS m⁻¹, cujos valores foram elevados de acordo com o estágio de cultivo e sua resposta à adubação, conforme descrito por Dalstra (2017), e então, aos 11° DAT, elevou a CE determinada para 1,5 dS m⁻¹ e, aos 21° DAT, foram elevadas para 1,7 dS m⁻¹, CE que permaneceu até a colheita. Para manter o pH entre 6,0 e 6,5, foi utilizado ácido sulfúrico (25%), quando o pH encontrava-se acima de 6,5, e hidróxido de sódio (25%) quando pH abaixo de 6,0. A reposição dos fertilizantes para correção da condutividade elétrica e do pH constam nas Figuras 3A, 3B, 3C, 3D e 3E. O efeito da inoculação na solução nutritiva causou elevação da CE sem adição de nutrientes (possivelmente pela fixação biológica de nitrogênio “FBN”) e, desta forma, evitou a reposição de nutrientes por período maior, sendo reportadas as elevações diárias da condutividade elétrica pela inoculação (Figura 3F).

Figura 3 – Correção do pH e reposição condutividade elétrica (CE) em sistema hidropônico NFT no tratamento controle (A), em cultivo de alface americana (cultivar Angelina), com a inoculação de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva na dose 8 mL 100 L⁻¹ (B) 16 mL 100 L⁻¹ (C), 32 mL 100 L⁻¹ (D), 64 mL 100 L⁻¹ (E) e a elevação da CE ocasionada pela inoculação (F) no período do experimento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2.3 Avaliações biométricas

As avaliações foram realizadas aos 10, 17, 24 e 31 DAT das mudas de alface. No momento da colheita de cada avaliação foi realizada a colheita da matéria fresca do sistema radicular e da parte aérea, a seguir, quantificou-se o comprimento da parte aérea e das raízes, e o índice de clorofila foliar, utilizando-se cloroflog Falker CFL-1030 (FALKER, 2008). Em seguida, o material foi enviado para secagem em estufa de ventilação forçada a 60 °C por 72 horas, para a obtenção da matéria seca do sistema radicular e da parte

aérea. A produtividade da cultura foi baseada na população de plantas de 19,5 plantas m⁻², conforme a equação I:

$$I. \quad Prod = MFF * PP$$

Prod: produtividade (kg m⁻²)

MFF: massa fresca das folhas (kg planta⁻¹)

PP: população de plantas (plantas m⁻²)

3.2.4 Avaliações nutricionais

Após secagem, pesagem e trituração dos materiais vegetais em moinho tipo Wiley, foram determinados segundo a metodologia de (MALAVOLTA *et al.*, 1997), as concentrações de N, P, K, S, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, B e Zn na parte aérea da alface em todas as épocas de avaliações. Nas raízes, a quantificação de nutrientes foi realizada apenas na avaliação final (31 dias após o transplantio). Na avaliação final, foi determinado a concentração de nitrato e amônio nas folhas e raízes de acordo com a metodologia descrita por (SILVA, 2009). O acúmulo de nutrientes na parte aérea e nas raízes das plantas foi calculado com base nas respectivas na produtividade de massa seca e concentração de nutrientes nas plantas conforme a equação II:

$$II. \quad AC = PMS * PP$$

AC: acúmulo de nutrientes (g ou mg m⁻²)

PMS: produtividade de massa seca (kg m⁻²)

CN: concentração de nutrientes (g ou mg kg⁻¹)

3.2.5 Avaliações trocas gasosas e estado hídrico da folha

A avaliação de trocas gasosas foi realizada em oito plantas por tratamento, aos 17 e 31 DAT das mudas, no período entre as 9 h e as 11 h da manhã, em folhas totalmente expandidas localizada na parte mediana da planta. Para tanto, utilizou-se um analisador de gás infravermelho (Infra Red Gas Analyser - CIRAS-3, modelo CRS300), sendo as condições inicialmente impostas de 800 µmol m⁻² s⁻¹ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), 380 ppm de CO₂ e temperatura da câmara em 28 °C. Na ocasião foram mensuradas a concentração interna de carbono (Ci- µmol m⁻² s⁻¹), condutância estomática (gs-mol de H₂O m⁻² s⁻¹), transpiração (E- mmol de H₂O m⁻² s⁻¹) e

taxa de fotossíntese líquida (A - $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a eficiência do uso da água (EUA- $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$).

Na avaliação final, foram determinados o conteúdo relativo de água (CRA) e o índice de integridade de membranas celulares (IIM). O estado da água das plantas foi determinado pelo teor de água relativo da folha (CRA). O CRA foi calculado de acordo com a equação III:

$$\text{III. CRA (\%)} = \left[\frac{(MF - MS)}{(MT - MS)} \right] * 100$$

Dez discos de folhas de 25 mm de diâmetro foram coletados às 8 h da manhã (ao amanhecer) de quatro folhas de cada planta, e em seguida, pesado imediatamente para a determinação de massa fresca (MF). Para a medição de massa túrgida (MT), discos de folhas foram submersos por 12 h em água destilada em 25 °C; depois disso, foram secados suavemente em uma toalha de papel e pesados. As amostras foram então secas em estufa a 75 °C por 24 horas e pesadas para determinar a massa seca (MS).

O Índice de estabilidade da membrana da folha (IIM), foi determinado de acordo com Lutts *et al.* (1996), utilizando-se dez discos foliares (25 mm de diâmetro) de quatro folhas da planta, que foram lavadas em água destilada, colocadas em tubos contendo 50 mL de água deionizada, e mantida a 25 °C em banho-maria por 6 h. A condutividade elétrica da solução foi analisada com medidor de CE (C1). Posteriormente, as amostras foram colocadas em banho-maria (100 °C) por 1 h, e a condutividade elétrica (C2) foi avaliada após equilíbrio a 25 °C. O índice de estabilidade de membranas celulares foi estimado de acordo com a seguinte equação IV:

$$\text{IV. IIM} = \left[1 - \left(\frac{C1}{C2} \right) \right] * 100$$

3.2.6 Avaliações enzimáticas, clorofila, aminoácidos e carboidratos

A atividade da enzima nitrato redutase (NR) *in vivo* foi determinada de acordo com a metodologia de Radin (1974). Foram coletadas a 2ª e 3ª folha completamente expandidas a partir do ápice entre as 9 e 10 h da manhã, para evitar grandes interferências da intensidade luminosa sobre a atividade da enzima e de clorofila foliar. Amostras de tecido foliar fresco foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório em gelo, e lavadas com água deionizada. Em seguida, 100 mg de tecido fresco cortado

em discos foram transferidos para tubos de ensaio contendo 3 mL de solução tampão fosfato pH 7,4 ($50 \text{ mmol L}^{-1} + 200 \text{ mmol L}^{-1} \text{ KNO}_3$).

Estas amostras foram infiltradas a vácuo durante 2 min para aumentar a penetração da solução nos tecidos. Em seguida, os tubos de ensaio foram incubados em banho-maria a 33°C por 30 minutos envoltos em papel alumínio contra a luz. A reação foi interrompida pela adição de 1 mL de sulfanilamida a 1% em solução de HCl 2 mol L^{-1} e, em seguida, 1 mL de solução de naftilenodiamina a 0,05%. O nitrito (NO_2^-) produzido foi medido em espectrofotômetro a 540 nm, utilizando-se uma curva de calibração padrão de nitrito. A atividade da enzima esteve diretamente relacionada com a quantidade de NO_2^- e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de massa fresca (MF).

Os teores de clorofila a (Clo a), b (Clo b), total (Clo t) e carotenóides (CAR) foram determinados usando o agente extrator DMSO. O peso fresco do tecido foliar (50 mg) foi cortado em fragmentos de 1 mm e incubado em 7 mL de DMSO no escuro em banho-maria a 65°C por 30 min (Hiscox; Israelstam 1979). Após as leituras no espectrofotômetro, os teores dos pigmentos fotossintéticos foram calculados e expressos em mg g^{-1} MF. Conforme as equações V, VI, VII e VIII:

$$\text{V. } Clo\ a = (12.70 * ABS_{663}) - (2.69 * ABS_{645})$$

$$\text{VI. } Clo\ a = (22.90 * ABS_{645}) - (4.68 * ABS_{663})$$

$$\text{VII. } Clo\ t = (20.20 * ABS_{663}) + (8.02 * ABS_{645})$$

$$\text{VIII. } CAR = ((1000 * ABS_{470}) - (1.29 * Clo\ a - 53.38 * Clo\ b)) \div 198$$

Os aminoácidos totais foram quantificados com o método da ninidrina ácida (YEMM *et al.*, 1955). Foram utilizados 100 μL do extrato solúvel em água com 900 μL de H_2O , 500 μL de tampão citrato, 200 μL de ninidrina a 5% em metilglicol e 1 mL de solução de KCN 0,0002 M. As amostras foram aquecidas em banho-maria a 100°C por 20 min e colocadas para resfriar em temperatura ambiente para posterior inclusão de 1 mL de etanol 60%. A determinação foi realizada em espectrofotômetro a $\lambda = 570 \text{ nm}$, com os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

Os carboidratos totais foram determinados de acordo com o método da anthrone descrito por Yemm e Willis (1954). 1 mL do extrato solúvel em água foi adicionado a um tubo de ensaio com 1 mL de solução de anthrone (0,2%

em ácido sulfúrico), seguido de agitação e posterior incubação em banho-maria por 10 min e resfriamento em temperatura ambiente. Em seguida, a determinação foi realizada em espectrofotômetro em $\lambda = 620$ nm. A concentração de carboidratos totais foi medida por meio da curva padrão da solução de glicose e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

3.2.7 Análise econômica

A análise econômica foi realizada por meio da estrutura baseada no Custo Operacional Total (COT) de produção, utilizada pelo Instituto de Economia Agrícola (IEA), segundo Matsunaga *et al.* (1976), que consiste na soma dos custos de despesas: operações, insumos (fertilizantes, sementes, agroquímicos, etc.), mão de obra, maquinários e sistema de irrigação, denominado Custo Operacional Efetivo (COE). Além disto, o COT considerou outras despesas e taxas de juros, representando 5,0% do COE (MATSUNAGA *et al.*, 1976), resultando no custo operacional total (COT), que foi extrapolado para um m^2 de estufa de hidroponia.

3.2.8 Análise estatística

Como os dados de todas as variáveis apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas (Shapiro Wilk-Test), foram submetidos à análise de variância. A significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância foi testada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. As médias relativas as doses de *A. brasilense* foram ajustados em forma de regressão a 5% de probabilidade. Usando o pacote corrplot para avaliar a correlação os componentes produtivos, fisiológicos e nutricionais usando o software R (R Core Team 2015).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Efeito de doses de *A. brasilense* sobre o crescimento das plantas

Não se observou efeito significativo ($p > 0,05$) das doses de *A. brasilense* sobre o comprimento da parte aérea aos 10, 17 e 24 dias após o transplântio (DAT); no entanto, houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) das doses de *A.*

brasiliense sobre o comprimento da parte aérea e raízes aos 31 DAT. Para o comprimento das raízes, o efeito das doses do inoculante foi significativo a 1% (Tabela 1).

Tabela 1 – Análise de variância (valores de F) calculado para o comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR) da alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT), em função de doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva.

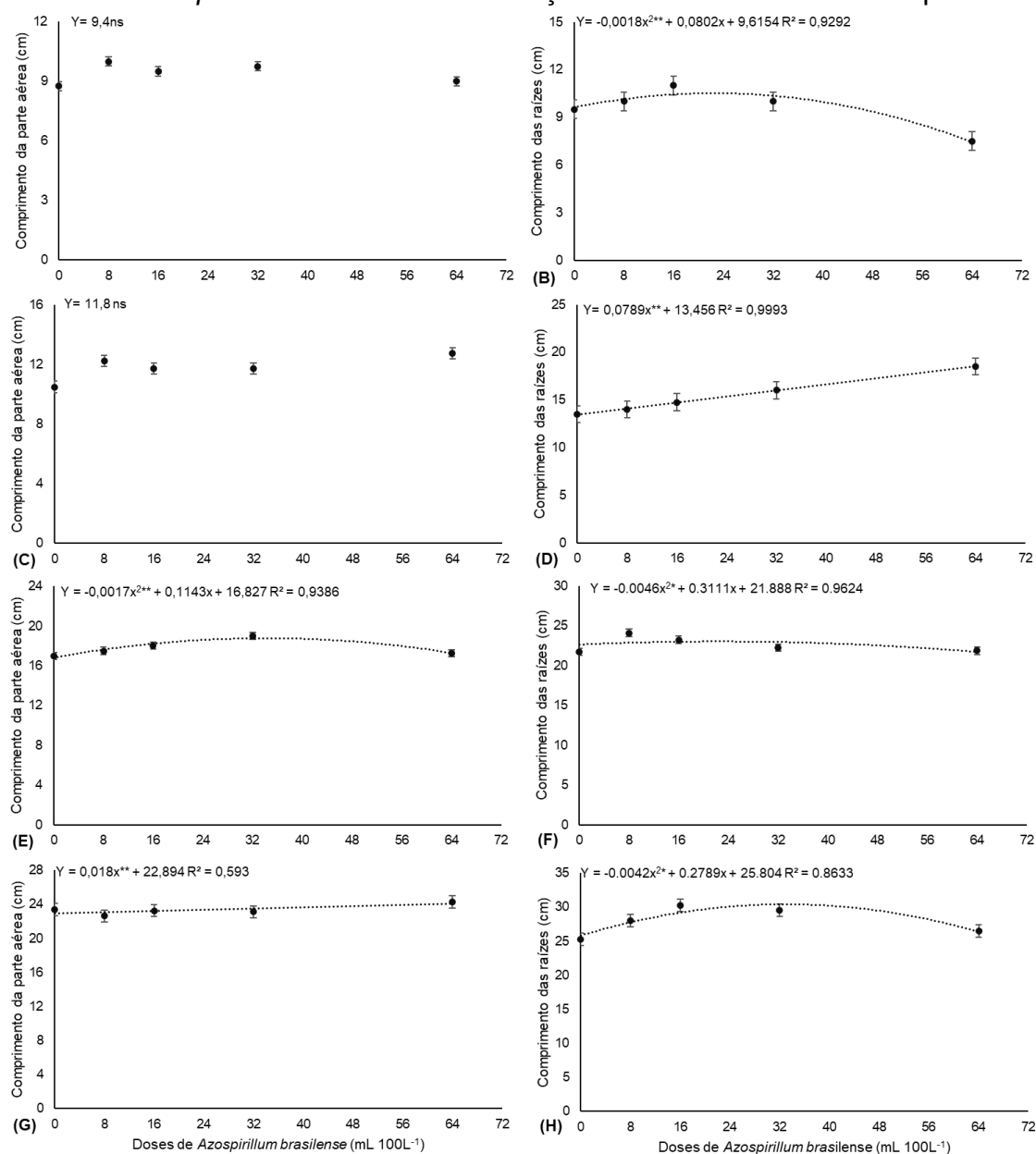
F.V.	CPA	CR	CPA	CR	CPA	CR	CPA	CR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,20ns	3,14ns	1,63ns	1,39ns	0,67ns	3,01ns	3,33ns	1,73ns
Doses	1,59ns	18,43**	2,63ns	5,65**	1,97ns	13,05**	4,06*	4,83*
CV (%)	8,74	5,19	8,75	8,24	6,34	4,10	2,51	6,62
Linear	0,15ns	47,25**	5,13*	9,86**	0,12ns	11,01**	9,62**	1,17ns
Quadrática	3,40ns	21,44**	0,25ns	3,69ns	7,29*	4,37*	3,30ns	8,56**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Não houve efeito significativo das doses de *Azospirillum brasilense* sobre o comprimento da parte aérea das plantas de alface aos 10, e 17 DAT (Figura 4^a e 4C). Já aos 24 DAT foi observado maior comprimento da parte aérea calculado de 18,7 cm na dose máxima estimada de 33 mL de *A. brasilense*, porém, aos 31 DAT (momento da colheita), verificou-se aumento do comprimento da parte aérea de acordo com aumento das doses de inoculante via solução nutritiva (Figura 4E e 4G). O incremento das doses de *A. brasilense* proporcionou aumento do comprimento das raízes aos 17 DAT (Figura 4D). Houve aumento do comprimento das raízes até a dose do inoculante calculado de 22, 27 e 33 mL 100 L⁻¹ de *A. brasilense* com comprimento de 10,5; 27,2 e 30,4 cm aos 10, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 4B, 4F e 4H).

Figura 4 – Comprimento da parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o comprimento das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Observou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre a massa fresca da parte aérea e de raízes aos 17, 24 e 31 DAT, e para massa fresca da parte aérea aos 10 DAT; porém, não houve efeito significativo ($p > 0,05$) das doses do inoculante sobre a massa fresca das raízes de alface aos 10 DAT (Tabela 2).

Tabela 2 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (MFR) de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

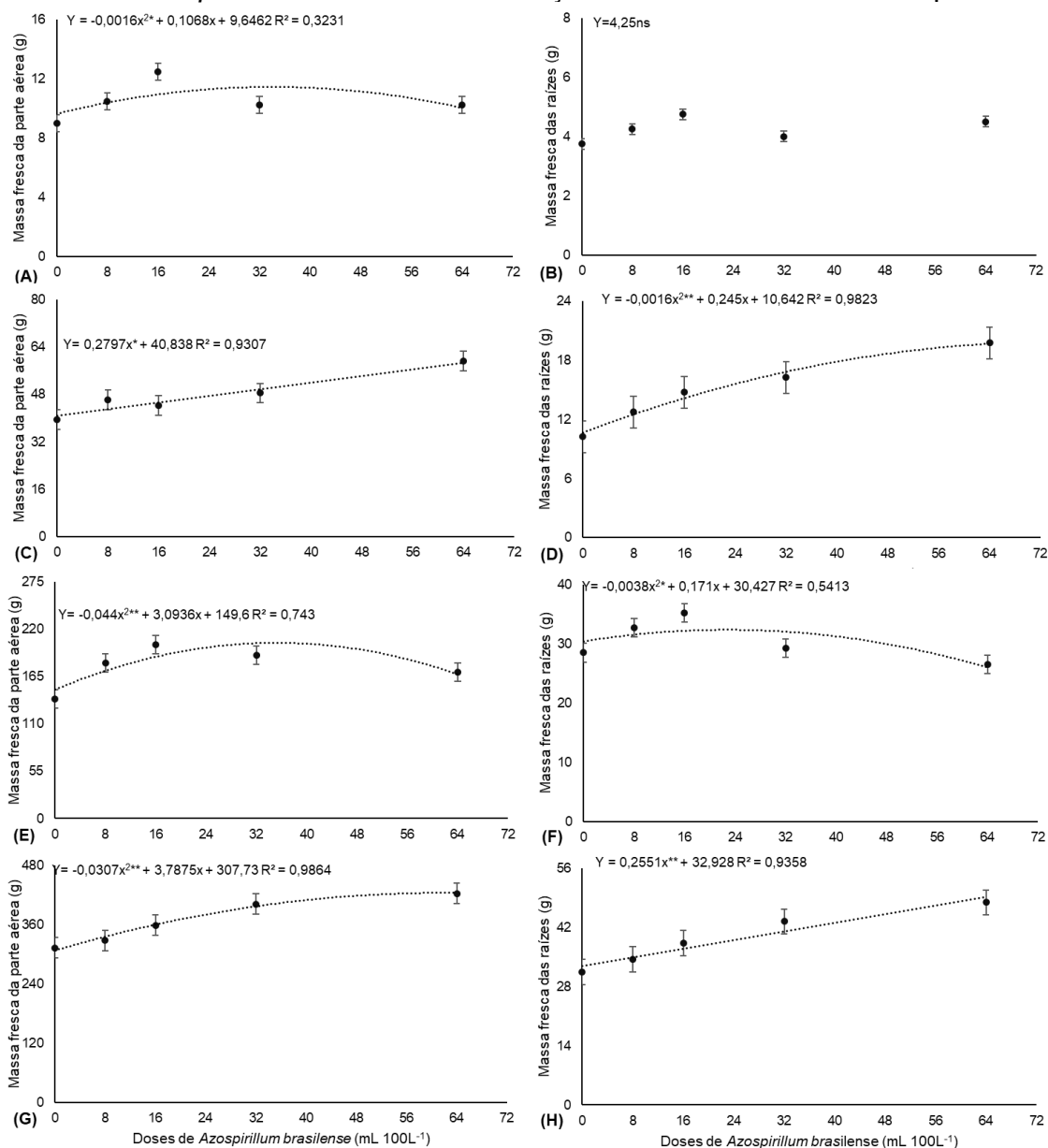
F.V.	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,91ns	0,47ns	0,56ns	1,50ns	0,26ns	0,65ns	2,25ns	0,33ns
Doses	7,29**	1,60ns	11,40**	61,80**	11,04**	7,19**	29,31**	12,92**
CV (%)	8,91	14,73	9,14	6,19	8,16	10,04	4,76	9,51
Linear	0,11ns	1,02ns	42,44**	232,3**	1,82ns	13,49**	105,4**	48,35**
Quadrática	9,30**	0,32ns	0,13ns	10,51**	30,98**	4,22*	10,26**	3,22ns

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve aumento do acúmulo de massa fresca da parte aérea de acordo com aumento das doses de *A. brasilense* aos 17 DAT (Figura 5C). Aos 10, 24 e 31 DAT, o *A. brasilense* promoveu aumento da massa fresca da parte aérea até as doses de 33, 35 e 61 mL 100 L⁻¹ de solução nutritiva com a maior massa fresca da parte aérea de 9,65; 180,34 e 424,5 g planta⁻¹, respectivamente (Figuras 5A, 5E e 5G). Aos 17 e 24 DAT, a inoculação promoveu aumento da massa fresca das raízes até as doses de 57 e 22 mL com massa fresca de 20,02 e 32,34 g planta⁻¹, e aos 31 DAT houve aumento da massa fresca das raízes com o aumento das doses de *A. brasilense* (Figuras 5D, 5F e 5H).

Figura 5 – Massa fresca da parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa fresca das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Notou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre a massa seca da parte aérea e de raízes aos 17, 24 e 31 DAT, e para massa seca das raízes aos 10 DAT. No entanto, não houve efeito significativo ($p > 0,05$) das doses do inoculante sobre a massa seca da parte aérea aos 10 DAT (Tabela 3).

Tabela 3 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR) da alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

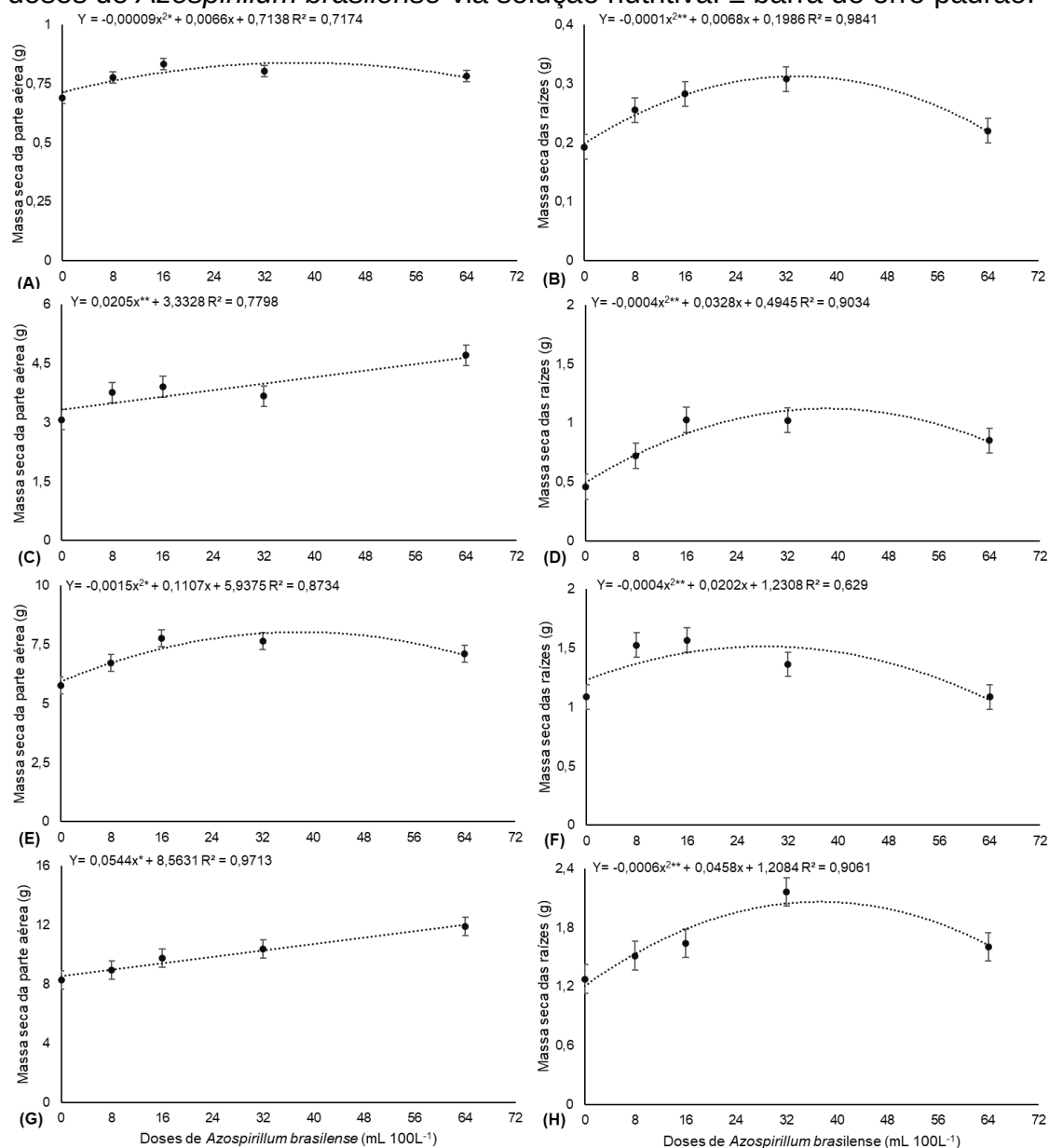
F.V.	MSPA	MSR	MSPA	MSR	MSPA	MSR	MSPA	MSR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,05ns	3,16ns	0,21ns	1,11ns	0,97ns	3,91*	16,02**	1,58ns
Doses	2,24ns	7,86**	5,74**	47,35**	7,26**	10,86**	14,75**	44,53**
CV (%)	9,14	13,14	12,84	10,97	10,51	10,58	7,37	5,94
Linear	1,32ns	0,13ns	17,89**	161,8**	5,22*	5,98*	57,30**	29,86**
Quadrática	5,10*	30,80**	0,004ns	12,32**	4,78*	21,36**	1,08ns	131,5**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou maior massa seca da parte aérea calculada de 0,83 e 7,98 g planta⁻¹ nas doses calculadas de 36 e 37 mL de *A. brasilense*, aos 10 e 24 DAT, como houve o aumento da massa seca da parte aérea de acordo com aumento das doses do *A. brasilense* aos 17 e 31 DAT (Figuras 6A, 6C, 6E e 6G). Houve aumento de massa seca das raízes inoculado com *A. brasilense* até a dose de 34, 25, 41 e 38 mL, com valores de 0,31; 1,17; 1,48 e 2,08 g planta⁻¹ aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 6B, 6D, 6F e 6H).

Figura 6 – Massa seca da parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa seca das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre a produtividade de folhas frescas e número de folhas por planta aos 31 DAT (Tabela 4).

Tabela 4 – Análise de variância dos valores de F calculado para a produtividade de folhas e número de folhas por planta de alface americana (cultivar Angelina), aos 31 dias após o transplante (DAT), em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva.

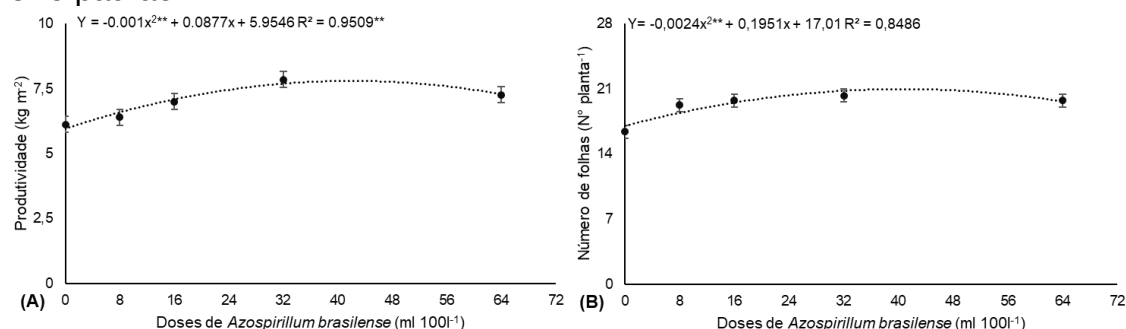
F.V.	Produtividade de folhas	Número de folhas
	31 DAT	
Bloco	2,25ns	1,62ns
Doses	29,31**	4,19*
CV (%)	4,76	7,94
Linear	105,4**	5,89*
Quadrática	10,26**	8,33**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve o aumento da produtividade e do número de folhas de alface quando inoculado com *A. brasilense* na dose de 44 e 20 mL 100 L⁻¹ de solução nutritiva, respectivamente, cuja produtividade máxima calculada foi de 7,88 kg m⁻² de massa fresca de alface americana (Figura 7A). O número máximo de folhas calculado foi de 20,5 folhas planta⁻¹, cujo maior número de folhas resulta em maior aproveitamento da planta para confeccionar saladas (Figura 7B).

Figura 7 – Produtividade de massa fresca (A) e número de folhas (B) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre o índice de clorofila foliar (ICF) aos 10, 17 e 24 DAT? a ($p \leq 0,05$) na 31 DAT (Tabela 5).

Tabela 5 – Análise de variância dos valores de F calculado para o índice de clorofila foliar da alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplante (DAT), em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva.

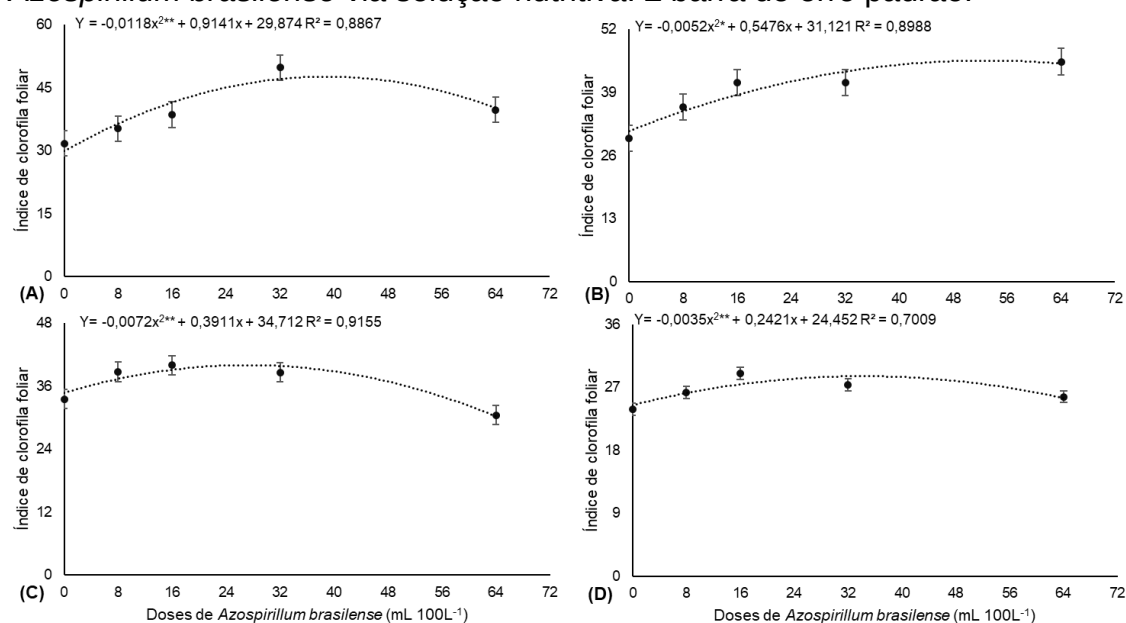
F.V.	Índice de clorofila foliar (ICF)			
	10 DAT	17 DAT	24 DAT	31 DAT
Bloco	1,16ns	0,95ns	0,23ns	2,07ns
Doses	17,09**	6,70**	6,92**	3,61*
CV (%)	8,40	12,07	8,58	7,72
Linear	18,10**	20,02**	7,59*	0,18ns
Quadrática	42,50**	4,16*	17,74**	9,95**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A inoculação com *A. brasilense* proporcionou aumento do índice de clorofila foliar (ICF), porém houve redução nas maiores doses nas quatro épocas de avaliações, com o maior ICF nas doses de 38, 52, 27 e 34 mL 100 L⁻¹, e valores de ICF máximo calculado de 47, 45, 40 e 28 aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 8A, 8B, 8C e 8D).

Figura 8 – Índice de clorofila foliar (ICF) aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.2 Efeito de doses de *A. brasilense* sobre o acúmulo de nutrientes na parte aérea

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre o acúmulo de N e P na parte aérea aos 17, 24 e 31 DAT, que não foi significativo ($p > 0,05$) aos 10 DAT (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise de variância dos valores de F calculado para o acúmulo de N e de P na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

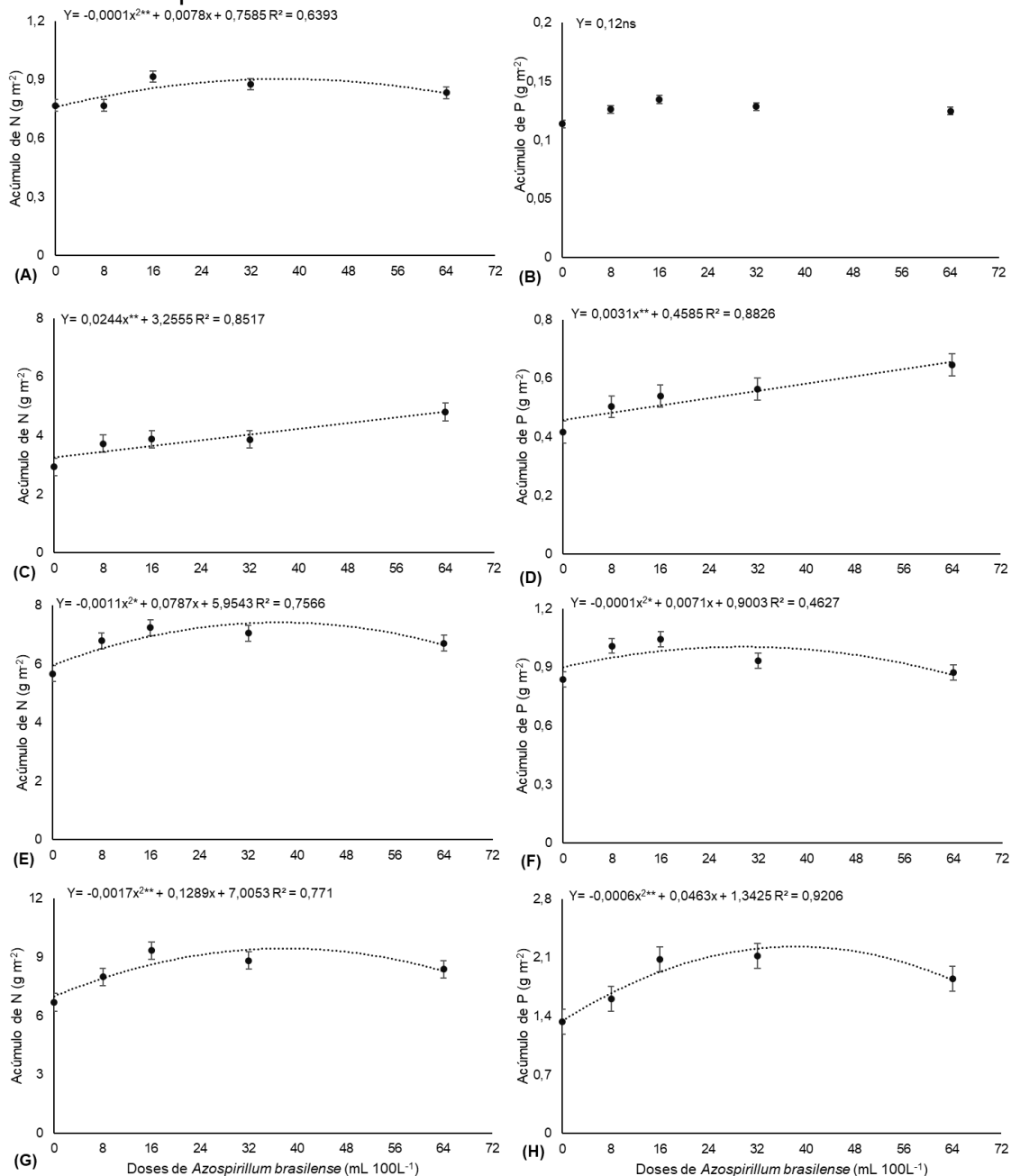
F.V.	N	P	N	P	N	P	N	P
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,10ns	0,07ns	0,36ns	0,21ns	1,39ns	1,77ns	4,28*	11,82**
Doses	2,68ns	1,46ns	7,72**	5,61**	6,85**	6,82**	5,63**	23,39**
CV (%)	9,63	10,05	12,53	13,23	11,01	10,66	10,24	7,65
Linear	1,27ns	0,38ns	26,31**	19,82**	0,01ns	0,002ns	4,03ns	22,49**
Quadrática	5,57*	3,44ns	034ns	1,32ns	4,88*	4,34*	13,32**	63,75**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Notou-se aumento dos acúmulos de nitrogênio (N) e fósforo (P) na parte aérea das plantas de alface americana hidropônico de acordo com o incremento das doses de *A. brasilense* aos 17 DAT (Figuras 9C e 9D). A dose de *A. brasilense* calculada que proporcionou maior acúmulo de N foi de 39, 35 e 37 mL 100 L⁻¹ na 10, 24 e 31 DAT, com acúmulo de 0,91; 7,36 e 9,45 g m⁻² de nitrogênio na parte aérea das plantas de alface, respectivamente (Figuras 9A, 9E e 9G). Aos 10 DAT não foi verificado efeito significativo das doses de *A. brasilense* sob o acúmulo de P na parte aérea (Figura 9B). Porém, o acúmulo de P na parte aérea máximo calculado foi de 0,14; 1,02 e 2,24 g m⁻² nas doses de *A. brasilense* calculada de 35 e 38 mL aos 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 9F e 9H).

Figura 9 – Acúmulo de nitrogênio na parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de fósforo na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.

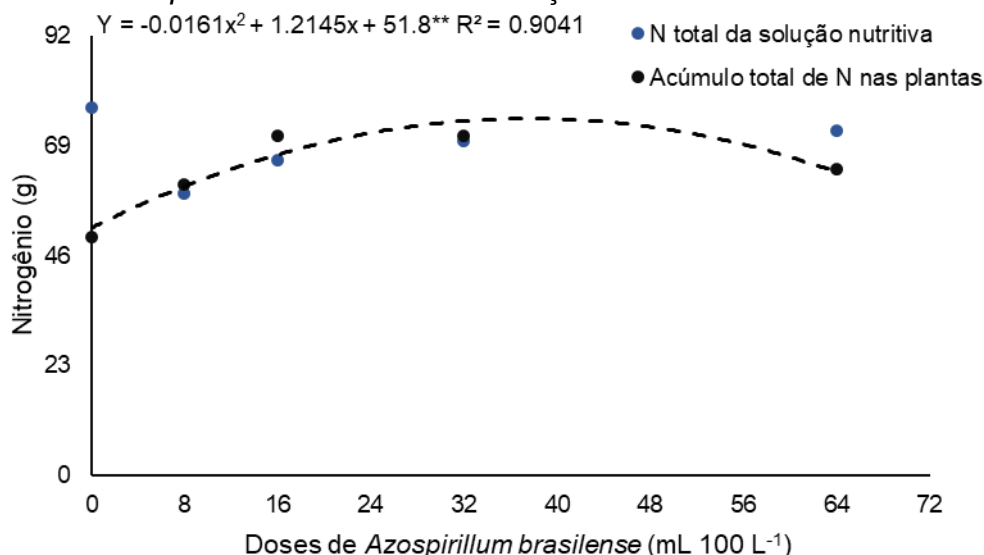


Fonte: Elaborado pelo autor.

O fornecimento de nitrogênio na dose 0 mL 100 L⁻¹ foi maior que o acúmulo de nitrogênio em todas as plantas cultivadas nestes tratamentos, demonstrando baixa eficiência do uso dos fertilizantes nitrogenados, como ocorreu na maior dose (64 mL) onde o *A. brasilense* em excesso competiu com

as plantas pelo fertilizante fornecido. Por outro lado, nas doses de 8, 16 e 32 mL de *A. brasilense* observou-se maior acúmulo de N nas plantas (10, 12 e 6%, respectivamente) em relação ao nitrogênio fornecido via solução nutritiva (Figura 10).

Figura 10 – Acúmulo de nitrogênio total nas plantas de alface americana (cultivar Angelina), em toda bancada de cultivo hidropônico e o fornecimento total de nitrogênio via solução nutritiva em todo período de cultivo em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre o acúmulo de K na parte aérea nas quatro épocas de avaliações e de acúmulo de S aos 10 e 17 DAT, e efeito significativo ($p \leq 0,05$) para o acúmulo de S aos 24 e 31 DAT (Tabela 7).

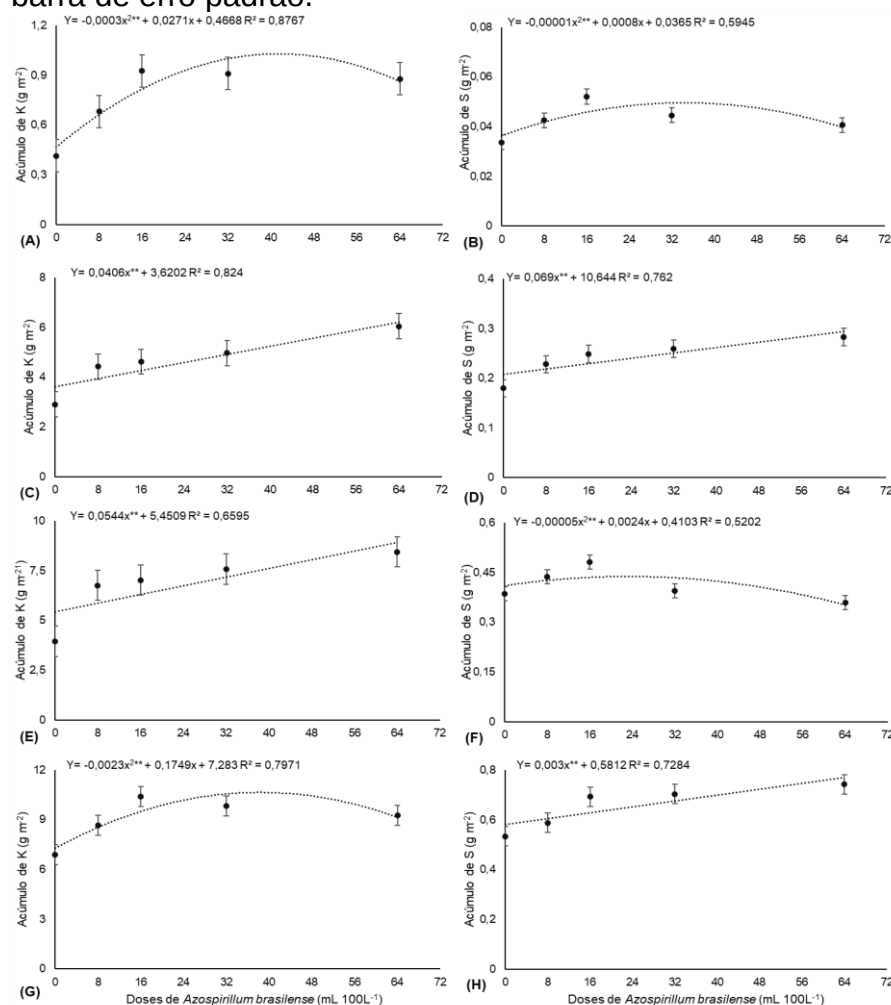
Tabela 7 – Análise de variância dos valores de F calculado para o acúmulo de K e de S na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

F.V.	K	S	K	S	K	S	K	S
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,65ns	0,10ns	0,18ns	0,27ns	0,79ns	1,39ns	7,77**	3,82*
Doses	12,28**	7,89**	7,69**	6,83**	13,14**	4,41*	6,24**	4,11*
CV (%)	16,33	10,83	19,90	12,21	19,53	11,85	12,20	13,29
Linear	20,25**	1,68ns	24,28**	19,98**	10,41**	1,34ns	7,95**	12,04**
Quadrática	22,82**	16,08**	0,50ns	1,07ns	3,80ns	7,59**	11,85**	3,19ns

ns – não significativo, ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se aumento do acúmulo de K na parte aérea de alface de acordo com o incremento das doses de *A. brasilense* aos 17 e 24 DAT em sistema hidropônico (Figuras 11C e 11E). Este comportamento foi verificado para o aumento do acúmulo de S na parte aérea das plantas de alface de acordo com aumento das doses do inoculante aos 17 e 31 DAT (Figuras 11D e 11H). O maior acúmulo de K na parte aérea calculado foi de 1,08 e 10,61 g m⁻² nas respectivas doses máximas calculadas de 45 e 38 mL aos 10 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 11A e 11G). A dose calculada de *A. brasilense* que proporcionou maior acúmulo de S na parte aérea das plantas aos 10 e 24 DAT foi de 40 e 24 mL, favorecendo o acúmulo máximo calculado de S, que foi de 0,05 e 0,55 g m⁻², respectivamente (Figuras 11B e 11F).

Figura 11 – Acúmulo de potássio na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de enxofre na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre o acúmulo de Mg na parte aérea nas quatro épocas de avaliações e do acúmulo de Ca aos 10, 17 e 24 DAT, e significativo ($p \leq 0,05$) para o acúmulo de Ca na 31 DAT (Tabela 8).

Tabela 8 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Ca e de Mg na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT.

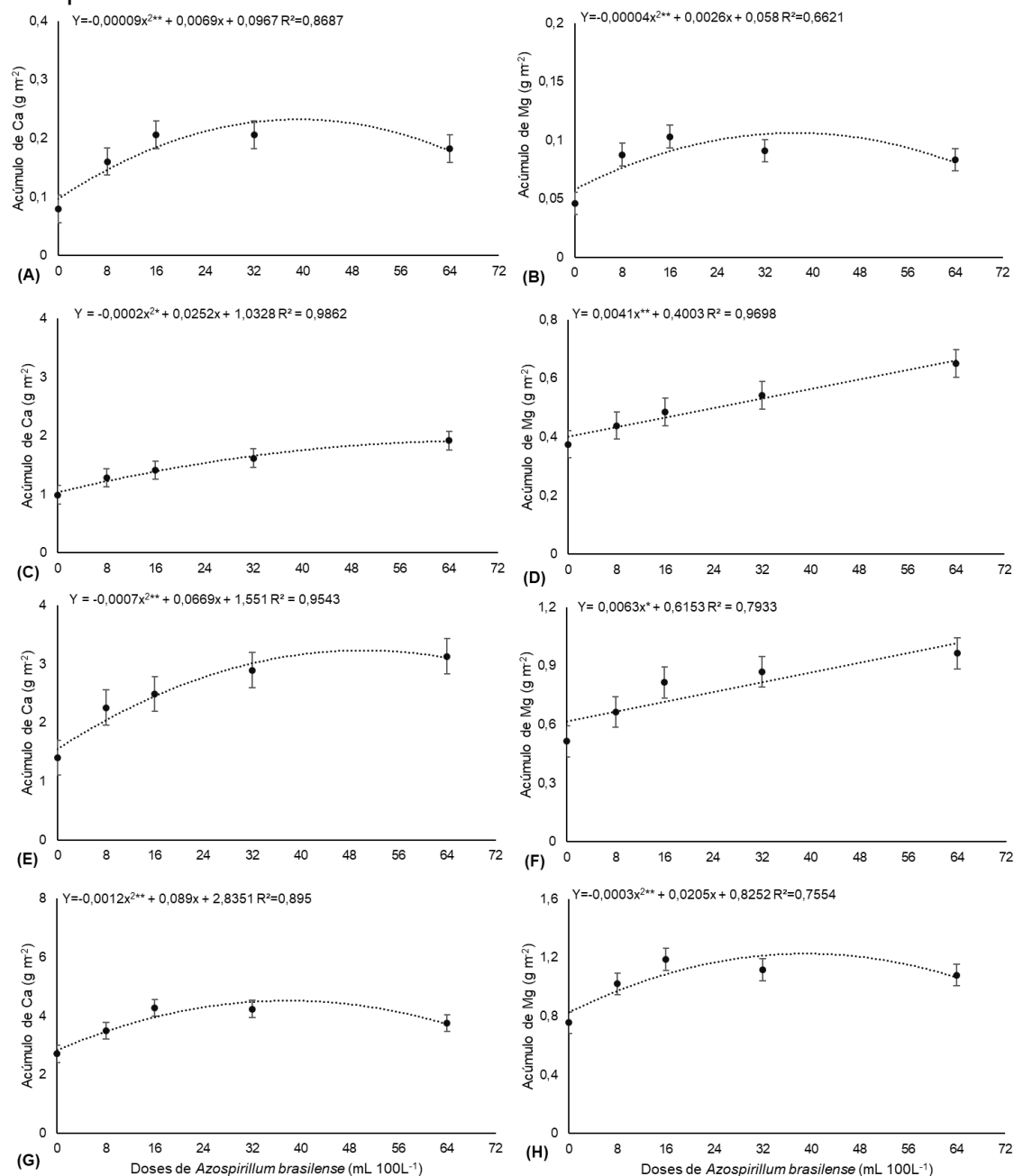
F.V.	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,05ns	1,06ns	0,12ns	0,16ns	1,28ns	1,07ns	4,55*	9,96**
Doses	24,96**	16,10**	10,89**	6,34**	7,54**	10,26**	5,09*	9,61**
CV (%)	12,54	13,05	19,02	17,53	28,47	17,36	15,44	10,41
Linear	28,27**	16,20**	29,39**	20,30**	10,99**	4,57*	0,25ns	9,33**
Quadrática	58,46**	25,82**	8,62*	1,61ns	5,51*	1,84ns	7,24**	19,79**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O aumento do acúmulo de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) na parte aérea ocorreu até a dose calculada de 38 e 32 mL com o acúmulo máximo de 0,23 e 0,1 g m⁻² aos 10 DAT, respectivamente (Figuras 12A e 12B). O mesmo comportamento foi verificado aos 31 DAT, com acúmulo máximo calculado de Ca e Mg de 4,48 e 1,18 g m⁻² com as doses calculadas de 37 e 32 mL 100 L⁻¹, respectivamente (Figuras 12G e 12H). Aos 17 e 24 DAT o maior acúmulo de Ca calculado foi de 1,83 e 3,15g m⁻² nas doses estimadas de 63 e 48 mL de *A. brasilense*, respectivamente (Figura 12C e 12E). Por outro lado, observou aumento dos acúmulos de Mg a parte aérea das plantas de alface de acordo com aumento do fornecimento do *A. brasilense* aos 17 e 24 DAT, respectivamente (Figuras 12D e 12F).

Figura 12 – Acúmulo de cálcio na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de magnésio na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre o acúmulo de Cu na parte aérea aos 31 DAT, assim como do acúmulo de B aos 10 e 17 DAT, e efeito significativo ($p \leq 0,05$) para o acúmulo de B aos 10 e 24 DAT. Para o acúmulo de Cu aos 10, 17 e 24 DAT, não se observou efeito significativo ($p > 0,05$) (Tabela 9).

Tabela 9 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B e de Cu na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

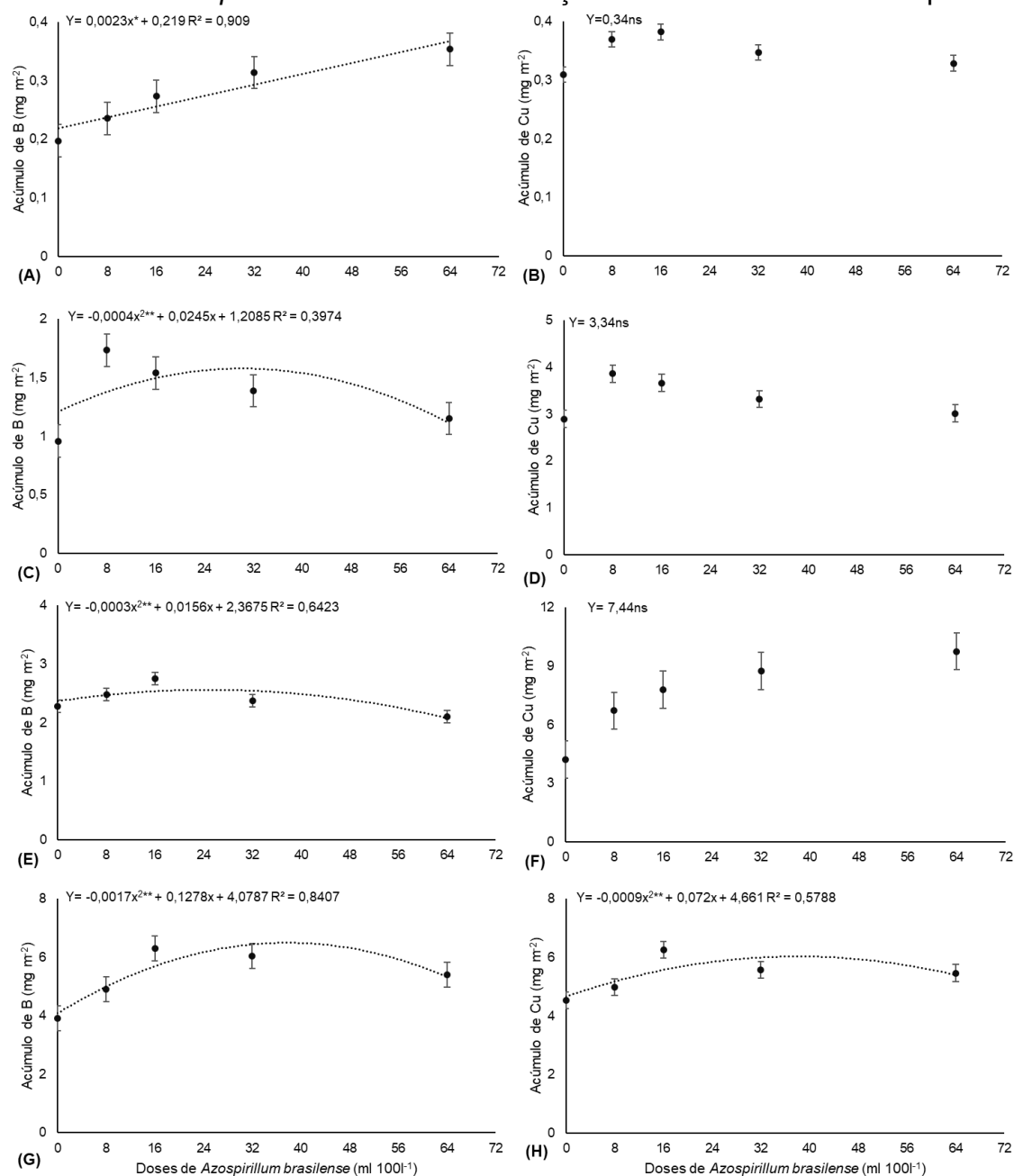
F.V.	B	Cu	B	Cu	B	Cu	B	Cu
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,18ns	0,01ns	0,18ns	2,77ns	0,12ns	2,62ns	14,51**	0,16ns
Doses	5,29*	1,03ns	25,93**	1,86ns	4,03*	2,05ns	11,18**	11,11**
CV (%)	20,37	16,70	10,56	21,87	19,09	24,23	11,08	7,27
Linear	4,77*	0,10ns	6,01*	2,50ns	15,74**	3,61ns	8,10**	6,24*
Quadrática	1,48ns	1,82ns	24,23**	3,26ns	0,04ns	0,07ns	31,79**	19,45**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Não foi observado efeito significativo das doses de *A. brasilense* sobre o acúmulo de Cu aos 17 DAT (Figura 13D). O acúmulo de B na parte aérea das plantas de alface aumentou conforme o incremento da dose de *A. brasilense* via solução nutritiva aos 10 DAT (Figura 13A), o mesmo comportamento foi verificado para o acúmulo Cu com aumento do fornecimento do *A. brasilense* na 24 DAT (Figura 13F). O maior acúmulo de B na parte aérea calculado na 17, 24 e 31 DAT foi de 1,58; 2,57 e 6,48 mg m⁻², na dose calculada de 30, 26 e 37 mL de inoculante, respectivamente (Figuras 13C, 13E e 13G). Aos 10 e 31 DAT, o máximo acúmulo de Cu calculado foi de 0,34 e 6,1 mg m⁻², respectivamente, nas doses calculadas de 33 e 40 mL do inoculante de *A. brasilense* (Figuras 13B e 13H).

Figura 13 – Acúmulo de boro na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de cobre na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Notou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre os acúmulos de Zn e Fe na parte aérea nas quatro épocas de avaliações (Tabela 10).

Tabela 10 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Fe e de Zn na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT.

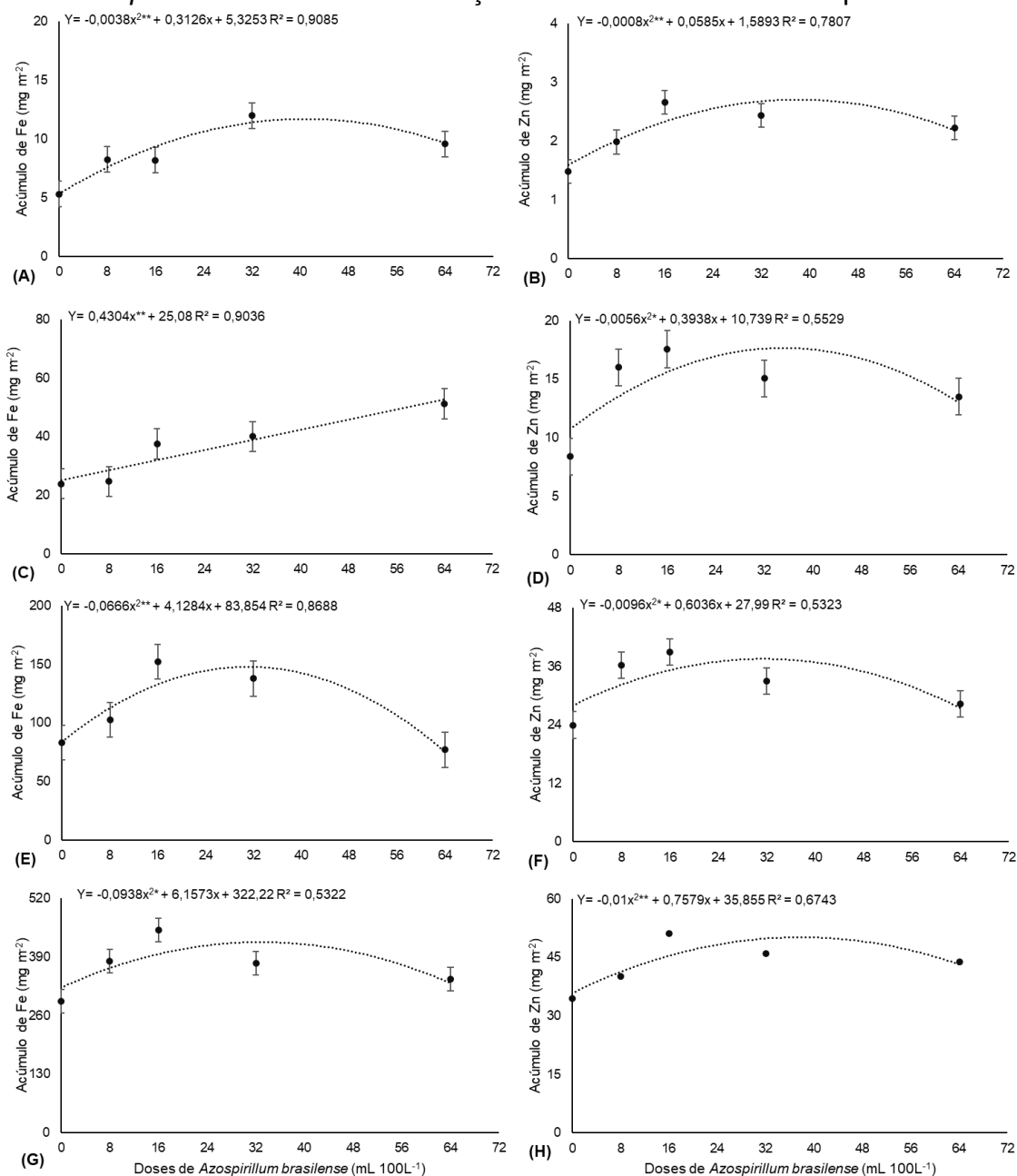
F.V.	Fe	Zn	Fe	Zn	Fe	Zn	Fe	Zn
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,77ns	0,05ns	1,02ns	0,37ns	2,36ns	0,27ns	9,70**	6,80**
Doses	5,56**	16,01**	16,37**	9,18**	6,96**	18,56**	14,80**	8,36**
CV (%)	28,89	10,51	31,96	17,53	22,80	10,10	8,34	10,07
Linear	3,94ns	11,97**	58,79**	9,99**	1,13ns	4,72*	0,10ns	4,87*
Quadrática	10,76**	38,02**	4,50ns	4,09*	23,04**	4,48*	22,60**	17,69**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O aumento das doses de *A. brasilense* proporcionou incremento do acúmulo de ferro (Fe) na parte aérea das plantas de alface na 17 DAT (Figura 14C). O maior acúmulo de Fe calculado foi de 11,75; 147,77 e 423,27 mg m⁻² nas doses de *A. brasilense* calculada de 41, 31 e 32 mL 100 L⁻¹ na 10, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 14A, 14E e 14G). Acúmulo máximo calculado de zinco (Zn) na parte aérea das plantas de alface foram de 2,66; 17,66; 37,48 e 50,24 mg m⁻² nas doses calculadas de 36, 35, 31 e 37 mL de *A. brasilense* na 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 14B, 14D, 14F e 14H).

Figura 14 – Acúmulo de ferro na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de zinco na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre o acúmulo de Mn na parte aérea nas quatro épocas de avaliações (Tabela 11).

Tabela 11 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acumulo de Mn na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

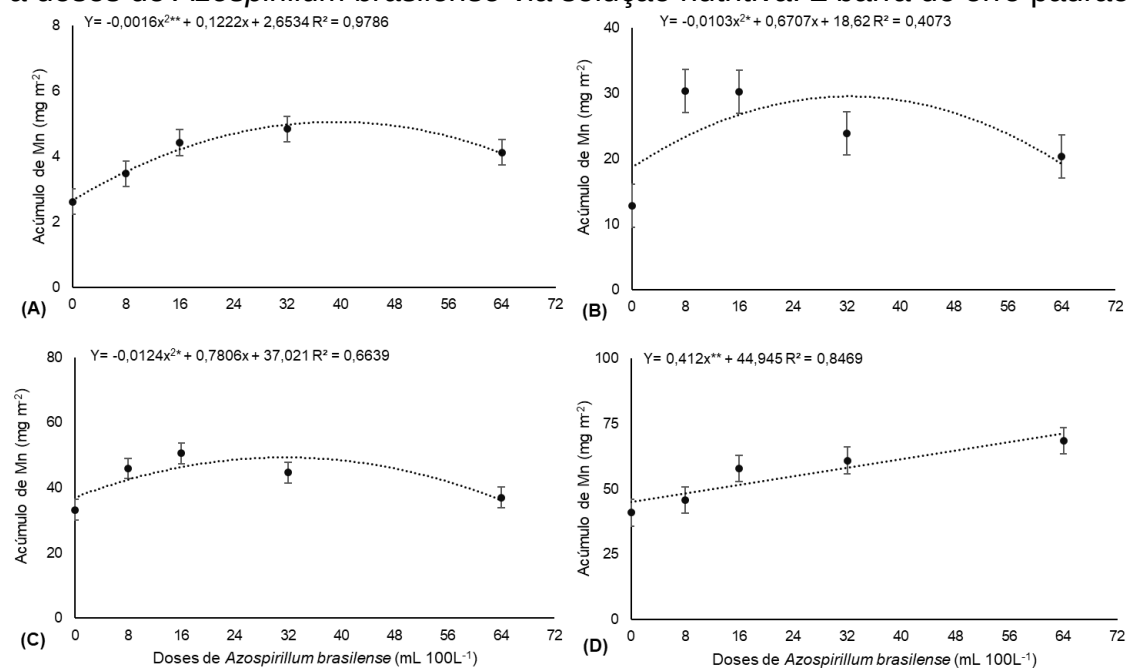
F.V.	Acúmulo de Mn na parte aérea			
	10 DAT	17 DAT	24 DAT	31 DAT
Bloco	0,03ns	0,37ns	0,33ns	4,13*
Doses	16,67**	14,33**	9,55**	9,60**
CV (%)	10,96	16,27	10,81	13,33
Linear	21,26**	16,97**	1,73ns	32,54**
Quadrática	43,98**	4,92*	4,76*	4,07ns

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A dose de *A. brasilense* calculada que proporcionou o maior acúmulo de manganês (Mn) foi de 38, 32 e 31 mL 100 L⁻¹ com acúmulo máximo calculado de 4,99; 29,54 e 49,31 mg m⁻² na 10, 17 e 24 DAT, respectivamente (Figura 15A, 15B e 15C). Porém, na última avaliação houve aumento do acúmulo de Mn de acordo com incremento da dose de *A. brasilense* na solução nutritiva (Figura 15D).

Figura 15 – Acúmulo de manganês na parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.3 Efeito de doses de *A. brasilense* sobre o acúmulo de nutrientes nas raízes

Constatou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre os acúmulos de N, P, K, S e Mg nas raízes da alface aos 31 DAT, e não significativo ($p > 0,05$) para o acúmulo de Ca na 31 DAT (Tabela 12).

Tabela 12 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N, de P, de K, de S, de Ca e de Mg nas raízes das plantas de alface americana (cultivar Angelina), na 31 dias após o transplântio (DAT).

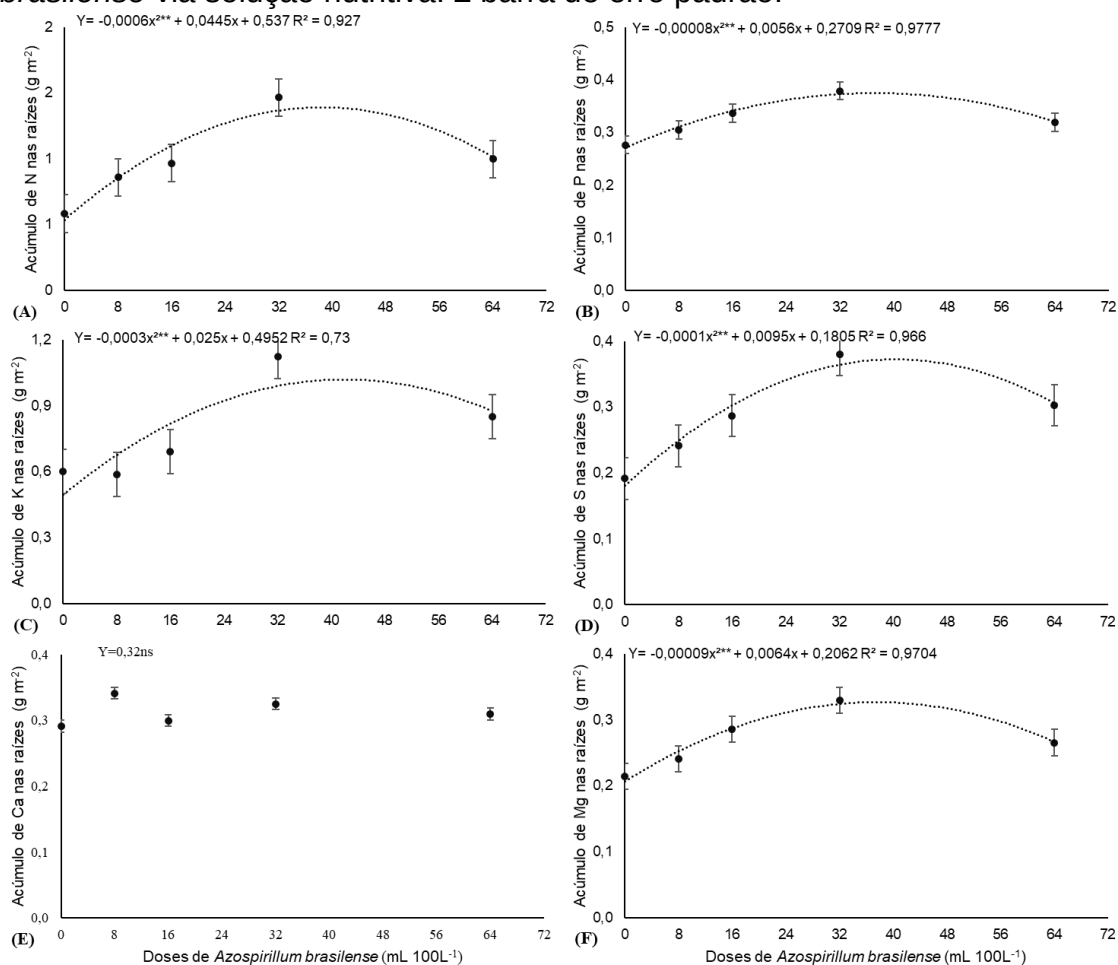
F.V.	N	P	K	S	Ca	Mg
	31 DAT					
Bloco	0,55ns	3,63*	0,65ns	1,32ns	0,15ns	2,33ns
Doses	45,84**	5,91**	50,08**	15,70**	0,40ns	9,47**
CV (%)	9,64	9,48	8,22	12,65	20,34	10,70
Linear	45,45**	4,68ns	72,01**	22,53**	0,006ns	7,35*
Quadrática	3124,5**	18,50**	73,79**	38,18**	0,23ns	29,21**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Não se observou efeito significativo das doses de *A. brasilense* sobre o acúmulo de Ca nas raízes (Figura 16E). O acúmulo máximo calculado de N nas raízes das plantas de alface foi de $1,36 \text{ g m}^{-2}$ na dose de *A. brasilense* calculada de $37 \text{ mL } 100 \text{ L}^{-1}$ na solução nutritiva (Figura 16A). A dose calculada de 35 mL proporcionou o acúmulo máximo calculado de P de $0,37 \text{ g m}^{-2}$ nas raízes (Figura 16B). Com a dose calculada de 41 mL de *A. brasilense* proporcionou maior acúmulo de K nas raízes das plantas de alface ($1,02 \text{ g m}^{-2}$) aos 31 DAT (Figura 16C). O acúmulo máximo calculado de S foi de $0,41 \text{ g m}^{-2}$ nas raízes de alface americana na dose de 47 mL (Figura 16D). Houve aumento do acúmulo de Mg até a dose calculada de 35 mL com acúmulo máximo de $0,32 \text{ g m}^{-2}$ nas raízes das plantas de alface americana (Figura 16F).

Figura 16 – Acúmulo de nitrogênio nas raízes (A), fósforo (B), potássio (C), enxofre(D), cálcio (E) e magnésio (F) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre os acúmulos de B, Cu, Fe, Mn e Zn nas raízes na 31 DAT (Tabela 13).

Tabela 13 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B, de Cu, de Fe, de Mn e de Zn nas raízes das plantas de alface americana (cultivar Angelina), na 31 dias após o transplante - DAT.

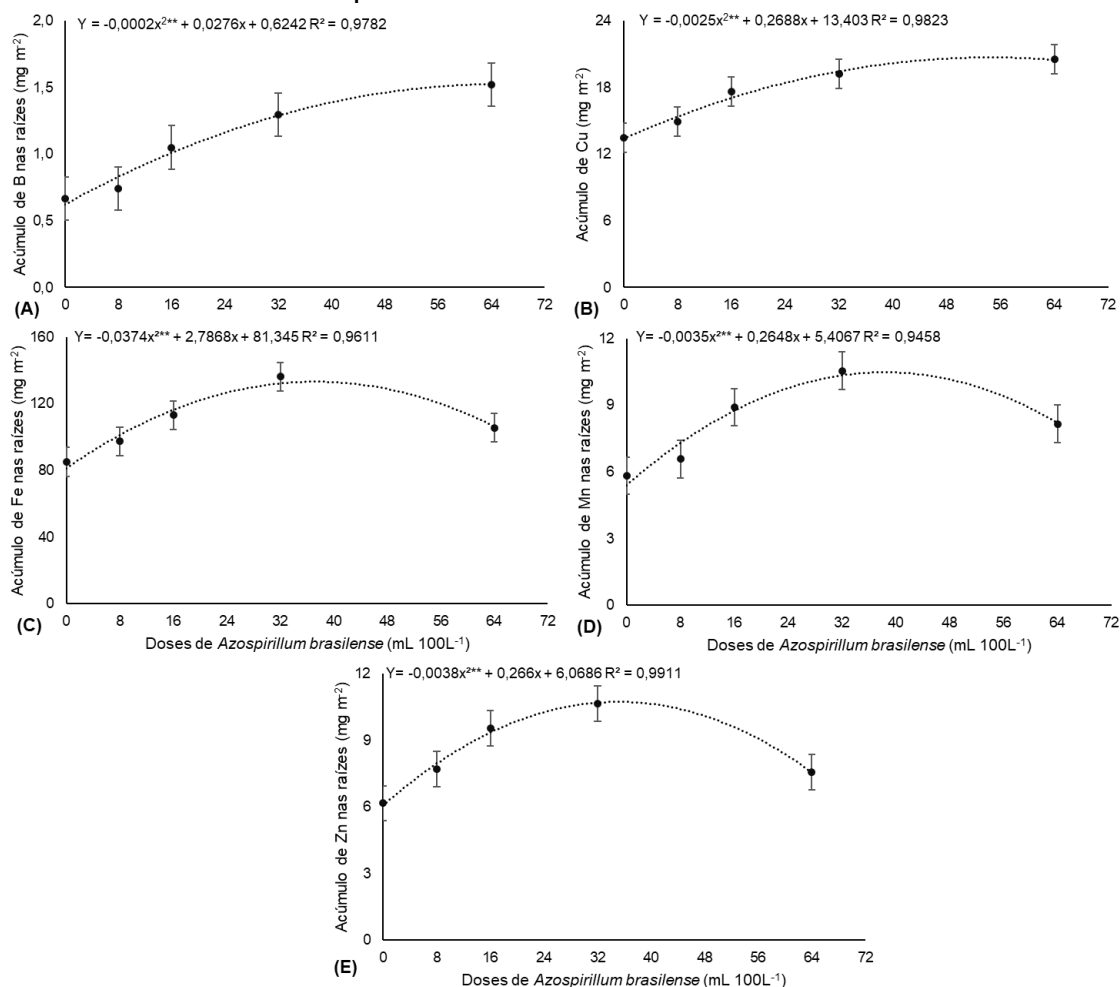
F.V.	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	31 DAT				
Bloco	0,42ns	0,61ns	1,16ns	0,73ns	3,27ns
Doses	61,39**	25,67**	23,46**	28,05**	30,17**
CV (%)	8,76	6,75	7,36	8,85	7,77
Linear	223,5**	85,89**	16,30**	27,75**	6,06*
Quadrática	16,80**	14,96**	73,90**	78,35**	113,5**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi verificado o maior acúmulo de B e Cu estimado de 1,57 e 20,63 mg m⁻² nas raízes nas doses calculadas de 69 e 53 mL 100 L⁻¹ de *A. brasilense*, respectivamente (Figuras 17A e 17B). Os acúmulos de Fe e Mn nas raízes foram maiores na dose de 37 mL de *A. brasilense* com acúmulo de Fe de 133,26 mg m⁻² e de Mn de 10,42 mg m⁻² de alface americana (Figuras 17C e 17D). O maior acúmulo de Zn foi verificado na dose estimada de 35 mL com acúmulo de 10,72 mg m⁻² de Zn nas raízes de alface (Figura 17E).

Figura 17 – Acúmulo de boro nas raízes (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e zinco (E) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.4 Efeito das doses de *A. brasilense* sobre as trocas gasosas e clorofila foliar

Reportou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre a concentração foliar de clorofila a (Clo a), clorofila b (Clo b), clorofila total (Clo t) e carotenoides (CAR) aos 31 DAT (Tabela 14).

Tabela 14 – Análise de variância dos valores de F calculado para a concentração de clorofila a (Clo a), de clorofila b (Clo b), de clorofila total (Clo t) e de carotenóides (CAR) nas folhas das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 31 dias após o transplântio - DAT.

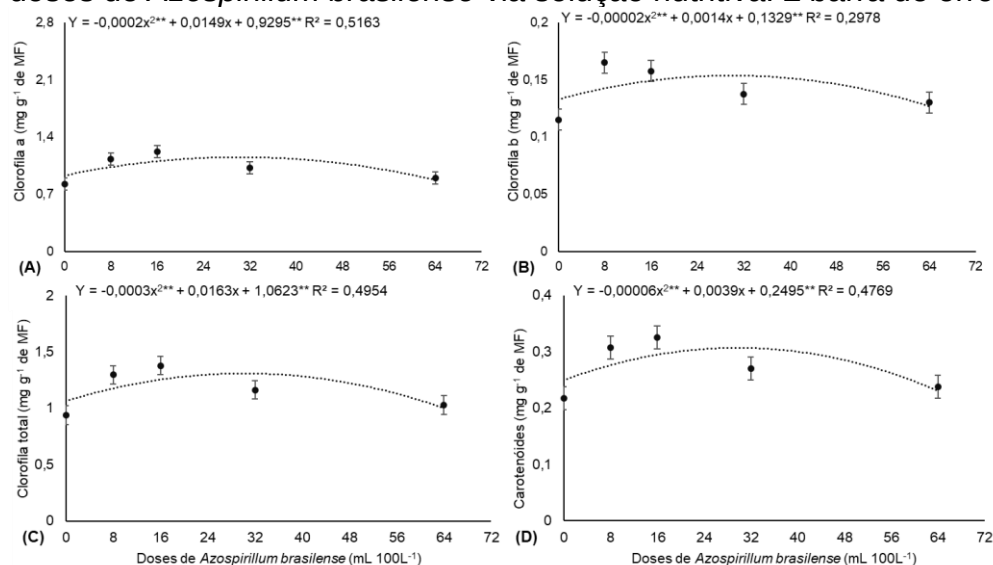
F.V.	Clo a	Clo b	Clo t	CAR
	31 DAT			
Bloco	0,97ns	0,32ns	0,76ns	0,96ns
Doses	67,49**	15,91**	72,20**	74,35**
CV (%)	3,89	7,24	3,69	4,02
Linear	12,03**	1,19ns	12,54**	20,74**
Quadrática	127,4**	17,01**	130,5**	72,69**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As maiores concentrações foliares calculadas de Clo a, Clo b, Clo t e CAR foram de 1,21, 0,18, 1,28 e 0,31 mg g⁻¹ MF na dose estimada de 37, 35, 27 e 32 mL de *A. brasilense* via solução nutritiva, respectivamente (Figuras 18A, 18B, 18C e 18D).

Figura 18 – Concentração foliar de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) aos 31 dias após o transplântio das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre a concentração interna de carbono, condutância estomática, transpiração e taxa de fotossíntese líquida da alface aos 17 e 31 DAT (Tabela 15).

Tabela 15 – Análise de variância dos valores de F calculado para concentração interna de carbono (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A) nas folhas das plantas de alface americana (cultivar Angelina), na 17 e 31 dias após o transplântio - DAT.

F.V.	Ci	gs	A	E	Ci	gs	A	E
	17 DAT				31 DAT			
Bloco	1,69ns	2,78ns	1,55ns	1,49ns	0,54ns	0,74ns	0,60ns	0,50ns
Doses	15,07**	32,06**	104,11**	6,67**	9,39**	36,93**	37,04**	8,47**
CV (%)	2,22	7,49	3,73	3,96	8,36	9,70	10,94	8,55
Linear	53,27**	124,90**	206,3**	5,88*	14,50**	15,40**	1,89ns	13,75**
Quadrática	5,26*	3,33ns	122,32**	19,47**	4,89*	102,9**	43,24**	13,05**

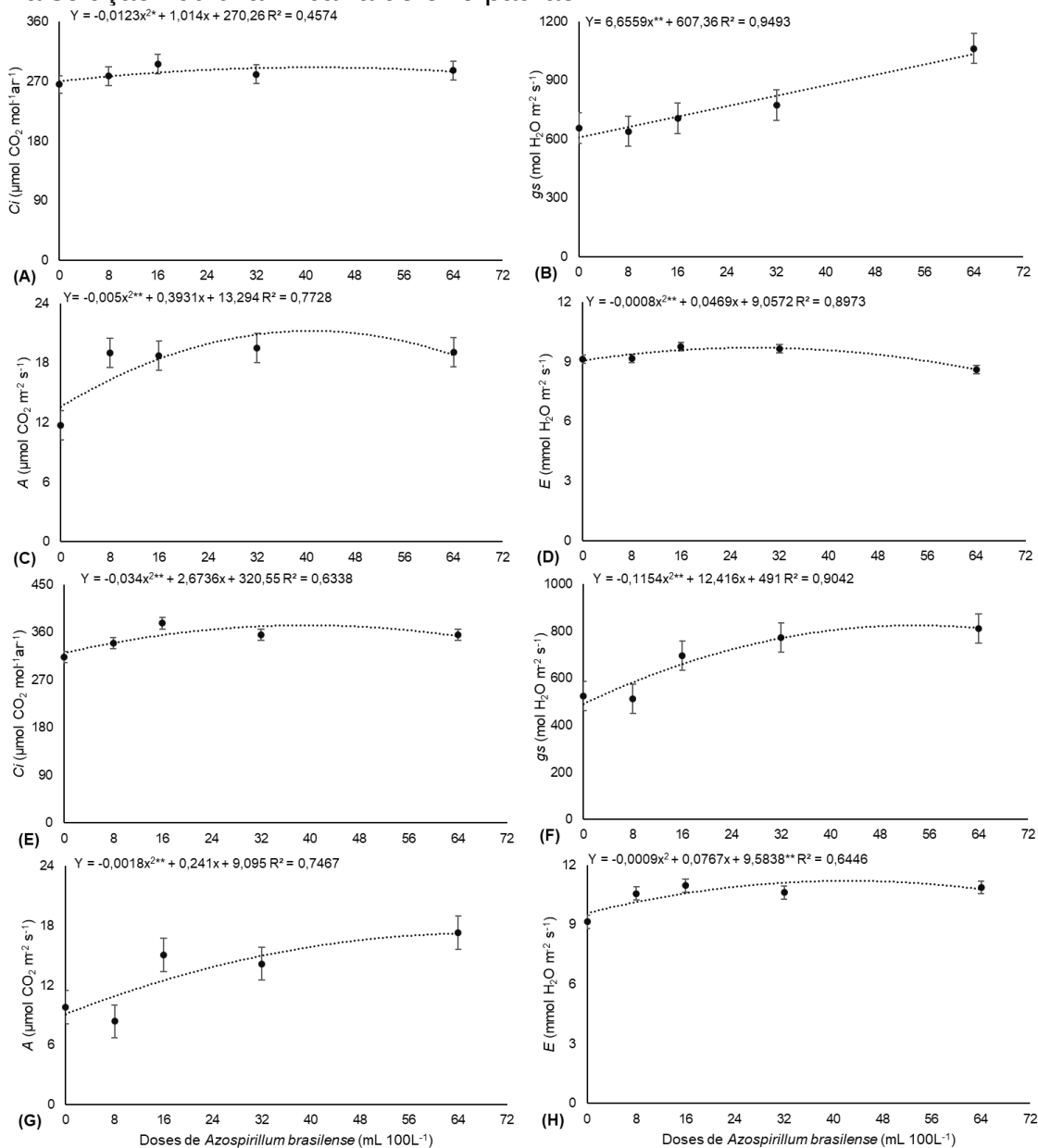
ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Notou-se o aumento da condutância estomática (gs) aos 17 e 31 DAT e da taxa de fotossíntese líquida aos 31 DAT das mudas de acordo com aumento das doses de inoculante de *Azospirillum brasilense* na solução nutritiva (Figuras 19B, 19F e 19G). O aumento da concentração subestomática de gás carbônico (Ci) ocorreu até a dose calculada de *A. brasilense* de 30 e 39 mL 100 L⁻¹, com concentração máxima calculada de 289 e 373 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}^{-1}$ aos 17 e 31 DAT respectivamente (Figuras 19A e 19E).

A dose de *A. brasilense* calculada que proporcionou maior taxa de fotossíntese líquida (A) foi de 39 mL com máxima A calculada de 21 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ aos 17 DAT (Figura 19C). Houve um aumento da taxa de transpiração foliar (E) até a dose de *A. brasilense* calculada de 31 e 42 mL, com E máximo calculado de 9,8 e 11,22 $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ aos 17 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 19D e 19H).

Figura 19 – Trocas gasosas foliares na concentração subestomática de gás carbônico (C_i) aos 17 dias após o transplântio - DAT (A) e aos 31 DAT (E), condutância estomática (g_s) aos 17 DAT (B) e aos 31 DAT (F), taxa de fotossíntese líquida (A) aos 17 DAT (C) e aos 31 DAT (G), transpiração (E) aos 17 DAT (D) e aos 31 DAT (H) plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre a eficiência do uso da água aos 17 e 31 DAT, conteúdo relativo de água e índice de integridade de membranas foliares aos 31 DAT (Tabela 16).

Tabela 16 – Análise de variância dos valores de F calculado para eficiência do uso da água (EUA) nas folhas das plantas de alface na 17 e 31 dias após o transplântio (DAT e para o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas (IIM) nas folhas das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 31 DAT.

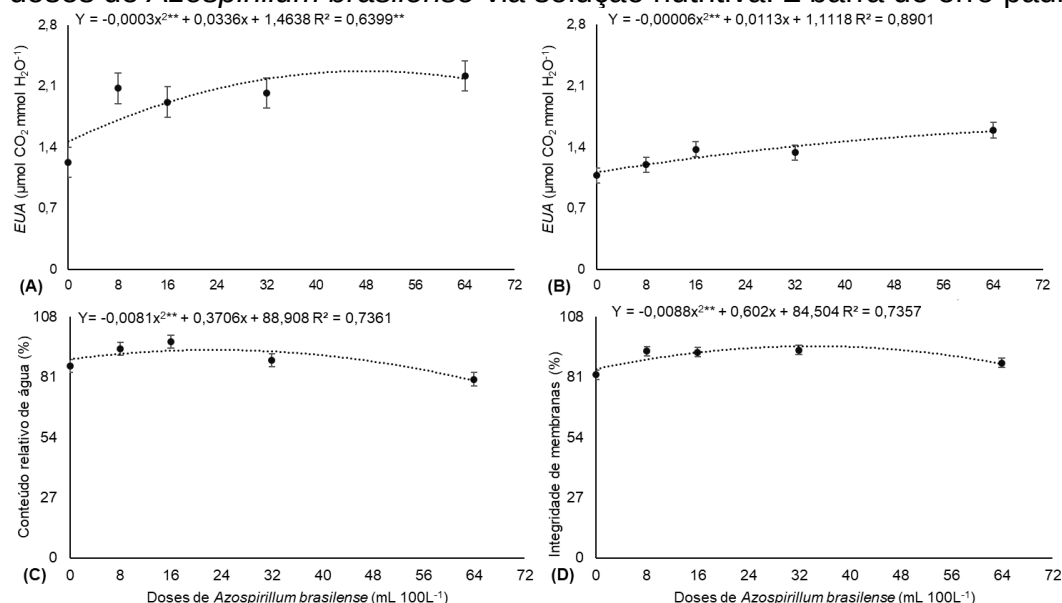
F.V.	EUA	EUA	CRA	IIM
	17 DAT	31 DAT	31 DAT	
Bloco	1,99ns	1,64ns	1,94ns	0,94ns
Doses	59,96**	22,53**	20,19**	66,53**
CV (%)	5,32	10,10	4,38	1,29
Linear	114,02**	32,14**	51,25**	2,93ns
Quadrática	539,92**	22,17**	7,03*	192,85**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou-se aumento da eficiência do uso da água (EUA) de acordo com o incremento das doses de *A. brasilense* via solução nutritiva aos 17 e 31 DAT (Figuras 20A e 20B). O maior conteúdo relativo de água foliar (CRA) calculado foi verificado na dose de *A. brasilense* de 22,9 mL 100 L⁻¹ com CRA máximo calculado de 94 % de água nas folhas (Figura 20C). Houve aumento do índice de integridade de membranas celulares das folhas (IIM) até a dose calculada de *A. brasilense* de 36 mL 100 L⁻¹ com IIM máximo calculado de 94,7% de membranas integras nas folhas (Figura 20D).

Figura 20 – Trocas gasosas foliares aos na eficiência do uso da água (*EUA*) aos 17 dias após o transplântio - DAT (A) e aos 31 DAT (B), e do estado hídrico das folhas no conteúdo relativo de água das folhas (C) e o índice de integridade de membranas celulares das folhas (D) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.5 Efeito de doses de *A. brasilense* sobre a atividade da enzima nitrato redutase e do acúmulo de nitrato

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *A. brasilense* sobre os acúmulos de nitrato e amônio na parte aérea e raízes, concentração de aminoácidos e carboidratos totais e na atividade da enzima nitrato redutase aos 31 DAT (Tabela 17).

Tabela 17 – Análise de variância dos valores de F calculado o acúmulo de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) na parte aérea e nas raízes, concentração de aminoácidos totais (AT), carboidratos totais (CT) e na atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 31 dias após o transplântio (DAT).

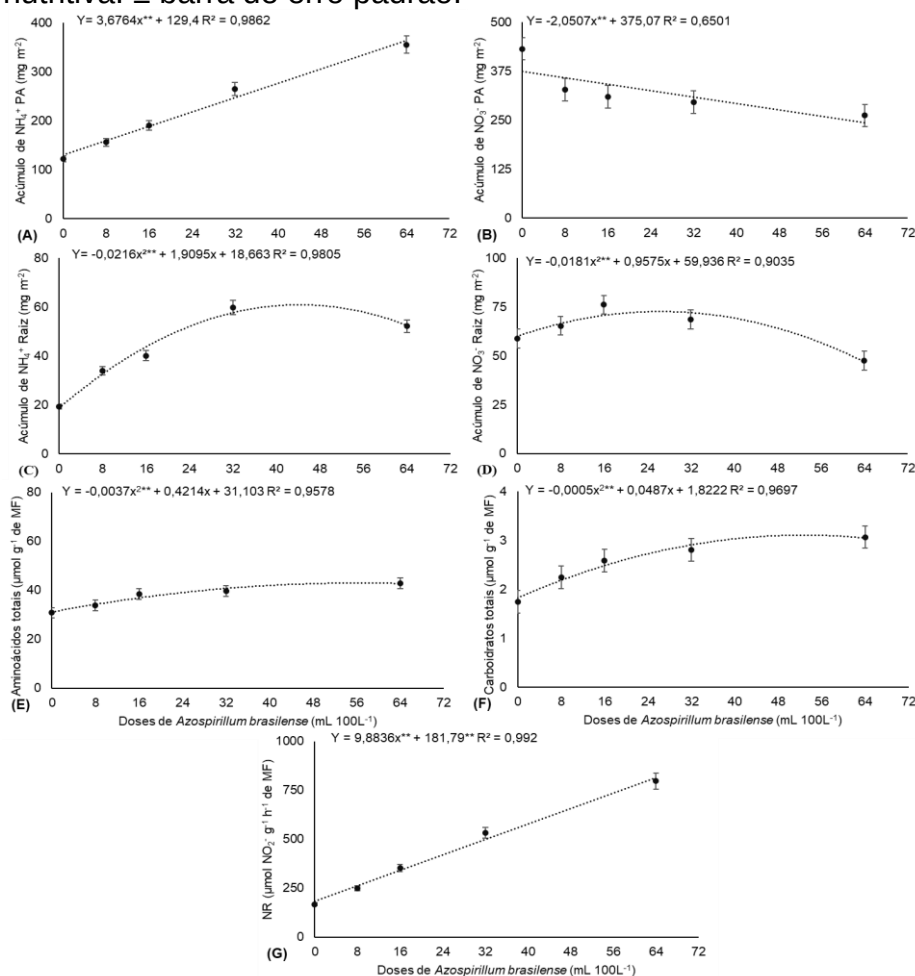
F.V.	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+	AT	CT	NR
	Parte aérea		Raízes		Foliar		
Bloco	6,06**	6,51**	0,35ns	1,79ns	0,33ns	0,11ns	1,23ns
Doses	9,28**	68,65**	11,09**	23,71**	12,46**	26,63**	384,7**
CV (%)	12,97	10,39	10,24	15,88	7,39	8,00	6,11
Linear	24,12**	270,8**	14,11**	56,73**	41,63**	85,56**	1526,5**
Quadrática	3,23ns	3,28ns	25,98**	36,28**	6,12*	17,73**	10,79**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi verificado aumento do acúmulo de amônio (NH_4^+) na parte aérea e atividade da enzima nitrato redutase foliar nas plantas de alface de acordo com aumento das doses de *A. brasilense* via solução nutritiva (Figuras 21A e 21G). Por outro lado, houve redução do acúmulo de nitrato (NO_3^-) na parte aérea das plantas de alface conforme o incremento das doses de *A. brasilense* via solução nutritiva (Figura 21B). O maior acúmulo de NH_4^+ nas raízes foi obtido na dose estimada de 44 mL 100 L^{-1} com o acúmulo calculado de $60,86 \text{ mg m}^{-2}$ nas plantas de alface (Figura 21C), e de NO_3^- com acúmulo calculado de $72,60 \text{ mg m}^{-2}$ na dose estimada de 26 mL de *A. brasilense* na solução nutritiva (Figura 21D). Foi observado maior concentração de aminoácidos e carboidratos totais estimada de 43,1 e $3,01 \mu\text{mol g}^{-1}$ nas doses calculadas 57 e 48,7 mL de *A. brasilense* respectivamente (Figura 21E e 21F).

Figura 21 – Acúmulo de amônio na parte aérea (A), nas raízes (C), acúmulo de nitrato na parte aérea (B), nas raízes (D), concentração de aminoácidos totais (E), carboidratos totais (F) e atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas (G) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.6 Análise econômica

O menor custo operacional total (COT) foi observado no tratamento sem a inoculação de *A. brasilense* via solução nutritiva (R\$ 20,91) e o maior COT (R\$ 23,31) foi verificado na maior dose (64 mL 100 L⁻¹) de *A. brasilense* via solução nutritiva. Porém, houve aumento da produtividade de alface com aumento do uso do inoculante. As vendas da alface no Ceasa são realizadas em engradados de 6 kg, e assim aumentou a lucratividade do controle (R\$ 11,29) até a dose de 64 mL de *A. brasilense* (R\$ 20,22), mesmo com aumento do COT. Porém, na dose de 32 mL de *A. brasilense* a lucratividade foi de R\$ 19,17 com uso de 50% da maior dose de inoculante (Tabela 18).

Tabela 18 – Custo operacional total (COT, R\$ m⁻²) e rentabilidade (R\$ m⁻²) modelo de estrutura de alface americana (cultivar Angelina), em hidroponia sob o tratamento controle (0 mL 100 L⁻¹ solução nutritiva), e as doses de *Azospirillum brasilense* via solução nutritiva.

Tratamento		0 mL 100 L ⁻¹ de <i>A. brasilense</i>			8 mL 100 L ⁻¹ de <i>A. brasilense</i>			16 mL 100 L ⁻¹ de <i>A. brasilense</i>			32 mL 100 L ⁻¹ de <i>A. brasilense</i>			64 mL 100 L ⁻¹ de <i>A. brasilense</i>		
Descrição	Un.	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)
A. Operações																
Mão-de-obra	hr	40	12,5	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94
Irrigação (energia elétrica)	kw h ⁻¹	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69
Consumo de água	L	450	0,002	0,13	450	0,00	0,13	450	0,00	0,13	450	0,00	0,19	450	0,00	0,13
Subtotal A.	R\$			14,76			14,76			14,76			14,82			
B. Insumos hidroponia																
Inoculante	L	0,00	80,00	0,00	0,024	80,00	0,27	0,048	80,00	0,53	0,096	80,00	1,07	0,192	80,00	2,13
Inseticida (Evidence)	kg	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08
Mudas	mud a	19,50	0,10	1,95	19,50	0,10	1,95	19,50	0,10	1,95	19,50	0,10	1,95	19,50	0,10	1,95
Hidrogood Fert	kg	0,51	7,00	0,50	0,53	7,00	0,52	0,53	7,00	0,51	0,60	7,00	0,59	0,66	7,00	0,64
Ferro EDDHA 6%	kg	0,02	70,00	0,23	0,02	70,00	0,24	0,02	70,00	0,23	0,03	70,00	0,27	0,03	70,00	0,29
Nitrato de Cálcio	kg	0,26	2,20	0,08	0,27	2,20	0,08	0,27	2,20	0,08	0,30	2,20	0,09	0,33	2,20	0,10
Cloreto de Potássio	kg	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04
Ácido Sulfúrico 25%	L	0,15	5,00	0,10	0,17	5,00	0,12	0,17	5,00	0,12	0,15	5,00	0,11	0,18	5,00	0,13
Hidróxido de Sódio 25%	L	0,12	10,00	0,17	0,12	10,00	0,17	0,10	10,00	0,14	0,10	10,00	0,14	0,06	10,00	0,08
Subtotal B.	R\$			5,15			5,47			5,68			6,34			7,44
Custo operacional efetivo	R\$			19,91			20,23			20,44			21,10			22,20
Outras despesas	R\$			0,00			0,00			0,00			0,00			0,00
Custo de Juros	R\$			1,00			1,01			1,02			1,05			1,11
Custo operacional Total	R\$			20,91			21,24			21,46			22,15			23,31
Receita																
Produtividade	Kg m ⁻²	6,11	5,27	32,20	6,39	5,27	33,68	7,00	5,27	36,89	7,84	5,27	41,32	8,26	5,27	43,53
Lucratividade	R\$			11,29			12,44			15,43			19,17			20,22

3.4 DISCUSSÃO

As plantas de alface americana (cultivar Angelina) têm o hábito de crescimento limitado à formação da cabeça, possivelmente um dos motivos para não se conseguir verificar o efeito da inoculação sobre o crescimento da parte aérea na fase inicial de cultivo, porém houve um incremento de 4% do comprimento da parte aérea aos 31 DAT (Figura 4). Isto foi relatado em cultivo de alface em sistema hidropônico no desenvolvimento inicial (baby leaf), mesmo com o aumento da condutividade elétrica (CALORI *et al.*, 2014). O aumento do crescimento da parte aérea também está associado ao aumento da massa fresca e seca da parte aérea, que sob a dose de 61 e 64 mL de *A. brasilense* promoveu incremento de 35 e 44% de massa aos 31 DAT, respectivamente (Figuras 5 e 6). A massa fresca em alface é uma das características mais importantes, por ser uma hortaliça comercializável *in natura*, cujo maior peso fresco favorece o uso de apenas uma planta para formação do maço, assim, aumentando-se o número de maços comercializáveis e, consequentemente a lucratividade, uma vez que o uso de duas plantas por maço pode reduzir o lucro em 50% (DALASTRA *et al.*, 2020b).

O crescimento das raízes é um dos efeitos observados em função de a inoculação com *A. brasilense* em diversas culturas em sistema utilizando solo, porém, não há relatos do sucesso da inoculação via solução nutritiva com esta bactéria, por serem bactérias endofíticas facultativas podendo não colonizar as raízes. Porém, como observado além de ter a capacidade de colonizar as raízes em sistema hidropônico, promoveu aumento do comprimento das raízes em 22% aos 31 DAT (Figura 4). O crescimento superior das raízes ao inocular com *A. brasilense* ocorre pelo estímulo do aumento da produção de fitormônios como o AIA pelas plantas, que agem principalmente como estimuladores do crescimento radicular e, em consequência melhora a exploração do ambiente de cultivo, absorção de água e nutrientes (MEZA *et al.*, 2015).

O aumento da massa fresca e seca da parte aérea e das raízes é resposta do aumento do crescimento da planta de alface. Este crescimento ocorre por diversos mecanismos relacionados com a inoculação de *A. brasilense*, sendo mencionados como o aumento da produção de fitormônios,

aumento da absorção de água e nutrientes, maior eficiência fotossintética e do uso dos fertilizantes ocasionados pelo *A. brasilense* (GALINDO *et al.*, 2020).

O aumento de 35% da produtividade da alface, de 23% no número de folhas e de 20% no índice de clorofila foliar nas doses estimadas, respectivamente? de 44, 20 e 28 mL do inoculante de *A. brasilense* estão intimamente relacionados (Figuras 7 e 8). O crescimento das folhas ocorre com o aumento da assimilação líquida de CO₂ no processo fotossintético, cujo acúmulo de carbono nas folhas permite a formação de novas folhas e aumento da massa das plantas, refletindo positivamente em maior produtividade (ALVAREZ *et al.*, 2019). Isto foi possível observar nos resultados do presente estudo, com aumento do *Ci* em 21% na dose estimada de 39 mL de *A. brasilense* via solução nutritiva (Figura 19). Curiosamente estas características tiveram correlação positiva e significativa que possivelmente ocorre devido a melhor nutrição das plantas (Figura 22).

Foi verificado uma melhor nutrição das plantas de alface, com aumento no acúmulo de N, P, K, S, Ca, Mg, B, Cu, Zn, Fe e Mn, respectivamente, em 39, 59, 51, 39, 57, 57, 60, 37, 48, 54 e 67% nas concernentes doses de 37, 38, 38, 64, 37, 32, 37, 40, 32, 37 e 64 mL do inoculante com *A. brasilense* em relação ao tratamento não inocular (Figuras 9, 11, 12, 13, 14 e 15). Isto, por sua vez reflete positivamente nos componentes produtivos da alface, o que demonstram ocorrência de sinergismo no crescimento das plantas com maior absorção e acúmulo de nutrientes na parte aérea das plantas de alface (Figura 22). O aumento da eficiência da absorção dos nutrientes está relacionado principalmente ao aumento do crescimento das raízes e exploração do ambiente de cultivo, produção de sideróforos, produção de compostos secundários e de fitormônios na planta (SOUZA *et al.*, 2015). O aumento na eficiência de absorção de N, P, K, Ca, Cu, Fe, Mn e Zn é um efeito anteriormente relatado na cultura da alface hidropônica, sob a inoculação foliar de *A. brasilense*, que proporcionou maior acúmulo destes nutrientes em relação à não inoculação (MOREIRA *et al.*, 2022). A inoculação com *A. brasilense* foi anteriormente relatada como forma de realizar a biofortificação alimentar com aumento da absorção e concentração de Zn em feijão-comum (JALAL *et al.*, 2021), Zn em milho e trigo (GALINDO *et al.*, 2021), de Fe em

milho (SCOTT *et al.*, 2020), Zn em trigo (JALAL *et al.*, 2022), de Zn e Fe em alface (MOREIRA *et al.*, 2022) e de Zn em rúcula (OLIVEIRA *et al.*, 2022; GATO *et al.*, 2023).

Os resultados obtidos na análise de troca gasosa aos 17 e 31 DAT com aumento, respectivamente, da *Ci* em 8 e 21%; *gs* em 62 e 55%; *E* em 8 e 19%; *A* em 66 e 54% e EUA em 81 e 48%, nas folhas de alface inoculados com *A. brasilense* na solução nutritiva do sistema hidropônico em relação àquela não inoculada (Figuras 19 e 20). As taxas de assimilação fotossintética de CO₂ são favorecidas pela nutrição adequada de K e Mg, que aumenta as concentrações intracelulares de CO₂ e a atividade fotossintética da folha (SINGH; REDDY, 2017). Devido ao papel osmótico de K no aumento da condutância estomática da folha (atuando na regulação da célula de guarda), a deficiência de K prejudica a fotossíntese da planta (JÁKLI *et al.*, 2017). O crescimento e o metabolismo das plantas requerem a translocação de carboidratos dos tecidos fotossinteticamente ativos, cujo carregamento de sacarose é a principal forma de transporte de carboidratos nas plantas, e a deficiência de K e Mg no floema pode prejudicar o transporte da eficiência do carbono para dentro da planta e o fornecimento adequado de essas duas moléculas aumentam a fotoproteção (TRANKNER *et al.*, 2018).

As proteínas de ligação do Ca²⁺ são residentes do cloroplasto, mas algumas estão localizadas na membrana do cloroplasto, como a s-adenosilmetionina semelhante ao transportador (STAEL *et al.*, 2011). O Ca²⁺ atua como um cofator para a ativação de enzimas redox relacionadas às membranas do fotossistema II; além disso, o Ca²⁺ também regula as enzimas frutose-1, 6-bisfosfatase (FBPase) e sedoheptulose-1,7-bisfosfatase (SBPase), que são fundamentais no ciclo de Calvin na via de assimilação de carbono que ocorre no estroma do cloroplasto (WANG *et al.*, 2019). Corroborando para o aumento das concentrações de clorofila *a* em 48%, clorofila *b* em 43%, clorofila *total* em 47% e carotenóides em 49% nas folhas das plantas de alface inoculadas com *A. brasilense*, nas doses de 37, 35, 27 e 32 mL em relação à não inoculação aos 31 DAT, respectivamente (Figura 18). Este comportamento também foi relatado em *Urochloa ruziziensis* com aumento das concentrações dos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides) nas folhas sob inoculação foliar de *A. brasilense* (BULEGON *et*

al., 2016). Considerando-se os resultados obtidos, foi possível afirmar correlações significativas e positivas do IIM e CRA com a quantidade de clorofila foliar, possivelmente pelo efeito benéfico da inoculação com *A. brasilense* sobre condições adversas que prejudicariam o crescimento pela menor troca gasosa realizada pelas plantas (Figura 22).

O uso da inoculação com *A. brasilense* tem sido destacado como promotoras de crescimento vegetal e sendo capazes de aumentar a produtividade das culturas, além de aumentar a eficiência na aquisição de nitrogênio (MOREIRA *et al.*, 2022; GATO *et al.*, 2023). Os principais mecanismos relacionados à maior aquisição de nitrogênio ocasionado pelo *A. brasilense* são o maior crescimento radicular (aumenta a exploração do solo pelas raízes), promoção de crescimento (aumento na produção de compostos secundários e fitormônios) e fixação biológica de nitrogênio “FBN” (aumenta a atividade do metabolismo do nitrogênio e produtividade pelo aumento no acúmulo de carbono) (PANKIEVICZ *et al.*, 2015).

A única fonte de nitrogênio disponível para absorção das raízes no sistema hidropônico é a solução nutritiva. Assim, o maior acúmulo de N (10, 12 e 6%) nas plantas no final do ciclo em relação ao que foi fornecido via solução nutritiva (Figura 10), pode ser explicado pelo processo de fixação biológica de nitrogênio proporcionado pela inoculação com *A. brasilense* na solução nutritiva, e em simbiose com a planta sequestra N_2 da atmosfera, fornecendo o N para as plantas. As estirpes Ab-V5 e Ab-V6 do *A. brasilense* tem no sequenciamento genético a expressão de genes semelhantes ao *fixam* e *nif*, e *fixam* que são responsáveis pela capacidade de realizar a fixação de nitrogênio atmosférico (HUNGRIA *et al.*, 2018). O uso destas estirpes de *A. brasilense* proporcionou maior eficiência no uso do nitrogênio pela facilidade de aquisição das moléculas de amônio derivados pelas bactérias após o processo de FBN e seu transporte para os tecidos das plantas (GALINDO *et al.*, 2020).

De acordo com Pii *et al.* (2019) a inoculação com *A. brasilense* reduziu a expressão do gene *NF-YA* que é responsável pela alta afinidade dos transportadores de nitrato (NO_3^-) das raízes para parte aérea das plantas, induzindo maior absorção de amônio (NH_4^+) fornecido para planta pela FBN. Este fato corrobora com o aumento do acúmulo de NH_4^+ na parte aérea e redução do acúmulo de NO_3^- de acordo com aumento das doses de *A.*

brasiliense na solução nutritiva (Figura 21). Outra explicação esta relacionada com aumento da atividade da enzima nitrato redutase, na síntese de metabólitos secundários e aminoácidos nas folhas das plantas sob inoculação com *A. brasiliense* (BREDA *et al.*, 2019). A atividade da enzima nitrato redutase teve um aumento de 376% na dose de 64 mL de *A. brasiliense* em relação ao não inoculado (Figura 21).

A redução do nitrato a nitrito ocorre no citosol pelas atividades da enzima nitrato redutase onde entra nos plastídios ou cloroplastos para reduzi-lo à amônia que foi fixada via glutamato, sintase/glutamina sintase em aminoácidos (YONEYAMA; SUZUKI, 2019). Esses glutamina e glutamato serviram como substrato para transaminação e produção de aminoácidos utilizados na ingestão de proteínas (TAIZ *et al.*, 2022). Concordando com nossos resultados, em que se verificou um aumento de 39% na concentração total de aminoácidos e de 76% de carboidratos totais sob a maior dose de *A. brasiliense* (Figuras 5B e 5C).

A inoculação com *A. brasiliense* aumentou a afinidade para assimilação de amônio, além disso, aumenta a biossíntese de glutamato, na reação que liga o metabolismo do carbono ao N, que é controlado pela glutamato desidrogenase, que melhora o metabolismo da glutamina e do glutamato (SCHNABEL; SATTELY, 2021). As reações do metabolismo do N favorecem o aumento das concentrações de carboidratos e aminoácidos nas folhas, que estão relacionadas ao aumento da assimilação de CO₂ e do teor de pigmento fotossintético (DORMEYER *et al.*, 2019).

O aumento da produtividade de alface na maior dose do inoculante com *A. brasiliense* proporcionou maior lucratividade (R\$ 20,22) em relação à não inoculação (R\$ 11,29). Isto representa que a inoculação com *A. brasiliense* na dose de 64 mL 100 L⁻¹ propiciou incremento de 79% da lucratividade em relação à não inoculação, viabilizando o uso do inoculante para o cultivo de alface hidropônico, o que pode aumentar a competitividade do produtor no mercado (Tabela 18).

A inoculação com *A. brasiliense* propiciou aumento do crescimento da parte aérea, das raízes e acúmulo de massa nas plantas de alface no sistema hidropônico, além disso, a inoculação estimulou a maior aquisição de nutrientes pelas plantas e seu acúmulo na parte aérea e raízes. Na presente pesquisa, a

inoculação com doses de *A. brasilense* aumentou a concentração dos pigmentos fotossintéticos, aminoácidos e carboidratos e trocas gasosas foliares; e ainda proporcionou aumento da atividade da enzima nitrato redutase, que favoreceu a redução do acúmulo de nitrato na parte aérea das plantas de alface, característica que prejudica o sabor das folhas e a saúde humana.

3.5 CONCLUSÕES

A dose de 44 mL 100 L⁻¹ do inoculante de *A. brasilense* proporcionou maior produtividade de folhas frescas de alface americana (cultivar Angelina), sendo a dose indicada para conseguir proporcionar a maior eficiência produtiva. As doses de 32 e 64 mL proporcionaram as maiores lucratividades da alface americana.

O uso de doses entre 27 e 39 mL do inoculante com *A. brasilense* promoveu aumento no estado hídrico, nas trocas gasosas foliares, nos pigmentos fotossintéticos, concentração de aminoácidos e carboidratos e na eficiência do uso da água pela planta de alface.

A dose recomendada de *A. brasilense* entre 32 e 40 mL 100 L⁻¹ melhorou os componentes produtivos, o acúmulo de N, P, K, Ca, Mg, B, e Cu, além de ter sido eficaz para biofortificar com Fe e Zn a parte aérea da alface americana cultivada em sistema hidropônico.

O aumento das doses de *A. brasilense* aumentou o acúmulo de NH₄⁺ e a atividade do nitrato redutase, assim como proporcionou a redução do acúmulo de NO₃⁻ da parte aérea das plantas de alface hidropônico, reduzindo o risco a saúde humana.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, R. C. F.; BENETÃO, J.; BARZOTTO, G. R.; ANDRADE, M. G. O.; LIMA, S. F. Application methods of *Azospirillum brasilense* in first and second-crop corn. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.23, n.11, p.840-846, 2019.
- ARTÉS, F.; ALLENDE, A. Minimal Fresh Processing of Vegetables, Fruits and Juices. In: **Emerging Technologies for Food Processing**; Elsevier: London, UK, p.583–597, 2014.
- BREDA, F. A. F.; DA SILVA, T. F. R.; DOS SANTOS, S. G.; ALVES, G. C.; REIS, V. M. Modulation of nitrogen metabolism of maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae*. **Archives of Microbiology**, Berlin, v.201, p.547–558, 2019.
- BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.46, n.3, p.343-349, 2016.
- CALORI, A. H.; FACTOR, T. L.; LIMA JÚNIOR, S.; MORAES, L. A. S.; BARBOSA, P. J. R.; TIVELLI, S. W.; PURQUERIO, L. F. V. Electrical conductivity and plant spacing on baby leaf table beet and lettuce production. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.32, p.426-433, 2014.
- CARVALHO, R. S. C., BASTOS, R. G., SOUZA, C. F. Influence of the use of wastewater on nutrient absorption and production of lettuce grown in a hydroponic system. **Agricultural and Water Management**, Amsterdam, v.203, p.311–321, 2018.
- DALASTRA, C. **Nutrição e produção de alface americana em função da vazão, periodicidade de exposição e condutividade elétrica da solução nutritiva em sistema hidropônico**. 98f. 2017. Tese (doutorado em agronomia) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Pós-graduação em sistema de produção, 2017.
- DALASTRA, C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; SILVA, M.R.; NOGUEIRA, T. A. R.; FERNANDES, G. C. Head lettuce production and nutrition in relation to nutrient solution flow. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.38, p.21-26, 2020a.
- DALASTRA, C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; VARGAS, P. F. Periodicity of exposure of hydroponic lettuce plants to nutrient solution. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.33, p.81-89, 2020b.
- DORMEYER, M.; LENTES, S.; RICHTS, B.; HEERMANN, R.; ISCHEBECK, T.; COMMICHAU, F.M. Variants of the *Bacillus subtilis* LysR-Type Regulator GltC with Altered Activator and Repressor Function. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v.10, a.2321, 2019.

FALKER Automação Agrícola Ltda. Manual do medidor eletrônico de teor clorofla (ClorofLOG / CFL 1030). Porto Alegre: **Falker**, 2008. 33p.

FAOSTAT—Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division. **Food Production and Trade**. disponível online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FO> (acesso in 4 Setembro 2022).

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, Heidelberg, v.6, p.1-13, 2016.

GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; RODRIGUES, W. L.; BOLETA, E. H. M.; SILVA, V. M.; TAVANTI, R. F. R.; FERNANDES, G. C.; BIAGI-NI, A. L. C.; ROSA, P. A. L.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation of *Azospirillum brasilense* associated with silicon as a liming source to improve nitrogen fertilization in wheat crops. **Scientific Reports**, London, v.10, a.6160, 2020.

GALINDO, F. S.; BELLOTTE, J. L. M.; SANTINI, J. M. K.; BUZETTI, S.; ROSA, P. A. L.; JALAL, A.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Zinc use efficiency of maize-wheat cropping after inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v.120, p.205–221, 2021.

GATO, I. M. B.; OLIVEIRA, C.E.S.; OLIVEIRA, T. J. S. S.; JALAL, A.; MOREIRA, V. A.; GIOLO, V. M.; VITORIA, L. S.; LIMA, B. H.; VARGAS, P. F.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Nutrition and yield of hydroponic arugula under inoculation of beneficial microorganisms. **Horticulture Environmental and Biotechnology**, Suwon, v. 63, p.1-12, 2023.

GEWEHR, E.; RODRIGUES, D. B.; AMARANTE, L.; MARTINS, A. C.; TUNES, L. V. M. Biochemical characterization of wheat seeds produced with the association of *Azospirillum brasiliense* with nitrogen. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v.6, n.8, p.58140-58151, 2020.

HISCOX, J.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.57, p.1332-1334. 1979.

HUNGRIA, M.; RIBEIRO, R. A.; NOGUEIRA, M. A. Draft genome sequences of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6, commercially used in inoculants for grasses and legumes in Brazil. **Genome announcements**, Washington, v6, e00393–18, 2018.

JÁKLI, B.; TAVAKOL, E.; TRÄNKNER, M.; SENBAYRAM, M.; DITTERT, K. Quantitative limitations to photo-synthesis in K deficient sunflower and their implications on water-use efficiency. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.209, p.20– 30, 2017.

JALAL, A.; GALINDO, F. S.; BOLETA, E. H. M.; OLIVEIRA, C. E. D. S.; REIS, A. R. D.; NOGUEIRA, T. A. R.; MORETTI NETO, M. J.; MORTINHO, E. S.; FERNANDES, G. C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Common Bean Yield and Zinc Use Efficiency in Association with Diazotrophic Bacteria Co-Inoculations. **Agronomy**, Basel, v.11, a.959, 2021.

JALAL, A.; OLIVEIRA, C. E. S.; FREITAS, L. A.; GALINDO, F. S.; LIMA, B. H.; BOLETA, E. H. M.; DA SILVA, E. C.; DO NASCIMENTO, V.; NOGUEIRA, T. A.; BUZZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Agronomic biofortification and productivity of wheat with soil zinc and diazotrophic bacteria in tropical savannah. **Crop Pasture Science**, Victoria, v.73, n.8, p.817-830, 2022.

KAPPEL, N.; BOROS, I. F.; RAVELOMBOLA, F. S.; SIPOS, L. EC Sensitivity of Hydroponically Grown Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Types in Terms of Nitrate Accumulation. **Agriculture**, Basel, v.11, a.315, 2021.

LUTTS, S.; KINET, J. M.; BOUHARMONT, J. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v.19, p.207, 1996.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, Piracicaba. 1997.

MATSUNAGA, M.; BEMELMANS, P. F.; TOLEDO, P. E. N.; DULLEY, R. D.; OKAWA, H.; PEDROSO, I. A. Metodologia de custo de produção utilizada pelo IEA. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v.23, n.1, p.123-139, 1976.

MEZA, B.; BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Involvement of indole-3-acetic acid produced by *Azospirillum brasilense* in accumulating intracellular ammonium in *Chlorella vulgaris*. **Research of Microbiology**, San Francisco, v.166, p.72-83, 2015.

MOREIRA, V. A.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; GATO, I. M. B.; OLIVEIRA, T. J. S. S.; BOLETA, G. H. M.; GIOLO, V. M.; VITÓRIA, L. S.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* increases nutrition and yield of hydroponic lettuce. **Archives of Microbiology**, Berlin, v.204, n.440, p.1-12, 2022.

OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; OLIVEIRA, J. R.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Foliar inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Trichoderma harzianum* in hydroponic arugula improves the productive components and plant nutrition and reduces foliar nitrate. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.52, e72755, 2022.

PANKIEVICZ, V. C. S.; AMARAL, F. P.; SANTOS, K. F. D. N.; AGTUCA, B.; XU, Y.; SCHUELLER, M. J.; ARISI, A. C. M.; STEFFENS, M. B. R.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; STACEY, G.; FERRIERI, R. A. Robust biological nitrogen

fixation in a model grass-bacterial association. **The Plant Journal**, Oxford, v.81, p.907-919, 2015.

PII, Y.; ALDRIGHETTI, A.; VALENTINUZZI, F.; MIMMO, T.; CESCO, S. *Azospirillum brasilense* inoculation counteracts the induction of nitrate uptake in maize plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.70, n.4 p. 313–1324, 2019.

R Core Team **R: a language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna <https://www.R-project.org/2015>.

RADIN, J. W. Distribution and development of nitrate reductase activity in germinating cotton seedlings. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.53, 458-463, 1974.

SAKATA. Informações técnicas da cultivar de alface americana Angelina. **Disponível em:** <https://www.sakata.com.br/hortalicas/folhosas/alface/americana-de-verao/angelina>. Acesso em: 02 jan. 2022.

SCHNABEL, T.; SATTELY, E. Engineering posttranslational regulation of glutamine synthetase for controllable ammonia production in the plant symbiont *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.87, n.14, e00582-21, 2021.

SCOTT, S.; HOUSH, A.; POWELL, G.; ANSTAETT, A.; GERHEART, A.; BENOIT, M.; WILDER, S.; SCHUELLER, M.; FERRIERI, R. Crop Yield, Ferritin and Fe (II) boosted by *Azospirillum brasilense* (HM053) in Corn. **Agronomy**, Basel, v.10, a.394, 2020.

SILVA, F. C. **Manual de análise química de solo, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2009.

SINGH, S. K.; REDDY, V. R. Potassium starvation limits soybean growth more than the photosynthetic processes across CO₂ levels. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.8, a.991, 2017.

SOUZA, R.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.38, n.4, p.401-419, 2015.

STAEL, S.; ROCHA, A. G.; ROBINSON, A. J.; KMIECIK, P.; VOTHKNECHT, U. C.; TEIGE, M. Arabidopsis calcium-binding mitochondrial carrier proteins as potential facilitators of mitochondrial ATP-import and plastid SAM-import. **FEBS Letters**, Amsterdam, v.585, a.3935, 2011.

TABAGLIO, V.; BOSELLI, R.; FIORINI, A.; GANIMEDE, C.; BECCARI, P.; SANTELLI, S.; NERVO, G. Reducing nitrate accumulation and fertilizer use in lettuce with modified intermittent nutrient film technique (NFT) system. **Agronomy**, Basel, v.10, a.1208, 2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Plant Physiology and Development**. 7 ed. Sinauer Associates, Sunderland. 2022. 864 p.

TRÄNKNER, M.; TRAVAKOL, E.; JÁKLI, B. Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. **Physiologia Plantarum**, Oxford, v.163, p.414-431, 2018.

WANG, Q.; YANG, S.; WAN, S.; LI, X. The Significance of calcium in photosynthesis. **International Journal of Molecular Science**, Basel, v.20, a.1353, 2019.

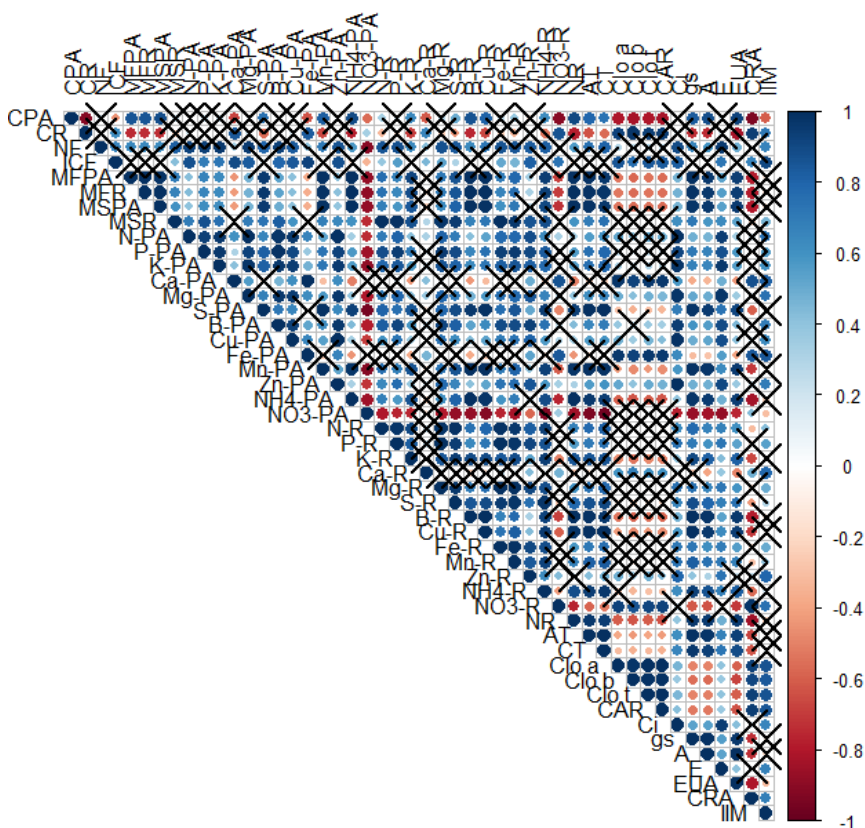
YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, Notre Dame, v.80, n.948, p.209-214, 1955.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, London, v.57, n.3, p.508-514, 1954.

YONEYAMA, T.; SUZUKI, A. Exploration of nitrate-to-glutamate assimilation in non-photosynthetic roots of higher plants by studies of ¹⁵N-tracing, enzymes involved, reductant supply, and nitrate signaling: A review and synthesis. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.136, p.245-254, 2019.

APÊNDICE A – Mapa de calor de correlações

Figura 22 – Mapa de calor dos coeficientes de correlação de Pearson obtidos das variáveis analisadas em alface americana (cultivar Angelina) em resposta à inoculação com doses de *A. brasilense*. “X” indica correlação não significativa ($P > 0,05$). comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), matéria fresca da parte aérea (MFPA), matéria fresca da raiz (MFR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), índice de clorofila foliar (ICF), teor de clorofila a (Clo a), clorofila b (Clo b), clorofila total (Clo t), carotenóides (CAR), concentração de carboidratos totais (CT) e de aminoácidos totais (AT), atividade da enzima nitrato redutase (NR), acúmulo de nutrientes da parte aérea em nitrogênio (N-PA), fósforo (P-PA), potássio (K-PA), cálcio (Ca-PA), magnésio (Mg-PA), enxofre (S-PA), boro (B-PA), cobre (Cu-PA), ferro (Fe-PA), manganês (Mn-PA), zinco (Zn-PA), amônio (NH_4 -PA), nitrato (NO_3 -PA), acúmulo de nutrientes radiculares em nitrogênio (N-R), fósforo (P-R), potássio (K-R), cálcio (Ca-R), magnésio (Mg-R), enxofre (S-R), boro (B-R), cobre (Cu-R), ferro (Fe-R), manganês (Mn-R), zinco (Zn-R), amônio (NH_4 -R), nitrato (NO_3 -R), concentração substomática de CO_2 (Ci), condutância estomática (gs), taxa de fotossíntese líquida (A), transpiração foliar (E), eficiência do uso da água (EUA), conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas foliares (IIM).



Fonte: Elaborado pelo autor.

4 CAPÍTULO II. RESPOSTA DE ALFACE AMERICANA A DOSES DE *Bacillus* EM SISTEMA HIDROPÔNICO

RESUMO: A inoculação com *B. subtilis* tem se mostrado promissora no aumento da produtividade das plantas e na absorção de nutrientes, porém são incipientes as pesquisas com hortaliças folhosas em cultivo hidropônico. Logo, estabeleceu-se as hipóteses de estimar a dose do inoculante via solução nutritiva com *B. subtilis* que consiga proporcionar aumento de componentes produtivos, fisiológicos, nutricionais, econômicos na dose correta. O objetivo deste estudo foi estimar a dose de inoculante com a bactéria *B. subtilis* que aumente a produtividade, os componentes produtivos, as trocas gasosas, nutrição de plantas e a análise econômica, assim como a redução do nitrato foliar de alface hidropônica. A pesquisa foi realizada em casa de vegetação, em cultivo protegido com 35% de sombreamento, em Ilha Solteira, SP, em sistema hidropônico NFT. Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos foram doses de inoculante contendo *B. subtilis* aplicados via solução nutritiva (0, 7,8, 15,6, 31,2 e 62,4 mL 100 L⁻¹). A inoculação com *B. subtilis* na dose de 33 e 29 mL proporcionou a maior massa fresca (22%) e seca (40%) da parte aérea, respectivamente. As doses de 18 e 26 mL de *B. subtilis* promoveram as maiores massas fresca (34%) e seca (51%) de raízes. Houve aumento de 31% no acúmulo de N, 33% de P, 44% de K, 104% de Ca, 43% de Mg e 53% de S na parte aérea, respectivamente, nas doses de 25, 26, 20, 15, 24 e 30 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis*. Verificou-se também aumento na taxa de fotossíntese líquida, concentração intercelular de CO₂, clorofila total, condutância estomática, transpiração e eficiência do uso da água em doses entre 34 e 39 mL 100 L⁻¹. A dose de 35 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis* via solução nutritiva é a mais indicada para produção de alface americana hidropônica, pois proporciona maior produtividade de folhas. A inoculação com *B. subtilis* nas doses entre 18 e 35 mL 100 L⁻¹ propiciou a maior massa fresca e seca da parte aérea e de raízes e acúmulo de N, P, K, S, Ca e Mg em alface americana cultivada em sistema hidropônico. A inoculação com doses entre 34 e 39 mL 100 L⁻¹ aumentou a eficiência fotossintética, a assimilação de CO₂ e a eficiência do uso da água pelas plantas de alface. A inoculação de *B. subtilis*

na dose de 33 mL 100 L⁻¹ via solução nutritiva no cultivo hidropônico de alface proporcionou maior eficiência fotossintética, acúmulo de N e produtividade de folhas das plantas, além de a redução do acúmulo de NO₃⁻ e aumento da atividade da enzima nitrato redutase na parte aérea das plantas.

Palavras-Chave: *Lactuca sativa*; Assimilação de carbono; pigmentos fotossintéticos; absorção de nutrientes; bactérias promotoras do crescimento de plantas; nitrato redutase.

AMERICAN LETTUCE RESPONSE TO DOSES OF *Bacillus subtilis* IN A HYDROPONIC SYSTEM

ABSTRACT: Inoculation with *B. subtilis* has shown promise in increasing plant productivity and nutrient absorption, but research on leafy vegetables in hydroponic cultivation is incipient. Therefore, hypotheses were established to estimate the inoculant dose via nutrient solution with *B. subtilis* that can provide an increase in productive, physiological, nutritional, economic components at the correct dose. The objective of this study was to estimate the inoculant dose with *B. subtilis* bacteria that increases productivity, productive components, gas exchange, plant nutrition and economic analysis, as well as the reduction of foliar nitrate in hydroponic lettuce. The research was carried out in a greenhouse in Ilha Solteira, S. Paulo state, Brazil, in a NFT hydroponic system. The randomized block design with four replications was used. The treatments were doses of inoculant with *B. subtilis* via nutrient solution (0, 7.8, 15.6, 31.2, and 62.4 ml 100 L⁻¹). The inoculation with *B. subtilis* at the dose of 33 and 29 ml provided the highest fresh (22%) and dry (40%) mass of shoot, respectively. The doses of 18 and 26 ml of *B. subtilis* provided the highest fresh (34%) and dry (51%) mass of roots. There was an increase of 31% in the accumulation of N, 33% of P, 44% of K, 104% of Ca, 43% of Mg, and 53% of S in the shoot at the doses of 25, 26, 20, 15, 24, and 30 ml 100 L⁻¹ of *B. subtilis*. There was also an increase in the rate of liquid photosynthesis, intercellular CO₂ concentration, total chlorophyll, stomatal conductance, transpiration, and water use efficiency at doses between 34 and 39 ml 100 L⁻¹. The dose of 35 ml 100 L⁻¹ of *B. subtilis* via nutrient solution is the most suitable for hydroponic lettuce production, as it provides the highest yield of leaves. Inoculation with *B. subtilis* at doses

between 18 and 35 ml 100 L⁻¹ provided the highest fresh and dry mass of shoots and roots and accumulation of N, P, K, S, Ca, and Mg in lettuce grown in a hydroponic system. The inoculation with doses between 34 and 39 ml 100 L⁻¹ increased the photosynthetic efficiency, CO₂ assimilation, and water use efficiency of lettuce plants. The inoculation of *B. subtilis* at a dose of 33 mL 100 L⁻¹ via nutrient solution in hydroponic lettuce cultivation provided greater photosynthetic efficiency, N and mass accumulation in the plants, in addition the reduction of NO₃⁻ accumulation in the shoot of the plants.

Keywords: *Lactuca sativa*; Carbon assimilation; photosynthetic pigments; nutrients uptake; plant growth-promoting bacteria; nitrate reductase.

4.1 INTRODUÇÃO

Alface, um vegetal de salada de baixa caloria, baixa gordura e baixo teor de sódio, é uma fonte abundante de fitoquímicos e vitaminas que melhoram a saúde humana; dentre estes flavonoides glicosilados, ácidos hidroxicinnômicos, lactonas sesquiterpena, aminoácidos (por exemplo, lactucina e lactucópico), carotenoides, vitaminas do grupo B, vitamina C, como também é rico em Fe (SHI *et al.*, 2022). Metabólitos secundários de alface estão potencialmente associados a muitas propriedades benéficas à saúde, incluindo efeitos antirradicais livres, anticardiovasculares, antiinflamatórios, anticísticos e antidiabéticos (KIM *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2022).

A produção de alface é crescente no mundo, conseguir produzir durante todo o ano tem sido um desafio, principalmente, quando cultivado em solo pelas alterações ambientais, sobretudo temperatura e umidade, com dificuldade de controlar doenças radiculares e foliares em períodos prolongado de chuvas (OPATOVSKY *et al.*, 2019). O sistema de recirculação de solução nutritiva que ocorre na Nutrient Film Technique (NFT) em hidroponia proporciona maior controle de doenças no cultivo de alface, além de aumentar a precocidade e produtividade das plantas e, ao mesmo tempo reduzir o consumo de água em relação à produção de hortaliças folhosas em solo (DALASTRA *et al.*, 2020). Também, promove maior eficiência no uso da água, que é essencial para a crise hídrica global (KAPPEL *et al.*, 2021). Além de

conseguir aumentar a absorção e concentração de nutrientes nas plantas de alface (AINI *et al.*, 2019).

O uso de *Bacillus spp.* aumenta o crescimento de plantas, absorção de nutrientes, aproveitamento de água e ainda ganhos de produtividade, com isso, tem sido muito estudado em diversas culturas (QIAO *et al.*, 2017; HASHEM *et al.*, 2019; KANG *et al.*, 2019; SUN *et al.*, 2020; KASOZI *et al.*, 2021). A inoculação com *Bacillus subtilis* foi anteriormente associada a diversos mecanismos que promovem o crescimento das plantas, como o aumento da produção de fitormônios, sideróforos e compostos secundários, além de promover aumento da aquisição de nutrientes pelas plantas (KANG *et al.*, 2019). Ainda algumas espécies de *Bacillus spp.* tem a capacidade de realizar fixação biológica de nitrogênio (FBN), proporcionar maior aquisição de N e reduzir o consumo de fertilizantes pelas plantas (YOUSUF *et al.*, 2017).

Além disso, em estudos observou-se que a inoculação com *B. subtilis* proporcionou aumento do crescimento de pelos radiculares, massa fresca das plântulas e concentração de N foliar, porém, proporcionou a redução das concentrações de nitrato foliar das plantas de *Arabidopsis* pelo aumento da atividade da enzima nitrato redutase foliar (LEE *et al.*, 2020). A inoculação de *Bacillus spp.* em sistema aquapônico com alface, possibilitou verificar aumento no crescimento da parte aérea e raízes, na absorção de N e P, e, ainda, melhoria da qualidade das plantas para o consumo dos seres humanos (KASOZI *et al.*, 2021).

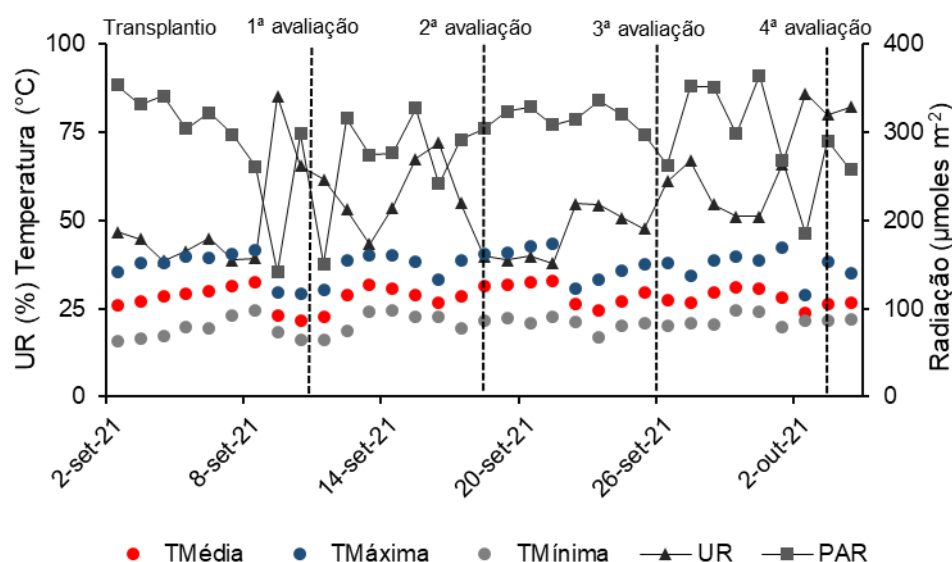
Com a intenção de produzir alimentos saudáveis e de qualidade, amenizar o consumo de fertilizantes e aumentar a produtividade da alface em cultivo hidropônico, faz-se interessante utilizar o *B. subtilis* via solução nutritiva para melhorar o cultivo de alface na hidroponia, considerando-se a escassez de estudos relacionados à inoculação neste sistema de cultivo, assim, torna-se importante, um estudo inicialmente para encontrar a dose ideal do inoculante a ser utilizada. Portanto, o objetivo do estudo foi verificar os efeitos de doses de *B. subtilis* no crescimento, produtividade, acúmulo de nutrientes, NO_3^- e NH_4^+ na parte aérea e raízes, pigmentos fotossintéticos, trocas gasosas e atividade da enzima nitrato redutase na alface americana cultivada em sistema hidropônico, além de seu efeito sobre a lucratividade da cultura.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Localização e caracterização de cultivo

O sistema de cultivo NFT de alface hidropônica foi desenvolvida em cultivo protegido com 35% de sombreamento, na Universidade Estadual Paulista - (UNESP), Ilha Solteira – SP, com coordenadas geográficas (20° 25'07"S 51° 20 '31"W) e uma altitude de 376 m. Os dados meteorológicos foram coletados da área externa da estufa de uma estação meteorológica automática da UNESP entre o período de 2 de setembro a 4 de outubro de 2021 (Figura 23).

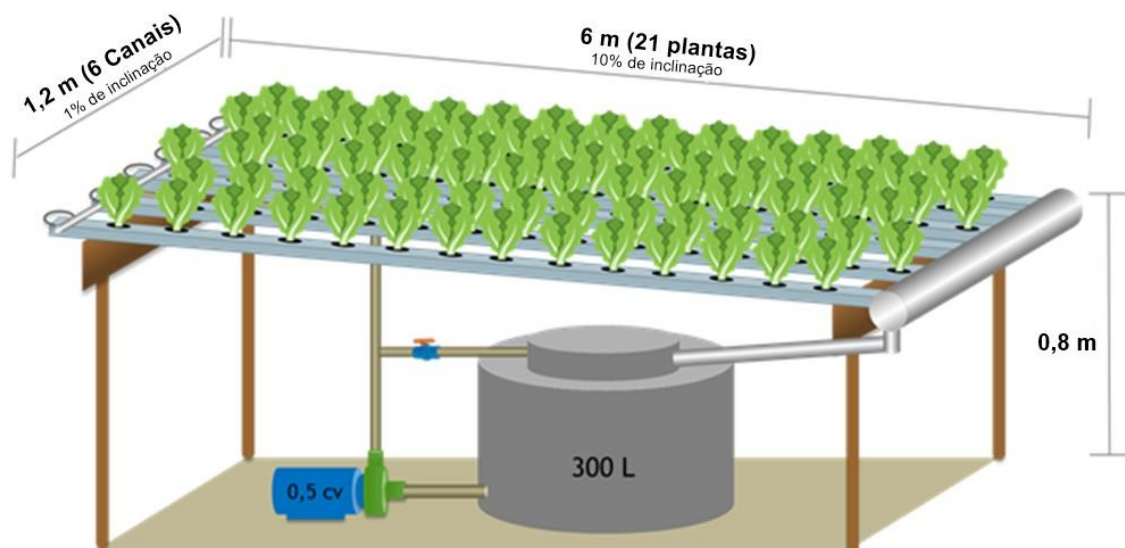
Figura 23 - Condições climáticas de umidade relativa do ar (UR), temperatura máxima (TM_{máxima}), média (TM_{média}) e mínima (TM_{mínima}) e radiação PAR (PAR) durante a realização do experimento



Fonte: Elaborado pelo autor.

O experimento foi instalado em sistema NFT com bancadas individuais de seis metros de comprimento e 10% de declividade. Os canais de cultivo foram confeccionados em PVC com seção retangular de 8 cm de largura e 4 cm de altura e perfurações superiores para acomodar plantas a cada 25 cm (Figura 24). Cada bancada consistia em seis canais de cultivo distantes 20 cm, com um sistema de bombeamento individual e um reservatório de 300 L com vazão de 1 L por minuto e período de exposição da solução nutritiva com fluxo contínuo.

Figura 24 – Esquema da bancada de condução dos experimentos. Ilha Solteira, SP, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com cinco repetições, cada unidade experimental foi constituída por quatro plantas de alface coletadas na bancada aleatoriamente dos quatro canais centrais da bancada hidropônica. Os tratamentos foram constituídos de doses de *Bacillus subtilis* estirpe CCTB04 (garantia de 1×10^8 UFC mL⁻¹), nas doses de 0 mL (testemunha não inoculada), 7,8; 15,6; 31,2 e 62,4 mL do inoculante líquido para cada 100 litros de solução nutritiva, aplicado no dia do transplântio das mudas de alface.

Utilizou-se a alface americana, cultivar Angelina, que segundo informações da Sakata (2022), são plantas vigorosas, com excelente formação de saia, cabeças fechadas, compactas e uniformes em campo aberto e em hidroponia, nível moderado de resistência à bacteriose, folhas verdes intensas e brilhantes, segurança de plantio em períodos de oscilações climáticas (alta adaptação às condições de cultivo tropical).

As mudas foram desenvolvidas em bandeja com substrato inerte por 15 dias e, posteriormente, transplantadas para bancadas permanentes do sistema NTF, onde permaneceram por 31 dias até a colheita. Foi realizada uma aplicação do inseticida sistêmico com princípio ativo imidacloprido

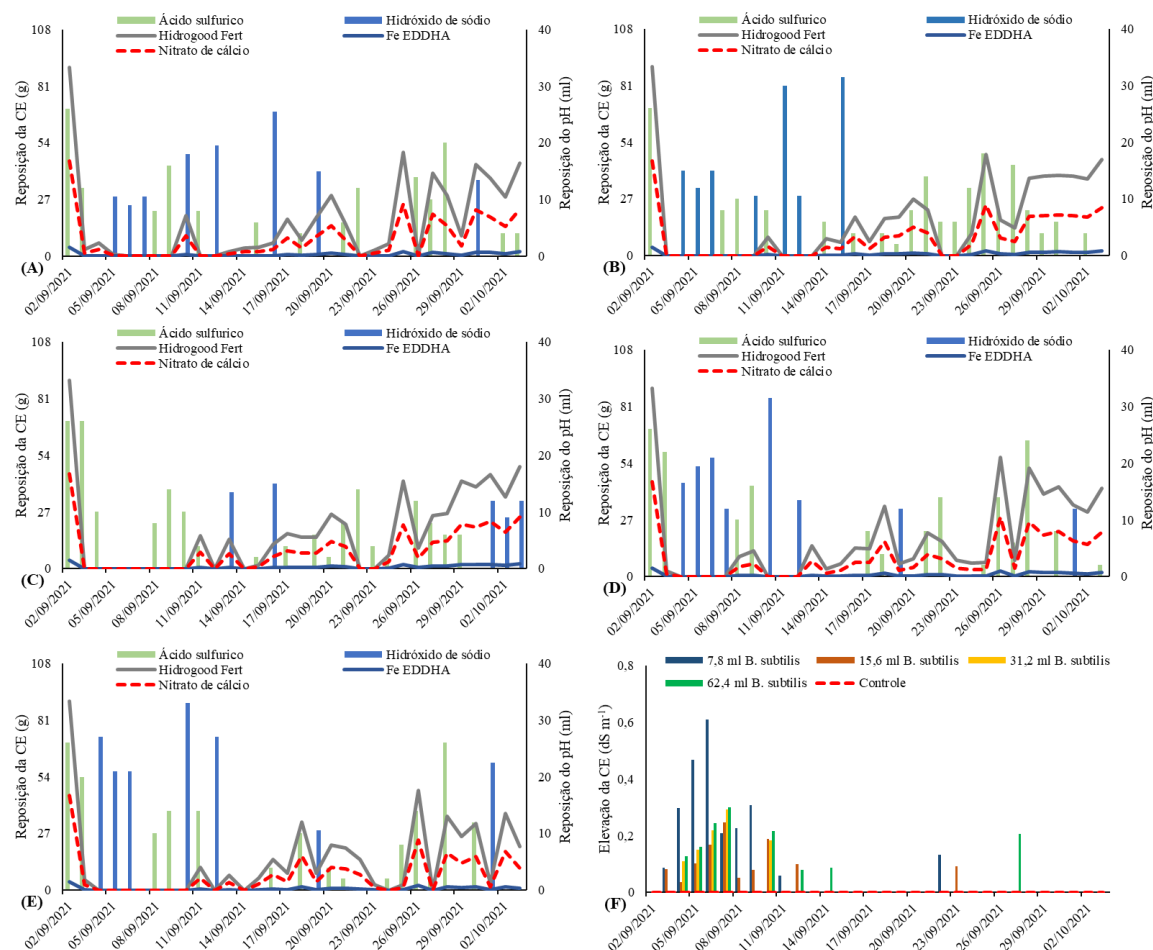
(neonicotinoides) na dose de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ de solução nutritiva para o controle de trips (*Frankliniella schultzei*) aos 10 dias após o transplante (DAT).

A solução nutritiva composta por fertilizantes concentrados Hidrogood Fert Nacional foi utilizada na dose de $(0,666 \text{ g L}^{-1})$ indicada para todas as fases de desenvolvimento da cultura, com as seguintes concentrações de nutrientes (%): 10 de N, 9 de P, 28 de K, 4,3 de S, 3,3 de Mg, 0,06 de B, 0,01 de Cu, 0,05 de Mn, 0,07 de Mo e 0,02 de Zn. Utilizou-se também o Nitrato de Cálcio na dose de $0,495 \text{ g L}^{-1}$ com as seguintes concentrações de nutrientes (%): 15,5 de N e 26,5 de Ca; e o Hidrogood Fert Ferro EDDHA 6% de Fe na dose de $0,020 \text{ g L}^{-1}$.

A medição e correção da condutividade e do pH foram realizadas diariamente pela manhã, nesta ocasião a CE foi reajustada para a CE determinada para cada bancada de cultivo com a reposição de fertilizantes se necessário. Foi realizado no 1°, 8°, 16° e 24° DAT a suplementação com 35 mg L^{-1} de KCl, para melhorar o estado hídrico das plantas pelo efeito das elevadas temperaturas da região (determinação realizada em estudos prévios, pois a não suplementação proporcionou murcha nas plantas no período de maior calor diário) (Informação pessoal).

A condutividade elétrica inicial foi de $1,3 \text{ dS m}^{-1}$ estes valores foram elevados de acordo com o estágio de cultivo e sua resposta à adubação conforme descrito por Dalstra (2017), e então aos 11° DAT elevou-se a CE determinada para $1,5 \text{ dS m}^{-1}$ e aos 21° DAT foram elevadas para $1,7 \text{ dS m}^{-1}$, o que permaneceu até a colheita. Para manter o pH entre 6,0 e 6,5, foi utilizado ácido sulfúrico (25%) quando pH estava acima de 6,5, e o hidróxido de sódio (25%) quando pH estava abaixo de 6,0. A reposição da condutividade elétrica e de pH foi descrito conforme os usos de fertilizantes (Figuras 25A, 25B, 25C, 25D e 25E), o efeito da inoculação na solução nutritiva causou elevação da CE sem adição de nutrientes (possivelmente pela fixação biológica de nitrogênio - "FBN") e, desta forma, evitou a reposição de nutrientes por período maior, foi descrito as elevações diárias da condutividade elétrica pela inoculação (Figura 25F).

Figura 25 – Correção do pH e reposição condutividade elétrica (CE) em sistema hidropônico NFT no tratamento controle (A), com a inoculação de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva na dose 7,8 mL 100 L⁻¹ (B) 15,6 mL 100 L⁻¹ (C), 31,2 mL 100 L⁻¹ (D), 62,4 mL 100 L⁻¹ (E) e a elevação da CE ocasionada pela inoculação (F) no período do experimento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.3 Avaliações biométricas

As avaliações foram realizadas aos 10, 17, 24 e 31 DAT das mudas de alface, no momento da colheita de cada avaliação foi realizada a colheita da matéria fresca do sistema radicular e da parte aérea, quantificou-se o comprimento da parte aérea e das raízes, índice de clorofila foliar utilizando clorofilog Falker CFL-1030 (FALKER, 2008). Em seguida, o material foi enviado para secagem em estufa de ventilação forçada a 60 °C por 72 horas, para a obtenção da matéria seca do sistema radicular e da parte aérea. A produtividade da cultura foi baseada na população de plantas de 19,5 plantas m⁻², conforme a equação IX:

$$\text{IX. } Prod = MFF * PP$$

Prod: produtividade (kg m⁻²)

MFF: massa fresca das folhas (kg planta⁻¹)

PP: população de plantas (plantas m⁻²)

4.2.4 Avaliações nutricionais

Após secagem, pesagem e trituração dos materiais vegetais em moinho Wiley, foram determinados segundo a metodologia de Malavolta *et al.* (1997), as concentrações de N, P, K, S, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, B e Zn na parte aérea da alface em todas as avaliações. Para as raízes, a quantificação de nutrientes foi realizada apenas na avaliação final (31 dias após o transplântio). Na avaliação final foi determinado a concentração de nitrato e amônio nas folhas e raízes, que foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Silva (2009). O acúmulo de nutrientes na parte aérea e nas raízes das plantas foi calculado com base nas respectivas produtividades de massa seca e na concentração de nutrientes nas plantas conforme a equação X:

$$\text{X. } AC = PMS * PP$$

AC: acúmulo de nutrientes (g ou mg m⁻²)

PMS: produtividade de massa seca (kg m⁻²)

CN: concentração de nutrientes (g ou mg kg⁻¹)

4.2.5 Avaliações trocas gasosas e estado hídrico da folha

A avaliação de trocas gasosas foi realizada em pelo menos oito plantas por tratamento, aos 17 e 31 dias após o transplântio das mudas, no período entre as 9h e as 11h da manhã, em folhas totalmente expandidas localizadas na parte mediana da planta, para tanto, utilizou-se um analisador de gás infravermelho (Infra Red Gas Analyser - CIRAS-3, modelo CRS300), sendo as condições inicialmente impostas de 800 µmol m⁻² s⁻¹ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), 380 ppm de CO₂ e temperatura da câmara em 28 °C. Na ocasião foram mensuradas a concentração interna de carbono (Ci- µmol m⁻² s⁻¹), condutância estomática (gs-mol de H₂O m⁻² s⁻¹), transpiração (E- mmol de H₂O m⁻² s⁻¹) e taxa de fotossíntese líquida (A- µmol de CO₂ m⁻² s⁻¹), a eficiência do uso da água (EUA- µmol CO₂ mol H₂O⁻¹).

Na avaliação final foi determinado o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas celulares (IIM). O estado da água das plantas era determinado pelo teor de água relativo da folha (CRA). O CRA foi calculado de acordo com a equação XI:

$$\text{XI. CRA (\%)} = \left[\frac{(MF - MS)}{(MT - MS)} \right] * 100$$

Dez discos de folhas de 25 mm de diâmetro foram coletados às 8 h da manhã (ao amanhecer) de quatro folhas de cada planta, e em seguida, pesado imediatamente para a determinação de massa fresca (MF). Para a medição de massa túrgida (MT), discos de folhas foram submersos por 12 h em água destilada em 25 °C; depois disso, foram secados suavemente em uma toalha de papel e pesados. As amostras foram então secas em estufa a 75 °C por 24 horas e pesadas para determinar a massa seca (MS).

O índice de estabilidade da membrana da folha (IIM), de acordo com Lutts *et al.* (1996), utilizando-se dez discos foliares (25 mm de diâmetro) de quatro folhas da planta, foram lavadas em água destilada, colocados em tubos contendo 50 mL de água deionizada, e mantida a 25 °C em banho-maria por 6 h. A condutividade elétrica da solução foi analisada com medidor de CE (C1). Posteriormente, as amostras foram colocadas em banho-maria (100 °C) por 1 h, e a condutividade elétrica (C2) foi avaliada após equilíbrio a 25 °C. O índice de estabilidade de membranas celulares foi estimado de acordo com a seguinte equação XII:

$$\text{XII. IIM} = \left[1 - \left(\frac{C1}{C2} \right) \right] * 100$$

4.2.6 Avaliações enzimáticas, clorofila, aminoácidos e carboidratos

A atividade da enzima nitrato redutase (NR) in vivo foi determinada de acordo com a metodologia de Radin (1974). Foram coletadas a 2ª e 3ª folha completamente expandidas a partir do ápice entre as 9 e 10 h da manhã para evitar grandes interferências da intensidade luminosa sobre a atividade da enzima e de clorofila foliar. Amostras de tecido foliar fresco foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório em gelo, e lavadas com água deionizada. Em seguida, 100 mg de tecido fresco cortado em discos foram transferidos para tubos de ensaio contendo 3 mL de solução tampão fosfato pH 7,4 (50 mmol L⁻¹ + 200 mmol L⁻¹ KNO₃).

Estas amostras foram infiltradas à vácuo durante 2 min para aumentar a penetração da solução nos tecidos. Em seguida, os tubos de ensaio foram incubados em banho-maria a 33 °C por 30 minutos envoltos em papel alumínio contra a luz. A reação foi interrompida pela adição de 1 mL de sulfanilamida a 1% em solução de HCl 2 mol L⁻¹ e, em seguida, 1 mL de solução de naftilenodiamina a 0,05%. O nitrito (NO₂⁻) produzido foi medido em espectrofotômetro a 540 nm, utilizando uma curva de calibração padrão de nitrito. A atividade da enzima esteve diretamente relacionada com a quantidade de NO₂⁻ e os resultados foram expressos em µmol NO₂⁻ g⁻¹ h⁻¹ de massa fresca (MF).

Os teores de clorofila a (Cl a), b (Cl b), (Cl t) e carotenóides (CAR) foram determinados usando o agente extrator DMSO. O peso fresco do tecido foliar (50 mg) foi cortado em fragmentos de 1 mm e incubado em 7 mL de DMSO no escuro em banho-maria a 65 °C por 30 min (HISCOX; ISRAELSTAM 1979). Após as leituras no espectrofotômetro, os teores dos pigmentos fotossintéticos foram calculados e expressos em mg g⁻¹ MF. Conforme as equações XIII, XIV, XV e XVI:

$$\text{XIII. } Cl\ a = (12.70 * ABS_{663}) - (2.69 * ABS_{645})$$

$$\text{XIV. } Cl\ a = (22.90 * ABS_{645}) - (4.68 * ABS_{663})$$

$$\text{XV. } Cl\ t = (20.20 * ABS_{663}) + (8.02 * ABS_{663})$$

$$\text{XVI. } CAR = ((1000 * ABS_{470}) - (1.29 * Cl\ a - 53.38 * Cl\ b) \div 198)$$

Os aminoácidos totais foram quantificados com o método da ninidrina ácida (YEMM *et al.*, 1955). Foram utilizados 100 µL do extrato solúvel em água com 900 µL de H₂O, 500 µL de tampão citrato, 200 µL de ninidrina a 5% em metilglicol e 1 mL de solução de KCN 0,0002 M. As amostras foram aquecidas em banho-maria a 100°C por 20 min e colocadas para resfriar em temperatura ambiente para posterior inclusão de 1 mL de etanol 60%. A determinação foi realizada em espectrofotômetro a λ = 570 nm com os resultados expressos em µmol g⁻¹ MF.

Os carboidratos totais foram determinados de acordo com o método da anthrone descrito por Yemm e Willis (1954). 1 mL do extrato solúvel em água foi adicionado a um tubo de ensaio com 1 mL de solução de anthrona (0,2% em ácido sulfúrico), seguido de agitação e posterior incubação em banho-maria por 10 min e resfriamento em temperatura ambiente. Em seguida, a

determinação foi realizada em espectrofotômetro em $\lambda = 620$ nm. A concentração de carboidratos totais foi medida por meio da curva padrão da solução de glicose e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

4.2.7 Análise econômica

A análise econômica foi realizada por meio da estrutura baseada no Custo Operacional Total (COT) de produção, utilizada pelo Instituto de Economia Agrícola (IEA), segundo Matsunaga *et al.* (1976), que consiste na soma dos custos de despesas: operações, insumos (fertilizantes, sementes, agroquímicos, inoculante, etc.), mão de obra, maquinários e sistema de irrigação, denominado Custo Operacional Efetivo (COE). Além disto, o COT considerou outras despesas e taxas de juros, representando 5,0% do COE (MATSUNAGA *et al.*, 1976), resultando no custo operacional total (COT), que foi extrapolado para um hectare.

4.2.8 Análise estatística

Como os dados de todas as variáveis apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas (Shapiro Wilk-Test), foram submetidos à análise de variância. A significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância foi testada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. As médias relativas as doses do inoculante foram ajustados em forma de regressão a 5% de probabilidade. Usando o pacote corrplot para avaliar a correlação os componentes produtivos, fisiológicos e nutricionais usando o software R (R Core Team 2015).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Efeito de doses de *B. subtilis* sobre o crescimento das plantas

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre o comprimento da parte aérea e das raízes da alface aos 10 e 17 DAT, no comprimento da parte aérea aos 24 DAT e das raízes aos 31 DAT. Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) sobre o comprimento das raízes aos 24 DAT e da parte aérea aos 31 DAT (Tabela 19).

Tabela 19 – Análise de variância dos valores de F calculado para o comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR) da alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

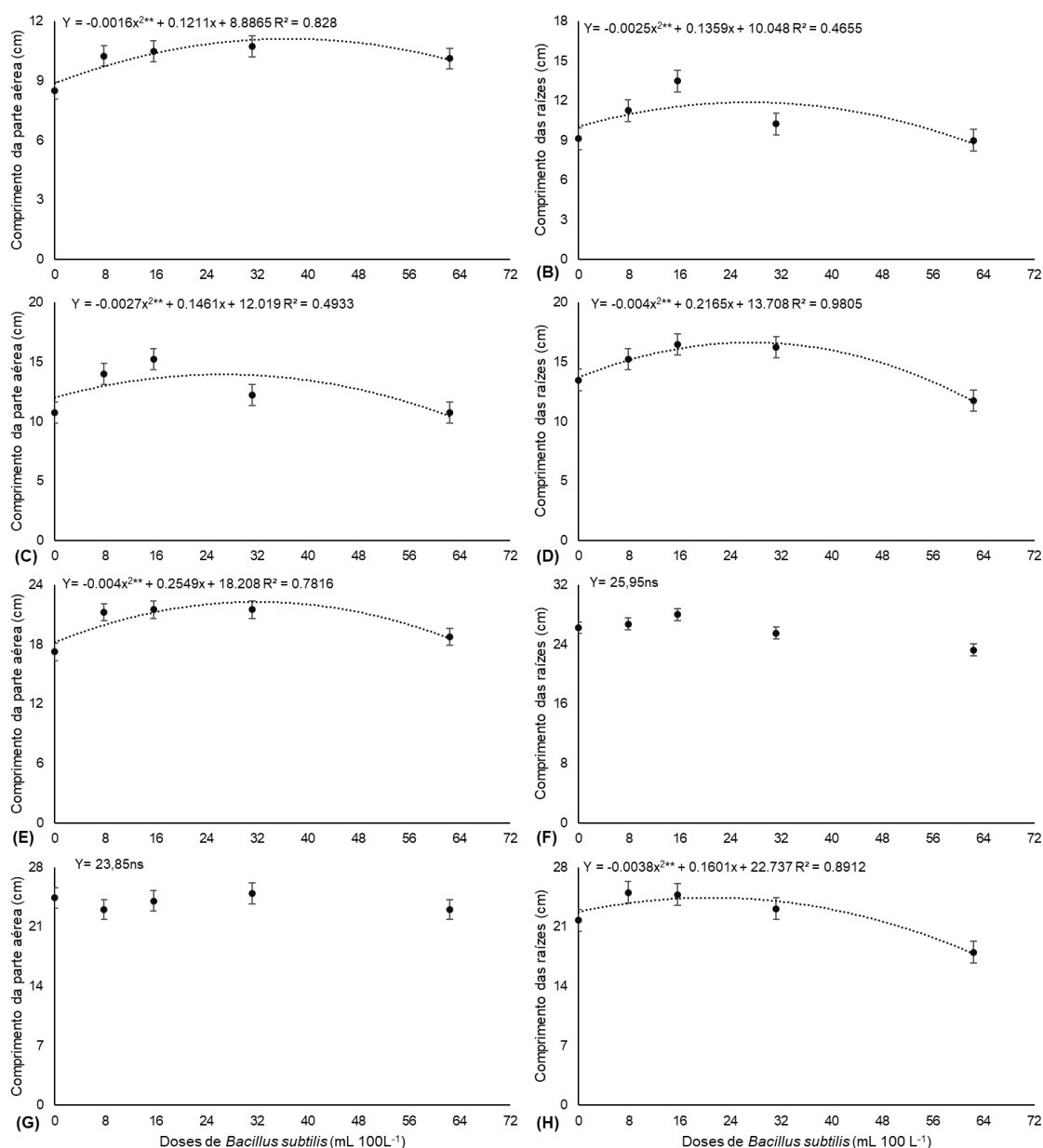
F.V.	CPA	CR	CPA	CR	CPA	CR	CPA	CR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,33ns	0,54ns	2,02ns	2,93ns	2,11ns	0,48ns	1,19ns	0,40ns
Doses	7,17**	7,88**	11,53**	6,16**	9,84**	2,73ns	1,86ns	8,26**
CV (%)	6,60	12,41	9,33	11,02	6,19	8,23	5,14	7,28
Linear	5,43*	3,80ns	6,52*	5,99*	0,02ns	3,58ns	0,70ns	12,40**
Quadrática	18,32**	10,87**	16,23**	18,18**	30,76**	1,47ns	1,73ns	15,06**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Não foi constatado efeito significativo das doses de *B. subtilis* sobre o comprimento da parte aérea aos 31 DAT (Figura 26G) e sobre o comprimento das raízes aos 24 DAT (Figura 26E). Notou-se maior crescimento da parte aérea das plantas de alface na dose calculada de 37, 27 e 31 mL 100 L⁻¹ com comprimento máximo calculado de 11,2; 14 e 22,3 cm aos 10, 17 e 24 DAT, respectivamente (Figuras 26A, 26C e 26E). Como o maior comprimento radicular foi observado nas doses de *B. subtilis* de 27, 27 e 21 mL com os comprimentos máximos calculados de 11,9; 16,6 e 24,4 cm aos 10, 17 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 26B, 26D e 26H).

FIGURA 26 – COMPRIMENTO DA PARTE AÉREA AOS 10 DIAS APÓS O TRANSPLANTIO - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) E 31 DAT (G), E O COMPRIMENTO DAS RAÍZES AOS 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) E 31 DAT (H) DAS PLANTAS DE ALFACE AMERICANA (CULTIVAR ANGELINA) EM SISTEMA HIDROPÔNICO NFT EM RESPOSTA A DOSES DE *BACILLUS SUBTILIS* VIA SOLUÇÃO NUTRITIVA. ± BARRA DE ERRO PADRÃO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou-se-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre a massa fresca da parte aérea e raízes aos 17, 24 e 31 DAT, e na massa fresca da parte aérea aos 10 DAT, não houve efeito significativo ($p > 0,05$) sobre a massa fresca das raízes aos 10 DAT (Tabela 20).

Tabela 20 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (MFR) da alface americana (cultivar Angelina) aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

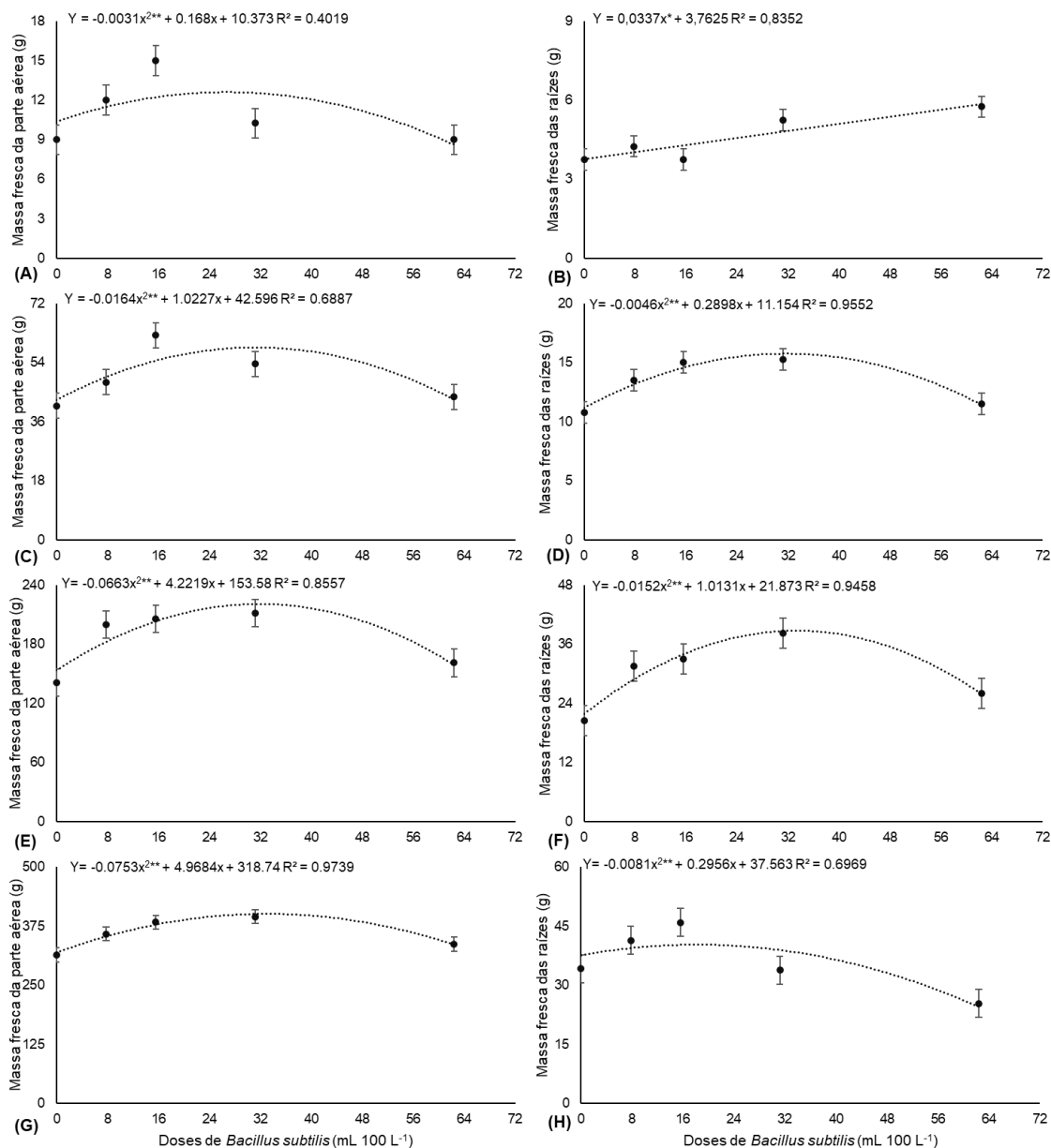
F.V.	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,32ns	0,50ns	3,32ns	0,81ns	2,26ns	1,32ns	0,29ns	2,29ns
Doses	24,33**	2,83ns	21,80**	6,68**	19,99**	27,21**	5,79**	41,19**
CV (%)	9,27	23,74	7,40	11,88	7,53	8,75	7,71	6,11
Linear	11,01**	9,45*	0,67ns	0,09ns	0,09ns	1,69ns	0,19ns	71,38**
Quadrática	28,11**	0,08ns	59,37**	25,44**	68,34**	101,22**	22,36**	32,73**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A massa fresca da parte aérea máxima calculada foi de 12,7; 58,5; 215,3 e 400,7 g nas doses de *B. subtilis* calculada de 27 mL para 10 DAT e 31 mL para 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 27A, 27C, 27E e 27G). Houve aumento da massa fresca das raízes com o aumento das doses de *B. subtilis* aos 10 DAT, porém aos 17, 24 e 31 DAT as massas máximas calculadas de 16, 39 e 41 g de raízes foram obtidas nas doses de 31, 33 e 18 mL do inoculante, respectivamente (Figuras 27D, 27F e 27H).

Figura 27 – Massa fresca da parte aérea aos 10 dias após o plantio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), em massa fresca das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre a massa seca da parte aérea e de raízes aos 10, 17 e 31 DAT, e para massa seca das raízes aos 24 DAT, porém houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) das doses do inoculante para massa seca da parte aérea aos 24 DAT (Tabela 21).

Tabela 21 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR) da alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após transplântio - DAT.

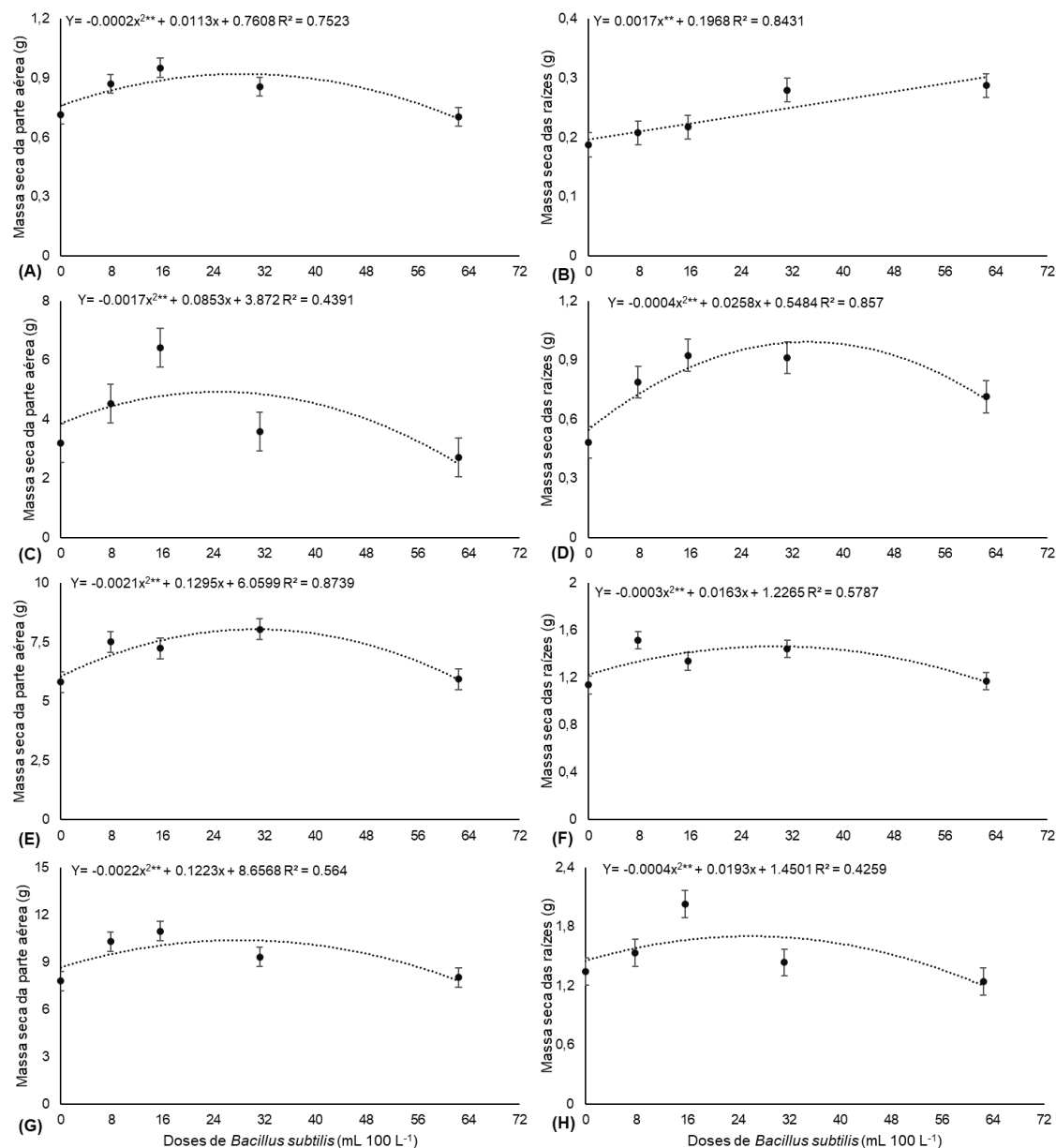
F.V.	MSPA	MSR	MSPA	MSR	MSPA	MSR	MSPA	MSR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,95ns	0,30ns	0,66ns	0,64ns	0,62ns	0,69ns	1,56ns	2,75ns
Doses	14,85**	7,26**	8,82**	21,81**	4,21*	7,74**	7,82**	19,24**
CV (%)	6,77	16,96	24,08	10,10	13,97	9,00	10,66	9,21
Linear	6,72*	21,16**	6,41*	4,79*	0,42ns	1,68ns	3,15ns	11,31**
Quadrática	37,95**	0,66ns	9,08**	69,97**	14,28**	16,22**	14,50**	21,47**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O maior acúmulo de massa seca na parte aérea da alface foi de 0,9; 4,9; 8,1 e 10,4 g nas doses calculadas de 28, 25, 30 e 27 mL de *B. subtilis* aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 28A, 28C, 28E e 28G). Houve aumento no acúmulo de massa seca das raízes de acordo com aumento das doses de *B. subtilis* via solução nutritiva (Figura 28B). O maior acúmulo de massa seca nas raízes foi verificado nas doses de 32, 27 e 24 mL de *B. subtilis* com acúmulo de 1, 1,5 e 1,7 g de massa seca nas raízes da alface americana aos 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 28D, 28F e 28H).

Figura 28 – Massa seca da parte aérea aos 10 dias após o plantio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa seca das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre a produtividade de folhas frescas e número de folhas por planta aos 31 DAT (Tabela 22).

Tabela 22 – Análise de variância dos valores de F calculado para a produtividade de folhas e número de folhas por planta aos 31 dias após o plantio (DAT).

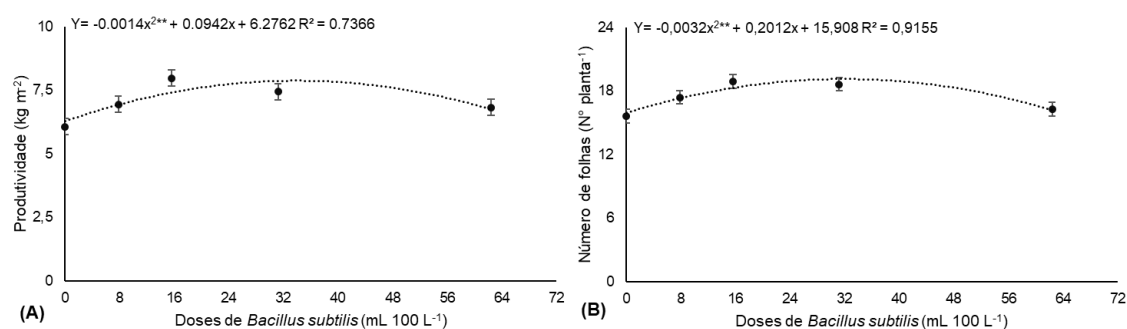
F.V.	Produtividade	Nº de folhas
	31 DAT	
Bloco	0,31ns	0,66ns
Doses	22,19**	7,10**
CV (%)	4,30	6,17
Linear	2,39ns	0,03ns
Quadrática	62,98**	25,97**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A maior produtividade de plantas de alface fresca na colheita foi obtida na dose de 33 mL, com produtividade de 7,9 kg m⁻² (Figura 29A), enquanto o maior número de folhas por planta foi observado na dose de *B. subtilis* calculada de 31 mL, com aproximadamente 19 folhas no momento da colheita (Figura 29B).

Figura 29 – Produtividade de massa fresca (A) e o número de folhas (B) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre índice de clorofila foliar (ICF) aos 17 e 24 DAT, e efeito não significativo ($p > 0,05$) sobre o índice de clorofila foliar aos 10 e 31 DAT (Tabela 23).

Tabela 23 – Análise de variância dos valores de F calculado para o índice de clorofila foliar da alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após plantio (DAT).

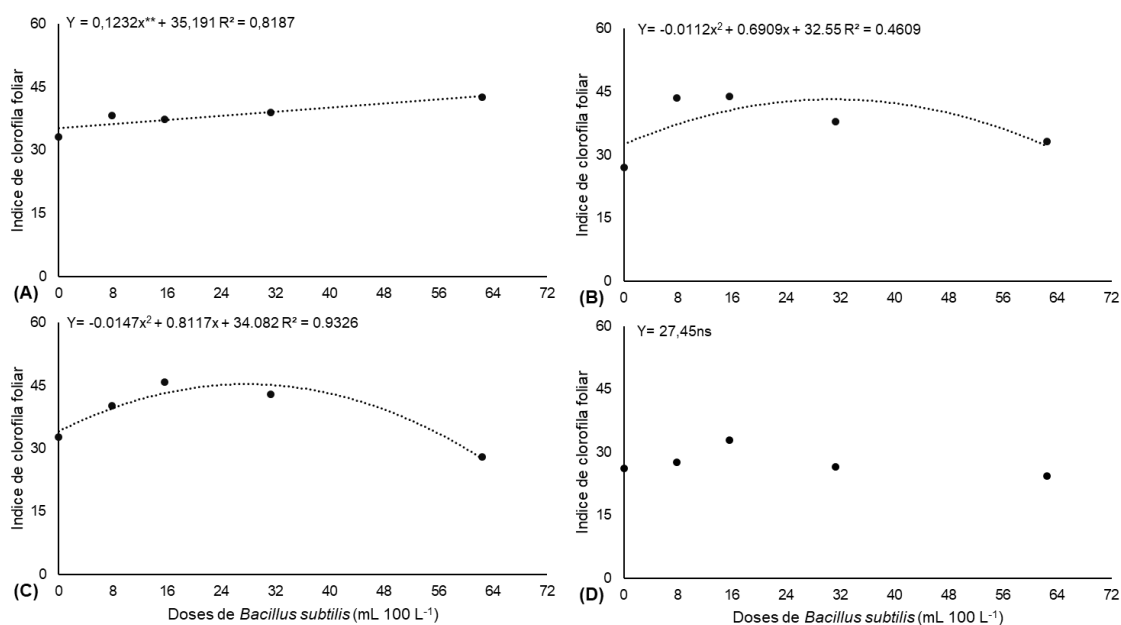
F.V.	Índice de clorofila foliar			
	10 DAT	17 DAT	24 DAT	31 DAT
Bloco	1,57ns	1,02ns	0,65ns	0,92ns
Doses	2,98ns	15,61**	10,66**	0,69ns
CV (%)	10,22	10,01	12,40	24,70
Linear	9,76**	1,04ns	6,80*	0,16ns
Quadrática	0,36ns	17,69**	34,59**	0,50ns

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve aumento do índice de clorofila foliar com o aumento das doses de *B. subtilis* via solução nutritiva aos 10 DAT (Figura 30A). O índice de clorofila foliar máximo de 43 e 45 foi obtido nas doses de 30 e 27 mL de *B. subtilis* 100 L⁻¹ aos 17 e 24 DAT, respectivamente (Figuras 30B e 30C). Porém, não foi observado efeito significativo das doses de *B. subtilis* sob o índice de clorofila foliar aos 31 DAT da alface americana em sistema hidropônico (Figuras 30D).

Figura 30 – Índice de clorofila foliar aos 10 dias após o plantio - DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.2 Efeito das doses de *B. subtilis* sobre o acúmulo de nutrientes na parte aérea

Observou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre o acúmulo de P na parte aérea nas quatro épocas de avaliações, e acúmulo de N na parte aérea aos 10 e 17 DAT, e significativo ($p \leq 0,05$) aos 24 e 31 DAT (Tabela 24).

Tabela 24 – Análise de variância dos valores de F calculado para o acúmulo de N e de P na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplantio - DAT.

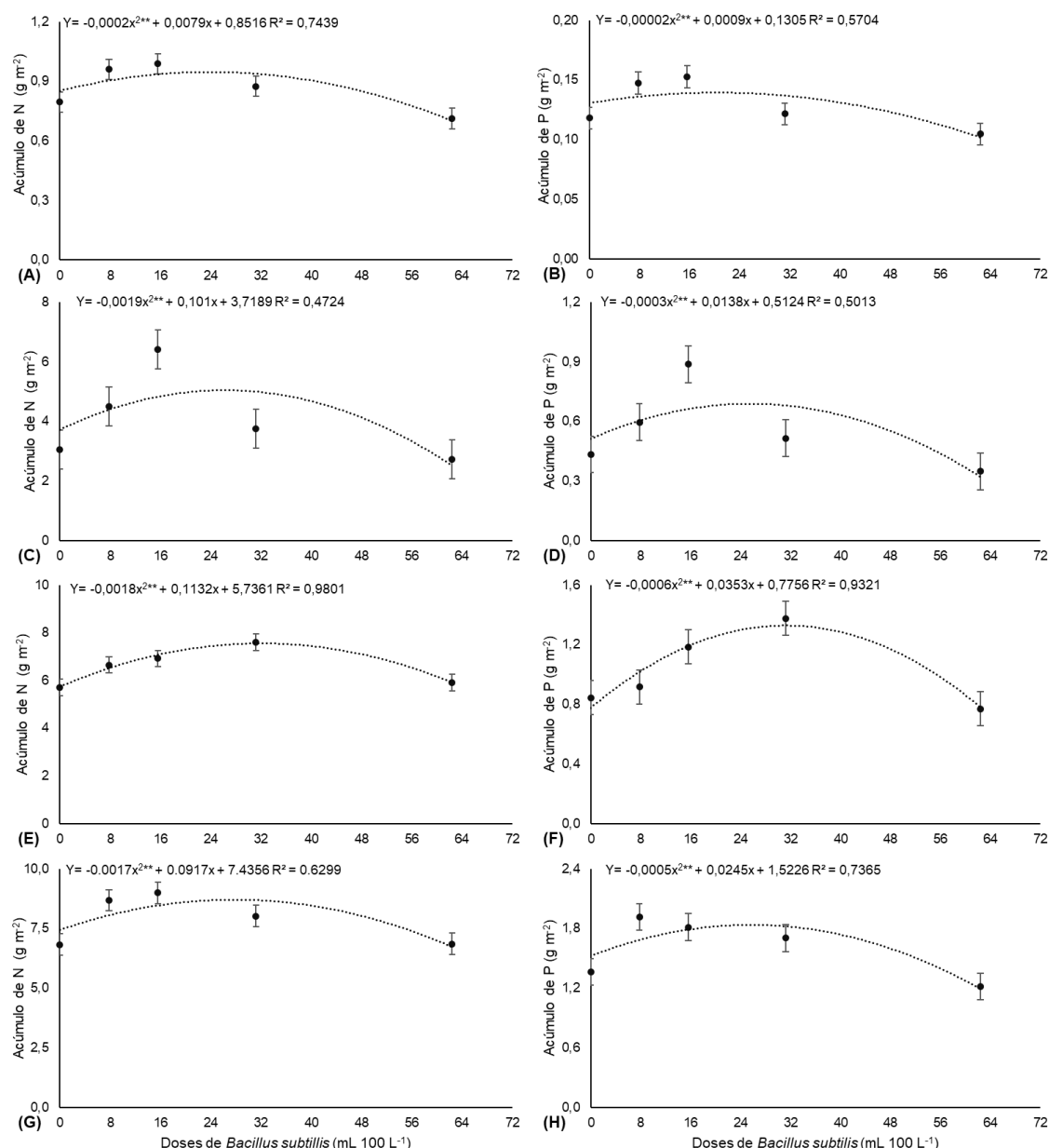
F.V.	N	P	N	P	N	P	N	P
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	2,58ns	1,64ns	0,48ns	0,53ns	0,86ns	1,33ns	1,36ns	0,92ns
Doses	16,38**	19,39**	7,31**	8,23**	3,43*	22,83**	3,34*	7,12**
CV (%)	6,53	7,21	26,53	25,96	17,80	10,21	14,03	14,05
Linear	22,99**	28,56**	4,39ns	6,04*	0,02ns	1,11ns	1,72ns	7,52*
Quadrática	25,75**	15,64**	9,42**	10,47**	8,64**	82,10**	6,69*	13,44**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O maior acúmulo de nitrogênio (N) na parte aérea da alface foi obtido na dose de *B. subtilis* de 20, 26, 31 e 27 mL 100 L⁻¹ com acúmulo máximo de 0,9; 5,1; 7,5 e 8,7 g m⁻² aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 31A, 31C, 31E e 31G). A inoculação com *B. subtilis* nas doses de 22, 23, 29 e 24 mL propiciaram o maior acúmulo de fósforo (P) na parte aérea das plantas de alface americana, com acúmulo de 0,14; 0,67; 1,29 e 1,82 g m⁻² aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 31B, 31D, 31F e 31H).

Figura 31 – Acúmulo de nitrogênio na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de fósforo na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.

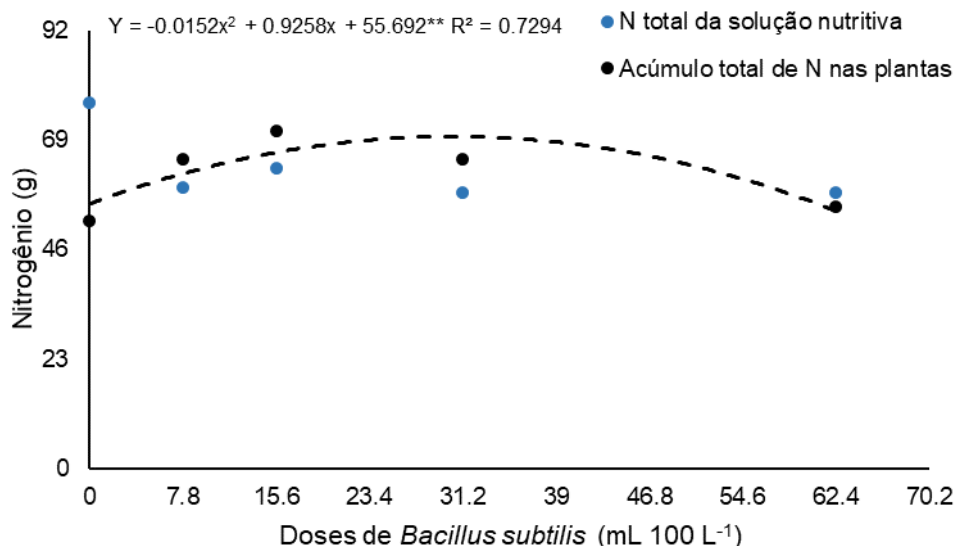


Fonte: Elaborado pelo autor.

O fornecimento de N na solução nutritiva no tratamento controle foi a maior em relação ao realizar a inoculação com *B. subtilis*, nas doses de 7,8, 15,6 e 31,2 mL o acúmulo de N total das plantas de alface foi maior que a

quantidade de N fornecido via solução nutritiva, com a da inoculação, ocorreu a fixação biológica de nitrogênio atmosférico (Figura 32), o que explica tais resultados.

Figura 32– Acúmulo de nitrogênio total nas plantas de alface americana (cultivar Angelina) em toda bancada de cultivo hidropônico e o fornecimento total de nitrogênio via solução nutritiva em todo período de cultivo em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre os acúmulos de K e S na parte aérea aos 10, 17 e 31 DAT, e de K ao 24 DAT, porém, não foi significativo ($p > 0,05$) sobre o acúmulo de S na parte aérea aos 24 DAT (Tabela 25).

Tabela 25 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de K e de S na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

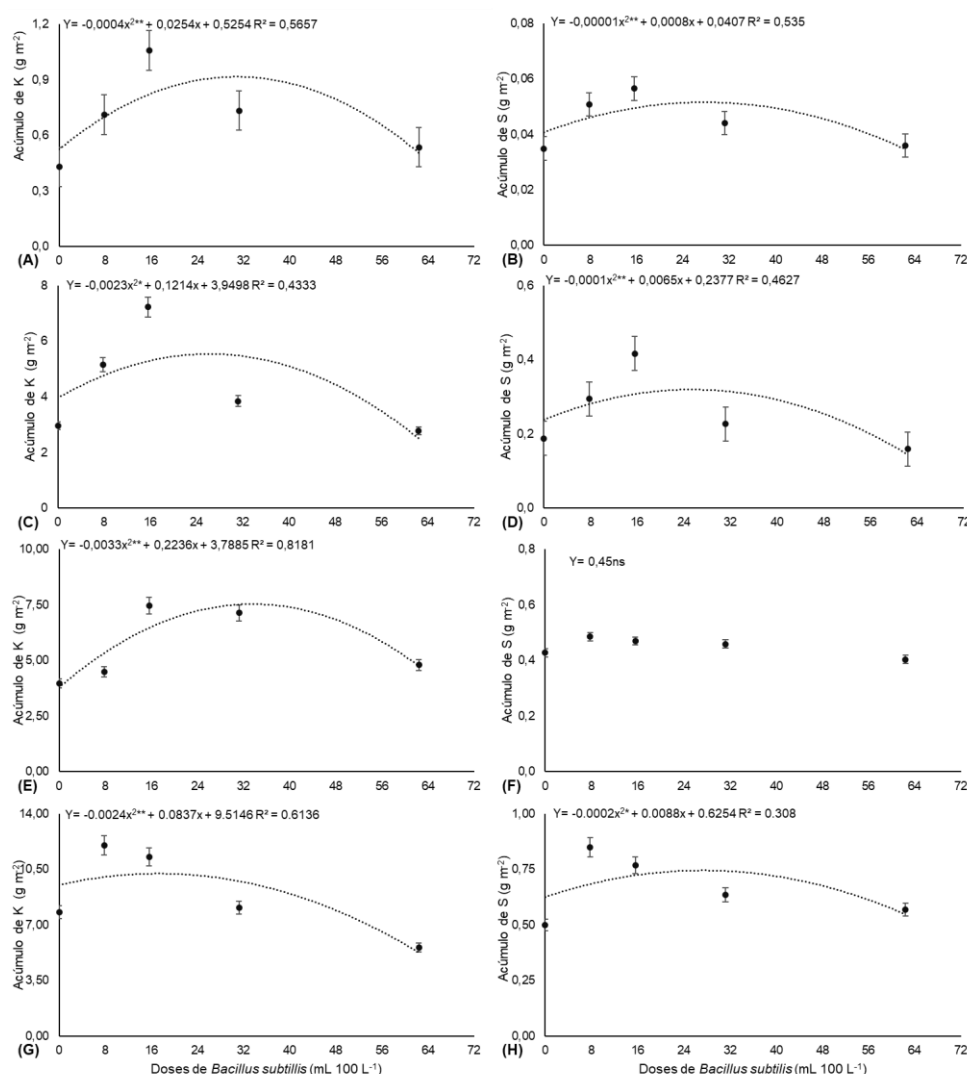
F.V.	K	S	K	S	K	S	K	S
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,23ns	1,34ns	0,60ns	0,80ns	0,32ns	0,26ns	1,70ns	2,02ns
Doses	94,96**	37,91**	6,92**	14,57**	9,31**	1,09ns	8,18**	12,46**
CV (%)	8,38	6,82	31,86	20,94	20,42	14,04	20,74	12,22
Linear	0,90ns	16,60**	3,81ns	10,23**	1,20ns	1,52ns	14,97**	3,62ns
Quadrática	83,64**	64,91**	8,18**	16,73**	24,82**	1,80ns	5,12*	11,72**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O maior acúmulo de K foi observado nas doses de 31, 26, 33 e 17 mL de *B. subtilis* com acúmulo de 1,86; 5,55; 7,58 e 10,24 g m⁻² aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 33A, 33C, 33E e 33G). Não foi verificado efeito significativo das doses de *B. subtilis* sobre o acúmulo de enxofre (S) aos 24 DAT (Figura 33F), o maior acúmulo de S aos 10, 17 e 31 DAT com acúmulo de 0,06; 0,34 e 0,72g m⁻² nas doses de 40, 32 e 22 mL de *B. subtilis* (Figuras 33B, 33D e 33H).

Figura 33 – Acúmulo de potássio na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de enxofre na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Observou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre os acúmulos de Ca e Mg na parte aérea aos 10, 17 e 31 DAT, e de Mg aos 24 DAT; também, houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre o acúmulo de Ca aos 24 DAT (Tabela 26).

Tabela 26 – Análise de variância dos valores de F calculado para o acúmulo de Ca e de Mg na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

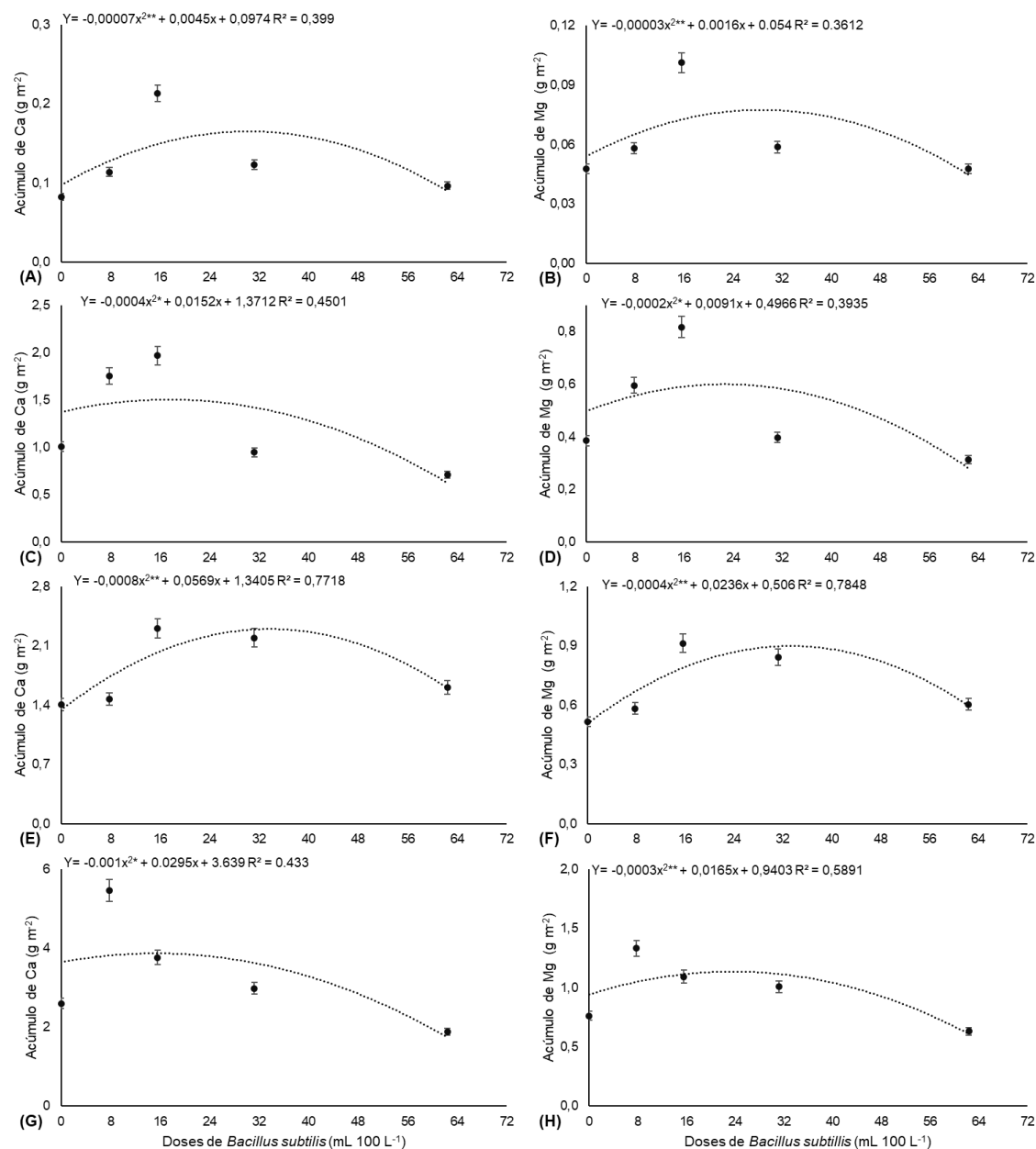
F.V.	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,57ns	0,60ns	0,57ns	0,56ns	0,58ns	0,59ns	1,99ns	0,97ns
Doses	58,46**	34,90**	7,35**	8,62**	4,96*	7,87**	8,49**	7,58**
CV (%)	11,24	11,99	31,68	27,81	21,04	18,19	28,09	20,74
Linear	5,65*	7,11**	9,78**	7,38*	0,43ns	0,22ns	11,57**	8,74*
Quadrática	54,99**	43,32**	4,45*	6,20*	14,88**	24,62**	4,14*	9,11**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A dose calculada que proporcionou maior acúmulo de cálcio (Ca) na parte aérea da alface foi de 32, 19, 35 e 15 mL de *B. subtilis*, com acúmulo de 0,17; 1,52; 2,5 e 3,86g m⁻² aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 34A, 34C, 34E e 34G). O maior acúmulo de Mg na parte aérea de alface americana foi de 0,08; 0,60; 0,85 e 1,17g m⁻² nas doses de 26, 23, 29 e 28 mL de *B. subtilis* aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 34B, 34D, 34F e 34H).

Figura 34 – Acúmulo de cálcio na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de magnésio na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre os acúmulos de B e Cu na parte aérea aos 10 DAT, e de Cu aos 31 DAT; ainda, observou-se efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre o acúmulo de B aos 17, 24 e 31

DAT, porém houve efeito não significativo ($p>0,05$) para acúmulo de Cu aos 17 DAT (Tabela 27).

Tabela 27 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B e de Cu na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

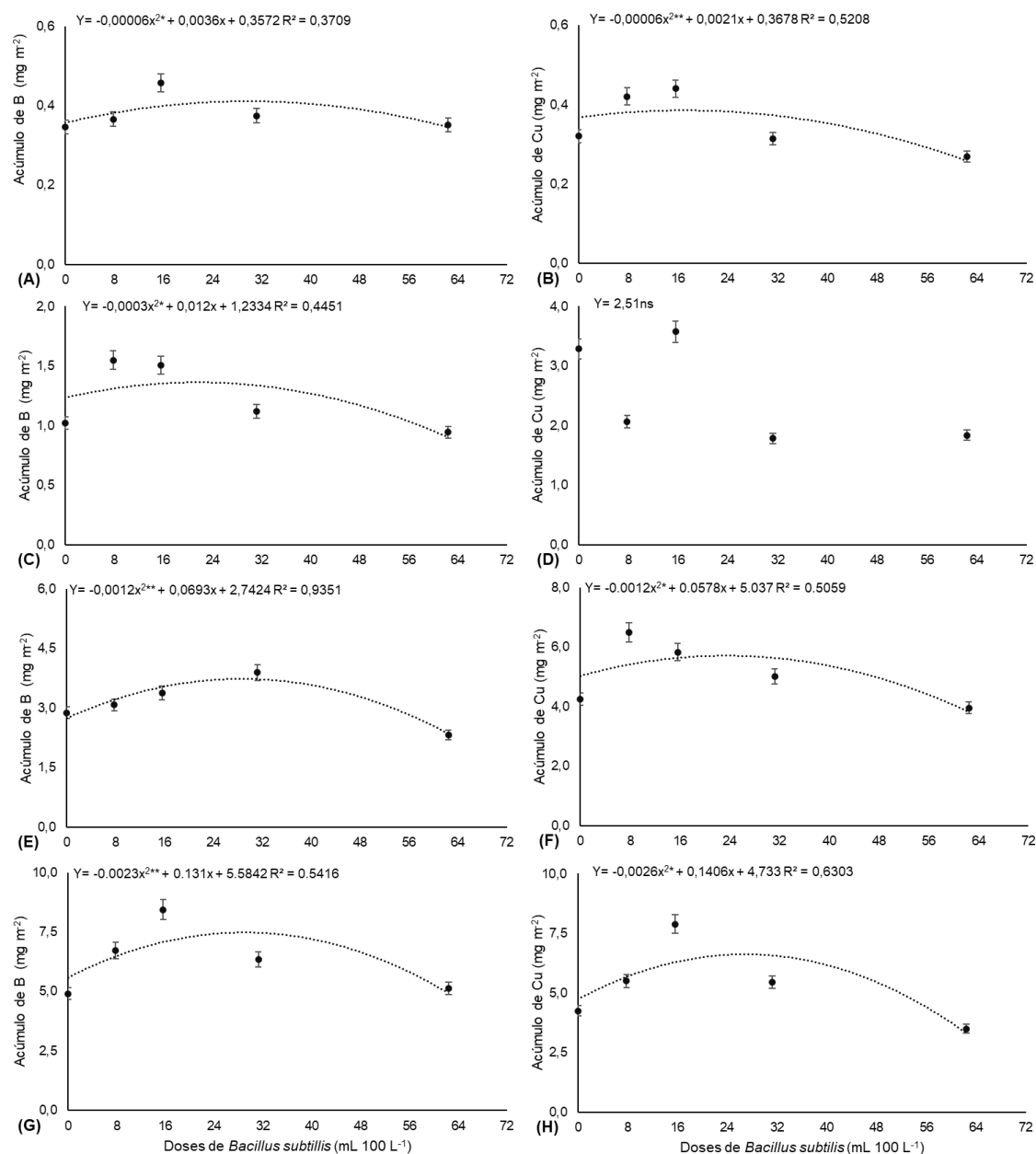
F.V.	B	Cu	B	Cu	B	Cu	B	Cu
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,43ns	1,14ns	0,78ns	0,75ns	0,77ns	3,16ns	0,51ns	1,04ns
Doses	5,99**	20,81**	5,40*	1,28ns	4,07*	3,42*	5,24*	7,43**
CV (%)	11,21	10,28	19,74	60,08	21,40	34,94	19,66	15,32
Linear	0,01ns	2,37ns	5,71*	1,90ns	0,55ns	2,18ns	1,39ns	7,57*
Quadrática	6,79*	30,89**	4,90*	0,11ns	11,05**	5,93*	9,97**	7,46*

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O maior acúmulo de boro (B) na parte aérea das plantas de alface foi observado nas doses de 30, 20, 28 e 28 mL de *B. subtilis* na solução nutritiva, com os acúmulos de 0,41; 1,35; 3,74 e 7,45 mg m⁻², respectivamente (Figuras 35A, 35C, 35E e 35G). Não houve efeito significativo sobre o acúmulo de cobre (Cu) aos 17 DAT (Figura 35D). O maior acúmulo de Cu foi verificado na dose de *B. subtilis* de 17, 24 e 27 mL com acúmulo de 0,4; 5,7 e 6,6 mg m⁻² de massa seca de alface aos 10, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 35B, 35F e 35H).

Figura 35 – Acúmulo de boro na parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de cobre na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Reportou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre o acúmulo de Zn na parte aérea nas quatro épocas de avaliações, e de Fe aos 17 e 24 DAT; também, houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre o acúmulo de Fe aos 10 e 31 DAT (Tabela 28).

Tabela 28 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acumulo de Fe e de Zn na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

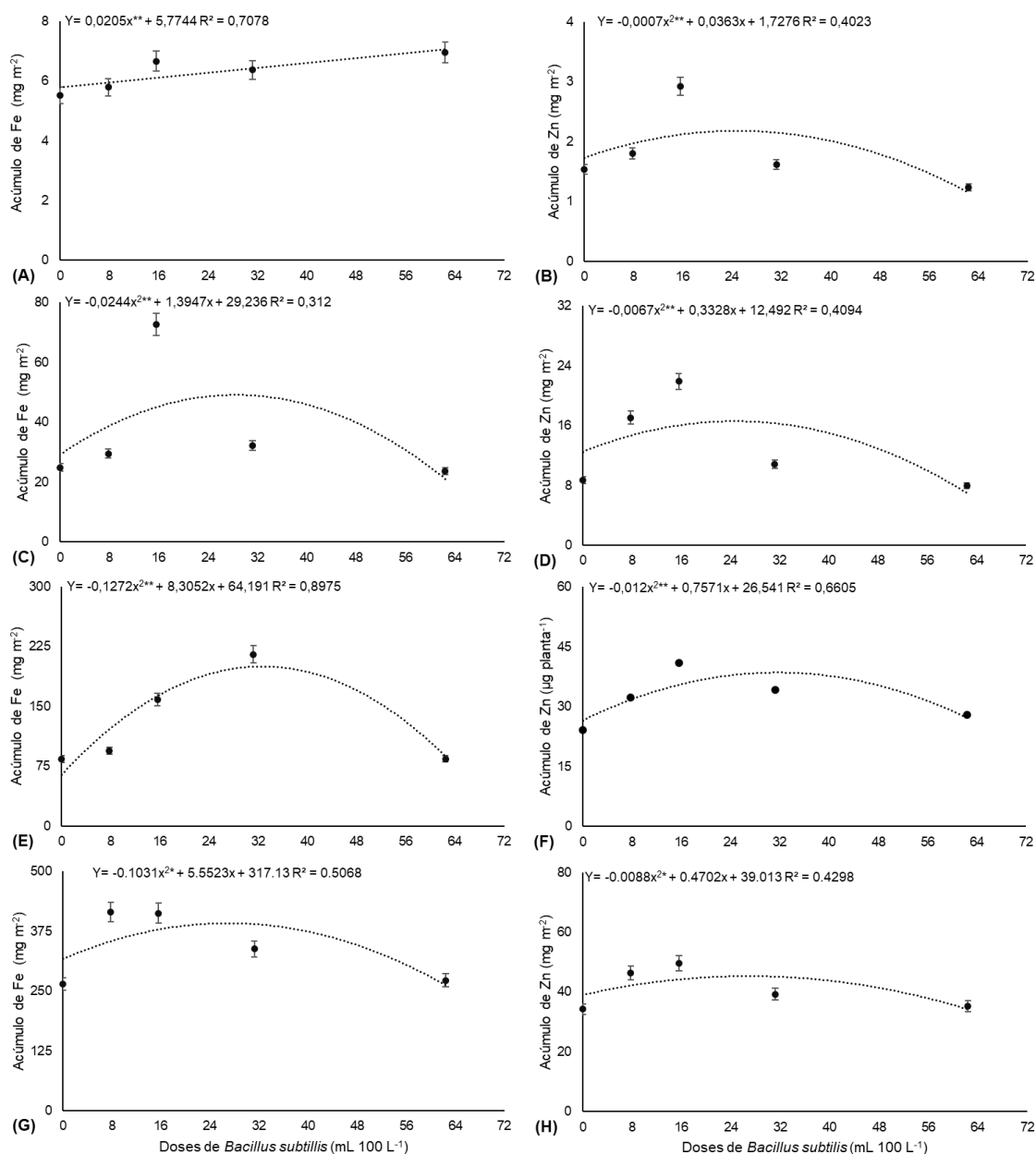
F.V.	Fe	Zn	Fe	Zn	Fe	Zn	Fe	Zn
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,49ns	1,55ns	0,83ns	0,75ns	1,27ns	0,31ns	0,56ns	0,54ns
Doses	4,31*	107,66**	9,24**	14,54**	8,19**	8,64**	5,02*	5,59**
CV (%)	14,04	6,87	36,80	23,66	34,83	14,03	19,11	14,00
Linear	9,62**	71,37**	1,70ns	10,09**	0,33ns	0,01ns	2,69ns	2,62ns
Quadrática	0,80ns	101,89**	9,83**	13,71**	26,57**	27,57**	7,49*	6,98*

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com o aumento das doses de *B. subtilis* fornecidas na solução nutritiva houve o aumento do acúmulo de ferro (Fe) na parte aérea das plantas de alface americana (Figura 36A). As doses de *B. subtilis* de 28, 32 e 27 mL proporcionaram o acúmulo de 49, 199 e 391 mg m⁻² de Fe aos 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 36C, 36E e 36G). O acúmulo de zinco (Zn) na parte aérea foi de 2,2; 16,6; 38,5 e 45,3 mg m⁻² nas doses de 26, 25, 31 e 26 mL 100 L⁻¹ de solução nutritiva aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 36B, 36D, 36F e 36H).

Figura 36 – Acúmulo de ferro na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de zinco na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre o acúmulo de Mn na parte aérea aos 10, 17 e 24 DAT, e se observou, também, efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre o acúmulo de Mn aos 31 DAT (Tabela 29).

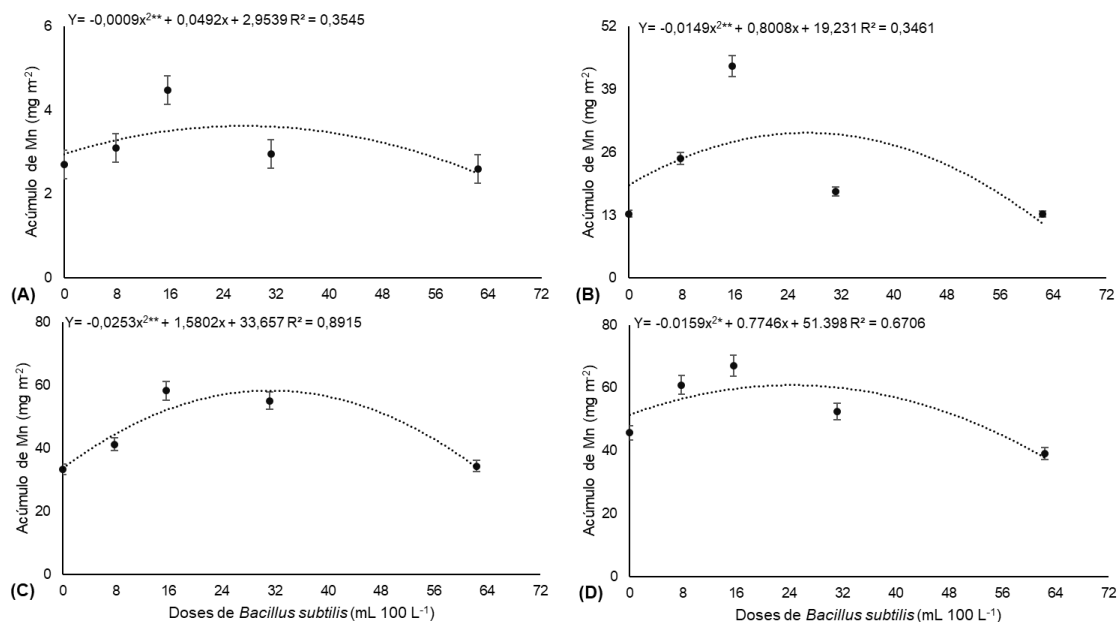
Tabela 29 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acumulação de Mn na parte aérea das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

F.V.	Acúmulo de Mn na parte aérea			
	10 DAT	17 DAT	24 DAT	31 DAT
Bloco	3,34ns	0,78ns	0,16ns	0,25ns
Doses	52,55**	21,33**	11,20**	3,70*
CV (%)	6,61	24,49	15,59	22,04
Linear	18,58**	7,89*	0,41ns	4,40ns
Quadrática	55,92**	21,64**	39,53**	5,51*

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Aos 10, 17, 24 e 31 DAT o acúmulo de manganês (Mn) foi de 3,6; 30; 58 e 61 mg m⁻² de massa seca da parte aérea nas doses de 27, 27, 31 e 24 mL de *B. subtilis* na solução nutritiva, respectivamente (Figuras 37A, 37B, 37C e 37D). Figura 37 – Acúmulo de manganês na parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.3 Efeito das doses de *B. subtilis* sobre o acúmulo de nutrientes nas raízes

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre os acúmulos de N, P, K, S, Ca e Mg nas raízes de alface aos 31 DAT (Tabela 30). Tabela 30 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N, de P, de K, de S, de Ca e de Mg nas raízes das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 31 dias após transplântio (DAT).

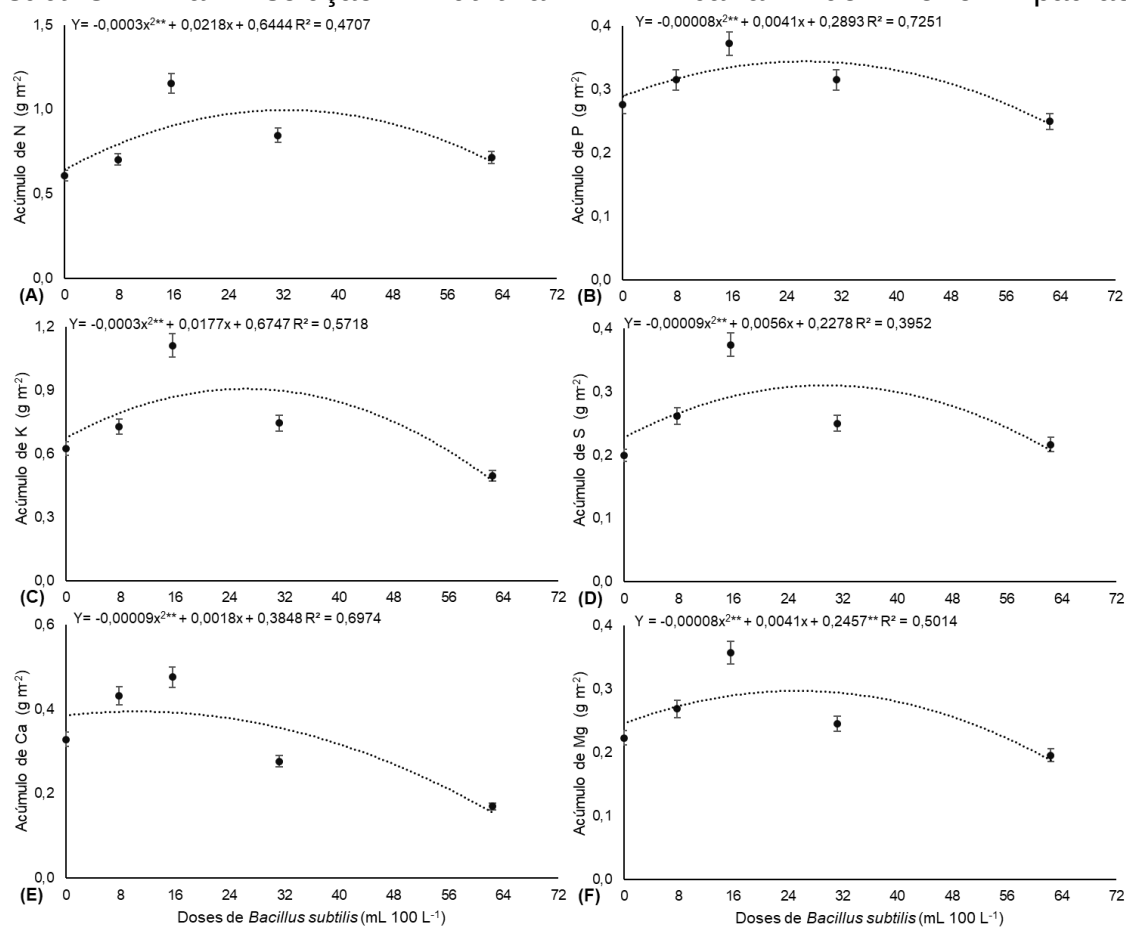
F.V.	N	P	K	S	Ca	Mg
	31 DAT					
Bloco	0,35ns	1,59ns	0,86ns	0,62ns	0,40ns	3,26ns
Doses	86,09**	20,61**	52,91**	34,64**	84,00**	36,60**
CV (%)	5,67	6,84	8,50	8,94	7,92	7,87
Linear	0,001ns	15,66**	38,01**	5,02*	202,32**	28,74**
Quadrática	160,34**	44,39**	83,79**	47,45**	31,38**	46,86**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O acúmulo de N nas raízes das plantas de alface foi de 1,04 g m⁻² com a dose de 36 mL de *B. subtilis* aos 31 DAT (Figura 38A). Já o acúmulo de P nas raízes das plantas de alface foi de 0,34 g m⁻² na dose de 25 mL de *B. subtilis* (Figura 38B). A dose de 29 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis* proporcionou maior acúmulo de K nas raízes, cujo acúmulo foi de 0,94 g m⁻² de K (Figura 38C). O maior acúmulo de S nas raízes foi verificado na dose de 31 mL de *B. subtilis* com acúmulo de 0,3 g m⁻² de S (Figura 38D). Quanto ao acúmulo de Ca nas raízes das plantas de alface americana, este foi de 0,4 g m⁻² na dose de 16 mL de *B. subtilis* no momento da colheita (Figura 38E). com relação ao maior acúmulo de Mg, este foi observado na dose de 31 mL de *B. subtilis* com acúmulo de 0,3 g m⁻² de Mg nas raízes de alface (Figura 38 F).

Figura 38 – Acúmulo de nitrogênio nas raízes (A), fósforo (B), potássio (C), enxofre(D), cálcio (E) e magnésio (F) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre os acúmulos de B, Cu, Fe, Mn e Zn nas raízes aos 31 DAT (Tabela 31).

Tabela 31 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B, de Cu, de Fe, de Mn e de Zn nas raízes das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 31 dias após o transplântio (DAT).

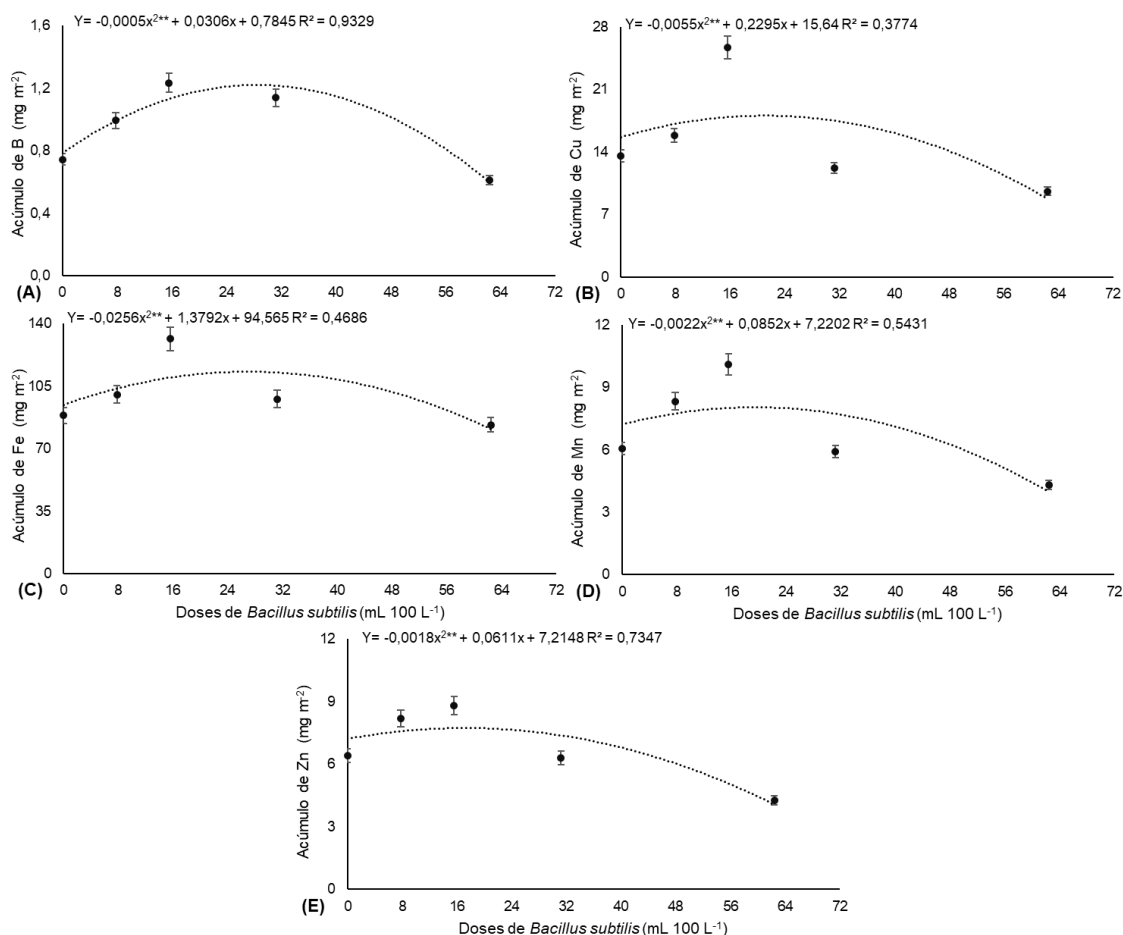
F.V.	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	31 DAT				
Bloco	0,85ns	1,09ns	0,40ns	2,31ns	0,81ns
Doses	96,29**	105,55**	42,66**	50,93**	40,75**
CV (%)	5,65	7,85	5,73	9,17	8,26
Linear	54,95**	98,46**	20,99**	75,28**	89,58**
Quadrática	304,35**	60,84**	58,98**	35,36**	30,17**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O acúmulo de B foi maior na dose calculada de 30 mL de *B. subtilis*, proporcionando acúmulo de 1,3 mg m⁻² de B nas raízes das plantas de alface americana (Figura 39A). A dose calculada de maior acúmulo de Cu nas raízes de alface foi de 21 mL com acúmulo de 18 mg m⁻² de Cu no momento da colheita (Figura 39B). Já o maior acúmulo de Fe nas raízes das plantas de alface foi de 113 mg m⁻² na dose calculada de 27 mL de *B. subtilis* (Figura 39C). Com relação ao acúmulo de Mn, este foi maior na dose de 19 mL de *B. subtilis* com acúmulo de 8 mg m⁻² nas raízes das plantas de alface americana (Figura 39D). Para o Zn, foi observado um acúmulo nas raízes das plantas de 7 mg m⁻² na dose de 17 mL de *B. subtilis* (Figura 39E).

Figura 39 – Acúmulo de boro nas raízes (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e zinco (E) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.4 Efeito das doses de *B. subtilis* sobre as trocas gasosas e clorofila foliar

Notou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre a concentração de clorofila a, clorofila b, clorofila total e carotenóides foliar aos 31 DAT (Tabela 32).

Tabela 32 – Análise de variância dos valores de F calculado para a concentração de clorofila a (Clo a), de clorofila b (Clo b), de clorofila total (Clo t) e de carotenóides (Car) nas folhas das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 31 dias após o transplântio (DAT).

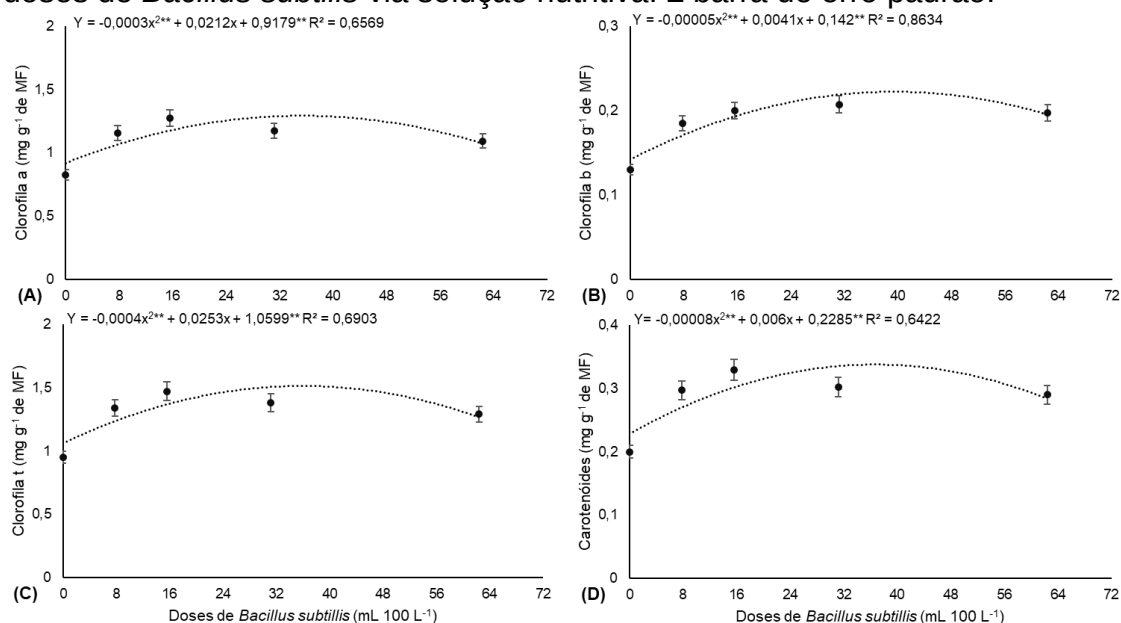
F.V.	Clo a	Clo b	Clo t	CAR
	31 DAT			
Bloco	0,87ns	2,42ns	1,02ns	0,31ns
Doses	50,75**	28,42**	53,69**	25,44**
CV (%)	4,32	6,37	4,22	6,89
Linear	15,18**	40,16**	22,95**	13,53**
Quadrática	118,17**	57,99**	125,29**	51,83**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As doses de 36, 40, 37 e 39 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis* proporcionaram maior concentração de clorofila a (1,35 mg g⁻¹ MF), clorofila b (0,22 mg g⁻¹ MF), clorofila total (1,54 mg g⁻¹ MF) e carotenóides (0,35 mg g⁻¹ MF), respectivamente (Figura 40A, 40B, 40C e 40D).

Figura 40 – Concentração foliar de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) aos 31 dias após o transplântio das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Observou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre a concentração interna de carbono, condutância estomática, transpiração e taxa de fotossíntese líquida foliar na alface aos 17 e 31 DAT (Tabela 33).

Tabela 33 – Análise de variância dos valores de F calculado para concentração interna de carbono (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A) nas folhas das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 17 e 31 dias após o transplântio -DAT.

F.V.	Ci	gs	A	E	Ci	gs	A	E
	17 DAT				31 DAT			
Bloco	1,87ns	0,69ns	1,51ns	0,74ns	1,54ns	1,38ns	0,13ns	1,92ns
Doses	24,42**	4,96**	26,07**	5,28**	90,56**	22,80**	39,63**	12,25**
CV (%)	2,28	8,87	6,90	7,79	2,31	6,55	7,65	3,98
Linear	30,02**	4,95*	78,46**	5,20*	15,64**	1,45ns	40,85ns	4,91*
Quadrática	11,63**	1,58ns	15,64**	1,96ns	334,36**	81,22**	114,62**	29,98**

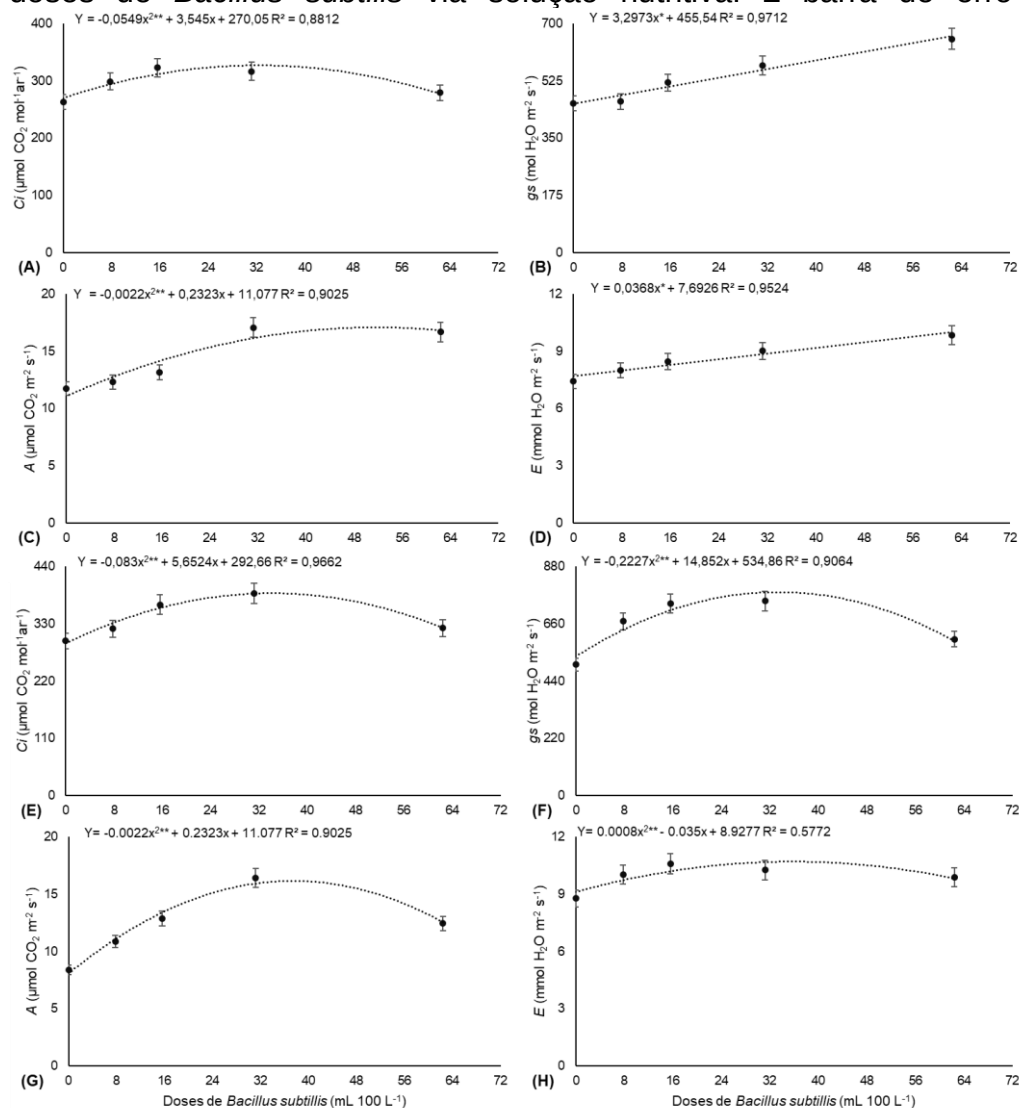
ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A dose de 18 mL e 34 mL de *B. subtilis* proporcionou maior concentração subestomática de gás carbônico (Ci), i com Ci de 303 e 388 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}^{-1}$ nas folhas de alface aos 17 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 41A e 41E). Foi observado aumento da condutância estomática (gs) conforme

o aumento das doses de *B. subtilis* aos 17 DAT e até a dose estimada de 35 mL de *B. subtilis* com calculado gs de $782 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Figuras 41B e 41F). A dose estimada de *B. subtilis* que proporcionou maior taxa de fotossíntese líquida (A) foi de 52 mL e 35 mL com A de 17 e $15,4 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ aos 17 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 41C e 41G). Também, houve um aumento da taxa de transpiração foliar (E) com o incremento das doses de *B. subtilis* aos 17 DAT, e até a dose estimada de 43 mL de *B. subtilis* com E máximo calculado de $11 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ aos 31 DAT (Figuras 41D e 41H).

Figura 41 – Resultado da análise de trocas gasosas foliares na concentração subestomática de gás carbônico (Ci) aos 17 dias após o transplântio - DAT (A) e aos 31 DAT (E), condutância estomática (gs) aos 17 DAT (B) e aos 31 DAT (F), taxa de fotossíntese líquida (A) aos 17 DAT (C) e aos 31 DAT (G), transpiração (E) aos 17 DAT (D) e aos 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre a eficiência do uso da água aos 17 e 31 DAT e, também sobre o conteúdo relativo de água e integridade de membranas foliares aos 31 DAT (Tabela 34).

Tabela 34 – Análise de variância dos valores de F calculado para eficiência do uso da água (EUA) nas folhas das plantas de alface aos 17 e 31 DAT e para o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas (IIM) nas folhas das plantas de alface americana (cultivar Angelina), aos 31 dias após a transplântio - DAT.

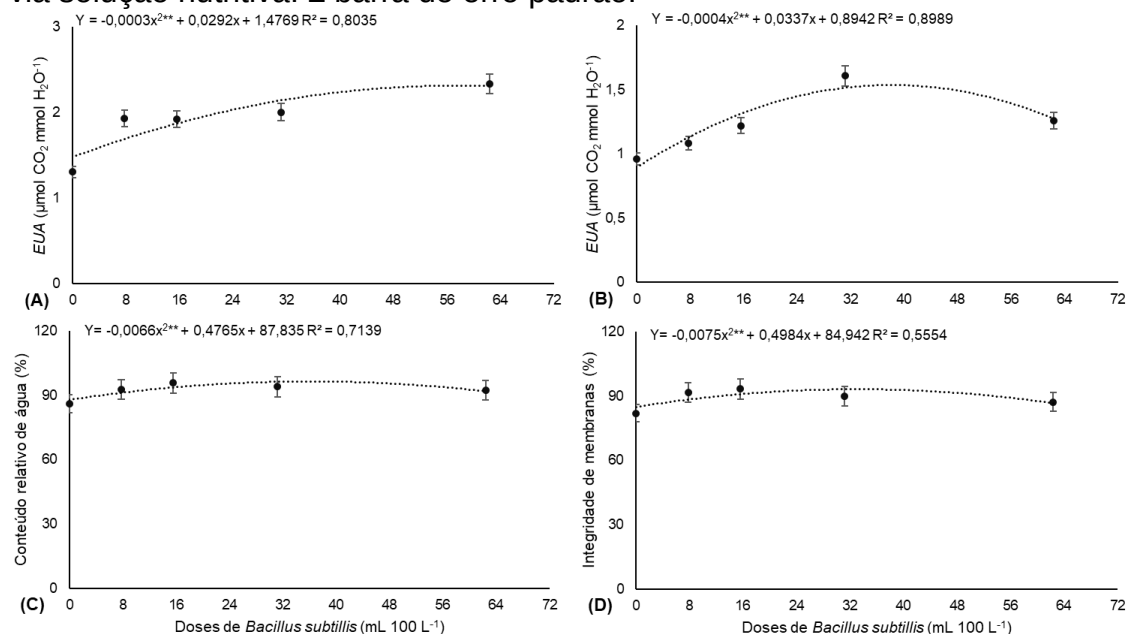
F.V.	EUA	EUA	CRA	IIM
	17 DAT	31 DAT		
Bloco	1,05ns	0,49ns	0,19ns	0,28ns
Doses	10,19**	17,07**	6,60**	40,44**
CV (%)	13,27	9,62	3,12	1,56
Linear	19,99**	19,20**	3,09ns	0,84ns
Quadrática	6,08**	42,16**	15,74**	89,01**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se aumento da eficiência do uso da água (EUA) até a dose estimada de 52 e 39 mL de *B. subtilis* com EUA calculado de 2,12 e 1,54 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$ aos 17 e 31 DAT (Figuras 42A e 42B). A dose de *B. subtilis* que proporcionou maior conteúdo relativo de água (CRA) das folhas de alface foi de 36 mL, com CRA calculado de 96% (Figura 42C). Já o maior índice de integridade de membranas celulares (IIM) das folhas de alface americana foi de 93% na dose calculada de 33 mL de *B. subtilis* via solução nutritiva (Figura 42D).

Figura 42 – Resultado da eficiência do uso da água (*EUA*) aos 17 dias após o transplântio - DAT (A) e aos 31 DAT (B), e do estado hídrico das plantas no conteúdo relativo de água das folhas (C) e o índice de integridade de membranas celulares das folhas (D) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor

4.3.5 Efeito das doses de *B. subtilis* sobre a atividade da enzima nitrato redutase e do acúmulo de nitrato

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *B. subtilis* sobre o acúmulo de nitrato e amônio na parte aérea e raízes, concentração de aminoácido e carboidratos totais e na atividade da enzima nitrato redutase aos 31 DAT (Tabela 35).

Tabela 35 – Análise de variância dos valores de F calculado o acúmulo de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) na parte aérea e nas raízes, concentração de aminoácidos totais (AT), carboidratos totais (CT) e na atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas das plantas de alface americana (cultivar Angelina) aos 31 dias após o transplântio (DAT).

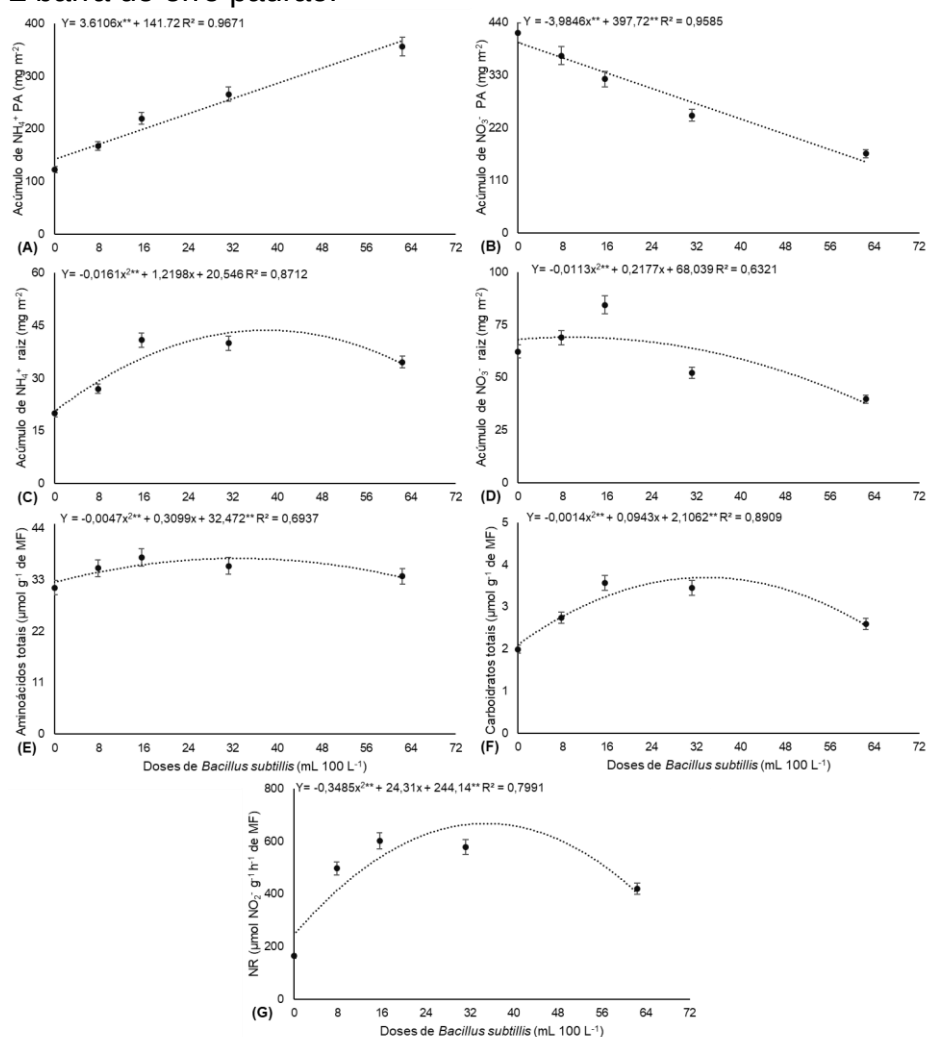
F.V.	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+	TAA	TC	NR
	Parte aérea		Raízes		Foliar		
Bloco	2,19ns	0,93ns	0,22ns	1,51ns	0,12ns	1,27ns	3,18ns
Doses	12,65**	87,02**	54,67**	118,08**	6,91**	38,49**	213,11**
CV (%)	18,54	8,58	7,46	5,05	9,54	7,95	5,36
Linear	48,51**	336,62**	120,09**	126,23**	0,30ns	12,93**	70,64**
Quadrática	2,09ns	3,17ns	18,12**	285,26**	10,61**	131,90**	634,62**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O acúmulo de amônio (NH_4^+) na parte aérea das plantas de alface aumentou conforme o aumento das doses de *B. subtilis* via solução nutritiva (Figura 43A). Por outro lado, o acúmulo de nitrato (NO_3^-) na parte aérea das plantas de alface americana foi menor conforme o incremento das doses de *B. subtilis* via solução nutritiva (Figura 43B). A dose de *B. subtilis* que proporcionou maior acúmulo de NH_4^+ nas raízes da alface americana foi de 38 mL, com acúmulo de 93 mg m^{-2} (Figura 43C); já o maior acúmulo de NO_3^- nas raízes foi de 69 mg m^{-2} na dose de 16 mL de *B. subtilis* via solução nutritiva (Figura 43D).

Figura 43 – Acúmulo de amônio na parte aérea (A), nas raízes (C), acúmulo de nitrato na parte aérea (B), nas raízes (D), concentração de aminoácidos totais (E), carboidratos totais (F) e atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas (G) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.6 Análise econômica

O tratamento sem inoculação com *B. subtilis* teve o menor custo operacional total (COT) de R\$ 19,91 e o COT aumentou conforme o incremento da dose de *B. subtilis* na solução nutritiva, porém a lucratividade foi maior (R\$ 20,52 m⁻²) ao utilizar 15,6 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis* na solução nutritiva e ainda pelo baixo uso do hidróxido de sódio teve terceiro menor COT (R\$ 21,43). Por outro lado, sem a inoculação teve-se lucratividade de R\$ 11,04 m⁻²; enquanto ao se realizar inoculação com as doses de 31,2 e 62,4 mL de *B. subtilis* propiciaram as lucratividades de R\$ 17,08 e 12,84 m⁻² respectivamente, pela menor produtividade em relação a dose de 15,6 mL (Tabela 36).

Tabela 36 - Custo operacional total (COT, R\$ m⁻²) e rentabilidade (R\$ m⁻²) modelo de estrutura de alface americana em hidroponia sob o tratamento controle (0 mL 100 L⁻¹ solução nutritiva), e as doses de *Bacillus subtilis* via solução nutritiva.

Tratamento		0 mL 100 L ⁻¹ de <i>B. subtilis</i>			7,8 mL 100 L ⁻¹ de <i>B. subtilis</i>			15,6 mL 100 L ⁻¹ de <i>B. subtilis</i>			31,2 mL 100 L ⁻¹ de <i>B. subtilis</i>			62,4 mL 100 L ⁻¹ de <i>B. subtilis</i>		
Descrição	Uni.	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)
A. Operações																
Mão-de-obra	hr	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94
Irrigação (energia elétrica)	kw h ⁻¹	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69
Consumo de água	L	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13
Subtotal A.	R\$			14,76			14,76			14,76			14,76			14,76
B. Insumos hidroponia																
Inoculante	L	0	80,00	0,00	0,023	80,00	0,26	0,0468	80,00	0,52	0,0936	80,00	1,04	0,1872	80,00	2,08
Inseticida (Evidence)	kg	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08
Mudas	muda	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95
Hidrogood Fert	kg	0,513	7,00	0,50	0,545	7,00	0,53	0,544	7,00	0,53	0,576	7,00	0,56	0,445	7,00	0,43
Ferro EDDHA 6%	kg	0,023	70,00	0,23	0,025	70,00	0,24	0,025	70,00	0,24	0,0265	70,00	0,26	0,021	70,00	0,20
Nitrato de Cálcio	kg	0,258	2,20	0,08	0,274	2,20	0,08	0,274	2,20	0,08	0,29	2,20	0,09	0,223	2,20	0,07
Cloreto de Potássio	kg	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04
Ácido Sulfúrico 25%	L	0,15	5,00	0,10	0,18	5,00	0,12	0,17	5,00	0,12	0,16	5,00	0,11	0,17	5,00	0,12
Hidróxido de Sódio 25%	L	0,12	10,00	0,17	0,12	10,00	0,17	0,062	10,00	0,09	0,14	10,00	0,19	0,16	10,00	0,22
Subtotal B.	R\$			5,15			5,47			5,65			6,32			7,19
Custo operacional efetivo	R\$			19,91			20,23			20,41			21,08			21,95
Outras despesas	R\$			0,00			0,00			0,00			0,00			0,00
Custo de Juros	R\$			0,99			1,01			1,02			1,05			1,10
Custo operacional Total	R\$			20,90			21,24			21,43			22,13			23,05
Receita																
Produtividade	kg m ⁻²	6,06	5,27	31,94	6,93	5,27	36,52	7,96	5,27	41,95	7,44	5,27	39,21	6,81	5,27	35,89
Lucratividade	R\$			11,04			15,28			20,52			17,08			12,84

4.4 DISCUSSÃO

O aumento do acúmulo de massa de raízes é um dos efeitos observados da inoculação com *B. subtilis* em diversas culturas cultivadas em solo (TAVANTI *et al.*, 2020; AKHTYAMOVA *et al.*, 2021; FONSECA *et al.*, 2022); porém, não há relatos do sucesso da inoculação via solução nutritiva com esta bactéria, ou seja, sua capacidade de colonizar as raízes das plantas sem presença de solo não foi observado em estudos anteriores. No presente estudo, a capacidade desta bactéria de colonizar as raízes em sistema hidropônico favoreceu o aumento da massa fresca das raízes em 34% e da massa seca das raízes em 51% na dose de 34 e 26 mL de *B. subtilis* em relação ao tratamento não inoculado, respectivamente, aos 31 DAT (Figuras 27H e 28H). O crescimento superior das raízes ao inocular com *B. subtilis* ocorre pelo estímulo do aumento da produção de fitormônios como o ácido indol-3-acético (AIA) pelas plantas, que agem principalmente como estimuladores do crescimento radicular e, em consequência, melhora a exploração do ambiente de cultivo, com reflexos positivos na absorção de água e nutrientes (KUMARI *et al.*, 2018). Sendo uma das principais características responsáveis pelo aumento da eficiência no crescimento das plantas pelo aumento da absorção de nutrientes e água, porém, seu crescimento pode ser limitado no sistema hidropônico, e pode ser uma das justificativas para não correlação significativa com outros componentes produtivos (Figura 44).

Houve aumento da massa seca da parte aérea em 40% na dose estimada de 29 mL de *B. subtilis* e de 22% da massa fresca da parte aérea na dose de 33 mL 100L⁻¹ do inoculante com *B. subtilis* em relação à não inoculação aos 31 DAT (Figuras 27G e 28G). A massa fresca em alface é uma das características mais importantes, por ser uma hortaliça comercializável in natura, cuja maior massa fresca favorece o uso de apenas uma planta para formação do pacote comercializável; assim, do aumento do número de plantas para formar um pacote comercializável reduz a lucratividade (duas plantas por maço podem reduzir o lucro em 50%) (DALASTRA *et al.*, 2020). A inoculação com *B. subtilis* favoreceu o aumento do acúmulo de massa fresca e seca da parte aérea das plantas, pelo aumento da eficiência fotossintética, assimilação de carbono e aquisição de nutrientes pelas raízes (FONSECA *et al.*, 2022). A correlação positiva e significativa da massa da parte aérea com a atividade

fotossintética e a assimilação de carbono, foi evidenciada neste estudo e permite melhor compreensão destes mecanismos (Figura 44).

O aumento de 31% na produtividade da alface e de 21% no número de folhas obtidos com as doses de 35 e 32 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis*, respectivamente em comparação ao não inoculado, são resultados expressivos e importantes, ambas características estão intimamente relacionadas e conseguiram melhorar a eficiência produtiva (Figura 29). Estes resultados podem ser explicados pela melhor pelo aumento de 31% no *Ci*, de 45% na *gs*, de 95% na *A*, 55% e 54% na *Clo t*, aos 31 DAT que contribuem para maior crescimento e acúmulo de massa nas folhas das plantas (Figuras 41E, 41F, 41G e 40C). O crescimento das folhas ocorre com o aumento da assimilação líquida de CO₂ no processo fotossintético, cujo acúmulo de carbono nas folhas permite a formação de novas folhas e aumento da massa das plantas, resultando em maior produtividade (FONSECA *et al.*, 2022).

A inoculação com *B. subtilis* aumentou em 21% a *E*, 67% a *EUA*, 6% o *CRA* e 5% a *IIM* das folhas de alface aos 31 DAT (Figuras 41G, 42B, 42C e 42D), o que indica proteção das folhas contra estresses abióticos, principalmente pela elevada temperatura do ambiente de cultivo de alface (plantas de clima ameno). A maior eficiência do uso da água está relacionada com a maior integridade de membranas celulares das folhas, que estão relacionadas com a capacidade da planta de manter suas atividades metabólicas e fotossintéticas em funcionamento mesmo em períodos com temperaturas altas como as do local do estudo (Figura 23). A maior eficiência do uso da água proporciona maior turgor nas células-guardas, mantendo os estômatos abertos nesta situação, o *gs* observado foi 45% maior que na ausência da inoculação. O estado hídrico das folhas das plantas consegue aumentar os períodos de abertura de estômatos, que favorece a atividade fotossintética e a assimilação líquida de CO₂ pelas plantas, como também melhora a eficiência do uso da água e do crescimento das plantas (BUCKLEY, 2019).

Além disso, o fornecimento adequado de *B. subtilis* proporciona maior crescimento da planta de alface por meio do aumento da aquisição de nutrientes. A melhor absorção de nutrientes e acúmulo nas plantas de alface foi observada nas doses de 25, 26, 21, 16, 24 e 30 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis* com

aumento nos acúmulos da parte aérea de N, P, K, S, Ca e Mg em 31, 33, 44, 104, 43 e 53%, respectivamente, em relação ao não inocular aos 31 DAT (Figuras 31G, 31H, 33G, 33H, 35G e 35G). A maior absorção de nutrientes e acúmulo nas plantas de alface foi observada nas doses de 26, 27, 32, 12, 26 e 27 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis* com aumento nos acúmulos das raízes de N, P, K, S, Ca, Mg em 89, 35, 78, 45, 60 e 87%, respectivamente, em relação ao não inocular aos 31 DAT (Figura 38).

O Ca é um nutriente que participa do crescimento das plantas de forma estrutural no crescimento radicular, pois promove espessamento da parede celular, aumenta a proteção das plantas a patógenos e aumenta a restauração da integridade das membranas celulares (THOR, 2019). Uma boa formação e estabilização de paredes celulares primárias nas plantas dependem do fornecimento e aquisição adequada de Ca pelas plantas, como integridade da parede celular dependente diretamente do Ca para realizar a transdução de sinal adequada do apoplasto para o citoplasma, fundamental para a função celular (HAMANN; DENNES, 2011). A maior integridade das membranas da parede celular é essencial para que ocorra o crescimento e desenvolvimento dos tecidos da planta (HAMANN, 2015). O Ca promove aumento o crescimento de novos pelos radiculares, que são eficazes na absorção de água e nutrientes para manutenção da planta.

O aumento da eficiência de absorção e transporte de nutrientes pelas plantas inoculadas com *B. subtilis* está principalmente relacionado pelo aumento do crescimento das raízes, produção de sideróforos, produção de compostos secundário e de fitormônios na planta (QIAO *et al.*, 2017; FONSECA *et al.*, 2022). O crescimento radicular também beneficia o aumento da eficiência de absorção de N, P, K, Ca, Mg, S, como a produção de giberilina anteriormente relatado na cultura da couve-china sob a inoculação com *B. subtilis* em relação à não inoculação (KANG *et al.*, 2019), o aumento no acúmulo destes nutrientes também foi observado na cana-de-açúcar sob a inoculação com *B. subtilis* (FONSECA *et al.*, 2022).

Observou-se um aumento da concentração Clo t em 54% sob inoculação com a dose estimada de 37 mL de *B. subtilis* 100 L⁻¹ (Figura 4F). As taxas de assimilação fotossintética de CO₂ são favorecidas por nutrição adequada de K e Mg, aumentando-se as concentrações intracelulares de CO₂

e a atividade fotossintética da folha (SINGH; REDDY, 2017). Devido ao papel osmótico de K no aumento da condutância estomática da folha (atuando na regulação da célula de guarda), a menor absorção deste nutriente prejudica a fotossíntese da planta (JÁKLI *et al.*, 2017). O crescimento e o metabolismo das plantas requerem a translocação de carboidratos dos tecidos fotossinteticamente ativos, cujo carregamento de sacarose é a principal forma de transporte de carboidratos nas plantas, e a deficiência de K e Mg no floema pode prejudicar o transporte da eficiência do carbono para dentro da planta e o fornecimento adequado de essas duas moléculas aumentam a fotoproteção (TRÄNKNER *et al.*, 2018). As proteínas de ligação do Ca^{2+} são residentes do cloroplasto, mas algumas estão localizadas na membrana do cloroplasto, como a s-adenosilmetionina semelhante ao transportador (STAEL *et al.*, 2011). O Ca^{2+} atua como um cofator para a ativação de enzimas redox relacionadas às membranas do fotossistema II; também o Ca^{2+} regula as enzimas frutose-1, 6-bisfosfatase (FBPase) e sedoheptulose-1,7-bisfosfatase (SBPase) que são fundamentais no ciclo de Calvin na via de assimilação de carbono, que ocorre no estroma do cloroplasto (WANG *et al.*, 2019).

O uso da inoculação com *B. subtilis* tem sido destacado como promotoras de crescimento vegetal e sendo capazes de aumentar a produtividade das culturas, além de aumentar a eficiência na aquisição de nitrogênio. Os principais mecanismos relacionados à maior absorção de nitrogênio ocasionado pelo *B. subtilis* são o maior crescimento radicular (aumenta a exploração do solo pelas raízes), promoção de crescimento (aumento na produção de compostos secundários e fitormônios) e fixação biológica de nitrogênio (aumenta a atividade do metabolismo do nitrogênio e produtividade pelo aumento no acúmulo de carbono) (HASHEM *et al.*, 2019). A única fonte de nitrogênio disponível para absorção das raízes no sistema hidropônico é a solução nutritiva, o maior acúmulo de N (10, 12 e 11%), maior que o fornecimento de N via solução nutritiva nas doses de 7,8, 15,6 e 31,2 ml de *B. subtilis*, respectivamente, que pode ocorrer com o efeito da fixação biológica de N realizada pelo *B. subtilis* (Figura 32).

Pode ser explicado pelo processo de fixação biológica de nitrogênio proporcionado pela inoculação com *B. subtilis* na solução nutritiva, e em simbiose com a planta sequestra N_2 da atmosfera fornecendo para as plantas.

Em estudos com várias espécies de *Bacillus*, foi observado no sequenciamento genético a expressão dos genes *nif* e *fixam* que são responsáveis pela capacidade de realizar a fixação de nitrogênio atmosférico, além disso, aumentaram a fixação biológica em região tropical (YOUSUF *et al.*, 2017). O uso de *B. subtilis* proporcionou maior eficiência no uso do nitrogênio e mitigação da emissão de amônia para o ambiente pela facilidade de aquisição das moléculas de amônio derivados pelas bactérias após o processo de FBN e seu transporte para os tecidos das plantas (SUN *et al.*, 2020). Além disso, conforme Gunka e Commichau (2012), a inoculação com *B. subtilis* aumentou a expressão gênica *nrgA* relacionada à assimilação de N pelas plantas na forma amoniacal, induzindo maior quantidade de amônio disponível pelo processo de fixação biológica de N.

O alto fornecimento de nitrogênio na forma de nitrato na hidroponia tem sido uma preocupação frequente no cultivo de hortaliças, principalmente pelo aumento da concentração de NO_3^- foliar, que causam prejuízos à qualidade das folhas e também aos serem humanos (SAGO; SHIGEMURA, 2018; SILVA *et al.*, 2021; SAKAMOTO *et al.*, 2021). O manejo da solução nutritiva tem sido uma das alternativas para reduzir as concentrações de NO_3^- foliar nas plantas de alface hidropônica (SÖYLEMEZ, 2021; CONVERSA *et al.*, 2021). Por outro lado, o uso de bactérias promotoras de crescimento tem sido uma das tecnologias que proporcionam aumento da eficiência do uso de fertilizantes nitrogenados (HASHEM *et al.*, 2019), que, ainda podem, aumentar a atividade da enzima nitrato redutase e, em consequência, reduzir a concentração foliar de NO_3^- (LEE *et al.*, 2020; TABAGLIO *et al.*, 2020; BLAKE *et al.*, 2021), mesmo em condições com alta disponibilidade de NO_3^- para absorção das plantas.

Corroborando com os resultados obtidos, concordam com estes estudos, por aumentar a atividade da enzima nitrato redutase em 265% e acúmulo de NH_4^+ em 79%, em consequência redução de 152% do acúmulo de NO_3^- na parte aérea das plantas de alface conforme o aumento das doses de *B. subtilis* aos 31 DAT (Figuras 43A, 43B e 43G). A inoculação com *B. subtilis* proporcionou maior atividade de nitrato redutase em ambiente com alto e baixa quantidade de NO_3^- , em ambos os ambientes a atividade da enzima aumentou, reduzindo as concentrações foliares de nitrato (LEE *et al.*, 2020). O maior acúmulo de NO_3^- nas folhas das hortaliças reduzem a palatabilidade, por serem

responsáveis pelo amargor nas folhas de alface (ZHU *et al.* 2020). Neste estudo, foi possível identificar uma correlação positiva do aumento do acúmulo de NH_4^+ e as clorofilas, trocas gasosas e atividade da enzima NR, e negativa do acúmulo de NO_3^- na parte aérea com a NR e acúmulo de NH_4^+ , as clorofilas e trocas gasosas (Figura 44).

Além disso, a inoculação com *B. subtilis* influenciou diretamente no ciclo de N, atividades enzimáticas e síntese de metabólitos secundários, aminoácidos, aquisição e eficiência de uso de nutrientes pelas plantas (BLAKE *et al.*, 2021). O menor acúmulo de NO_3^- foliar obtido neste estudo está relacionado ao aumento da atividade da enzima nitrato redutase, que reduz o nitrato a nitrito no citosol pelas atividades da enzima nitrato redutase onde entra em plastídios ou cloroplastos para reduzir em amônia que foi fixada via glutamato sintase/glutamina sintase em aminoácidos (YONEYAMA; SUZUKI, 2019). Esses glutamina e glutamato serviram como substrato para transaminação e produção de aminoácidos utilizados na ingestão de proteínas (TAIZ *et al.* 2022).

Concordando com os resultados da presente pesquisa, por verificar aumento de 37% na concentração total de aminoácidos e de 90% de carboidratos total sob as doses de 31 e 49 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis* respectivamente (Figuras 43E e 43F). A inoculação com *B. subtilis* aumentou a afinidade para a assimilação de amônio, além disso, aumenta a biossíntese de glutamato, na reação que liga carbono ao metabolismo do N, que é controlada pelo glutamato desidrogenase, que melhora o metabolismo da glutamina e glutamato (GUNKA *et al.*, 2012). As reações do metabolismo do N favorecem o aumento nas concentrações de carboidratos e aminoácidos nas folhas, que estão relacionados com o aumento da assimilação de CO_2 e do conteúdo de pigmentos fotossintéticos (DORMEYER *et al.*, 2019).

O transporte adequado de N das raízes para as folhas é essencial para promover o aumento do crescimento foliar e acúmulo de carbono, como no aumento das concentrações de aminoácidos, que estão intimamente ligadas ao processo de fotossíntese nas folhas (PERCHLIK; TEGEDER, 2018). Curiosamente, verificou-se aumento da Clo a, Clo b, Clo t e CAR em 55, 54, 54 e 65% sob as doses de 36, 40 e 38 mL 100 L⁻¹ de *B. subtilis*, respectivamente, aos 31 DAT (Figuras 40A, 40B, 40C e 40D). A maior eficiência fotossintética

das plantas sob inoculação com *B. subtilis* foi relatada por ser um mecanismo de promoção de crescimento das plantas e acúmulo de carbono foliar (LEE *et al.*, 2020).

Estes resultados podem estar associados ao maior acúmulo de N nas plantas, e a influência do uso adequado do N pelas plantas na taxa fotossintética e ciclo de carbono vegetal (JANG *et al.*, 2018). Em diversos estudos a concentração de clorofila das folhas tem correlação positiva com a concentração de N encontradas nos tecidos (WANG *et al.*, 2014; MASCARELLO *et al.*, 2016; GÜIZA-CASTILLO *et al.*, 2020; GALINDO *et al.*, 2021), assim como houve correlação positiva do acúmulo de NH_4^+ e N na parte aérea e raízes com as concentrações de clorofila e carotenoides foliares, porém, houve correlações negativas com acúmulo de NO_3^- na parte aérea e raízes (Figura 44).

A correlação negativa da atividade da enzima nitrato redutase com acúmulo de NO_3^- na parte aérea e correlação positiva com acúmulo de NH_4^+ demonstra a capacidade da inoculação com *B. subtilis* de aumentar a atividade enzimática no metabolismo do N e reduzir os riscos à saúde humana com excesso da ingestão de NO_3^- na alimentação. Além disso, a correlação negativa do acúmulo de NO_3^- e positiva do NH_4^+ com o aumento de concentração de carboidratos e aminoácidos nas folhas são resultados da quebra de NO_3^- nas folhas das plantas podem ser direcionadas para o metabolismo do glutamato e glutamina, que resulta em maiores concentrações de aminoácidos nas folhas (Figura 43E).

O aumento da produtividade de alface na maior dose do inoculante com *B. subtilis* proporcionou maior lucratividade (R\$ 20,52) em relação à não inoculação (R\$ 11,04). A inoculação com *B. subtilis* na dose de 15,6 mL 100 L⁻¹ propiciou incremento de 86% da lucratividade em relação à não inoculação, viabilizando o uso do inoculante para o cultivo de alface hidropônico, o que aumenta a competitividade do produtor no mercado (Tabela 36).

A inoculação com *B. subtilis* proporcionou aumento do acúmulo de massa nas plantas, acúmulo de nutrientes e na eficiência fotossintética e do uso da água. Os principais mecanismos do *B. subtilis* para melhorar crescimento e a nutrição das plantas de alface hidropônico, estão relacionados ao aumento da produção de hormônios de crescimento vegetal. O aumento da

produtividade de folhas de alface com a inoculação de *B. subtilis* é uma tecnologia de baixo custo, fácil aplicação e não poluente, que reduz o consumo de fertilizantes, o acúmulo de NO_3^- na parte aérea e ainda aumenta a lucratividade do agricultor.

4.5 CONCLUSÕES

A dose de *B. subtilis* via solução nutritiva indicada para o cultivo de alface hidropônica é de 33 mL 100 L⁻¹ por proporcionar maior produtividade de folhas frescas de alface na colheita. A dose de 15,6 mL de *B. subtilis* proporcionou maior lucratividade da alface americana (cultivar Angelina) cultivada em sistema hidropônico.

A inoculação com *B. subtilis* em doses entre 18 e 35 mL 100 L⁻¹ do inoculante promove maior crescimento da planta, acúmulo de massa e de nutrientes na parte aérea e nas raízes das plantas de alface americana.

O uso de doses entre 34 e 40 mL 100 L⁻¹ do inoculante com *B. subtilis* proporciona aumento no estado hídrico, da eficiência do uso da água, da fotossíntese líquida, da assimilação de carbono e pigmentos fotossintéticos das folhas das plantas de alface americana hidropônica.

A inoculação com *B. subtilis* na maior dose proporciona redução de 152% no acúmulo de NO_3^- e aumento em 79% no acúmulo de NH_4^+ na parte aérea e em 265% a atividade da enzima nitrato redutase nas folhas de alface americana hidropônica.

REFERENCIAS

- AINI, N.; YAMIKA, W. S. D.; ULUM, B. Effect of nutrient concentration, PGPR and AMF on plant growth, yield and nutrient uptake of hydroponic lettuce. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v. 21, p.175–183, 2019.
- AKHTYAMOVA, Z.; ARKHIPOVA, T.; MARTYNENKO, E.; NUZHNYAYA, T.; KUZMINA, L.; KUDOYAROVA, G.; VESELOV, D. Growth-Promoting effect of rhizobacterium (*Bacillus subtilis* IB22) in salt-stressed barley depends on abscisic acid accumulation in the roots. **International Journal of Molecular Science**, Basel, v.22, n.19, a.10680, 2021.
- BLAKE, C.; CHRISTENSEN, M. N.; KOVÁCS, A. T. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v.34, n.1, p.15–25, 2021.
- BUCKLEY, T. N. How do stomata respond to water status? **New Phytologist**, Cambridge, v.224, p.21-36, 2019.
- CONVERSA, G.; BONASIA, A.; LAZZIZERA, C.; LA ROTONDA, P.; ELIA, A. Reduction of nitrate content in baby-leaf lettuce and cichorium endivia through the soilless cultivation system, electrical conductivity and management of nutrient solution. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.12, p.645-671, 2021.
- DALASTRA, C. **Nutrição e produção de alface americana em função da vazão, periodicidade de exposição e condutividade elétrica da solução nutritiva em sistema hidropônico**. 98f. 2017. Tese (doutorado em agronomia) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Pós-graduação em sistema de produção, 2017.
- DALASTRA, C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; VARGAS, P. F. Periodicity of exposure of hydroponic lettuce plants to nutrient solution. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.33, p.81-89, 2020.
- DORMEYER, M.; LENTES, S.; RICHTS, B.; HEERMANN, R.; ISCHEBECK, T.; COMMICHAU, F. M. Variants of the *Bacillus subtilis* LysR-Type regulator GltC with altered activator and repressor function. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v.10, a.2321, 2019.
- FALKER Automação Agrícola Ltda. Manual do medidor eletrônico de teor clorofla (ClorofLOG / CFL 1030). Porto Alegre: **Falker**, 2008. 33 p.
- FONSECA, M. D. C. D.; BOSSOLANI, J. W.; DE OLIVEIRA, S. L.; MORETTI, L. G.; PORTUGAL, J. R.; SCUDELETTI, D.; DE OLIVEIRA, E. F.; CRUSCIOL, C. A. C. *Bacillus subtilis* Inoculation improves nutrient uptake and physiological activity in sugarcane under drought stress. **Microorganisms**, Basel, v.10, a.809, 2022.

GALINDO, F. S.; PAGLIARI, P. H.; RODRIGUES, W. L.; FERNANDES, G. C.; BOLETA, E. H. M.; SANTINI, J. M. K.; JALAL, A.; BUZETTI, S.; LAVRES, J.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Silicon amendment enhances agronomic efficiency of nitrogen fertilization in maize and wheat crops under tropical conditions. **Plants**, Basel, v.10, a.1329, 2021.

GÜIZA-CASTILLO, L. L.; PINZÓN-SANDOVAL, E. H.; SERRANO-CELY, P. A.; CELY-REYES, G. E.; SERRANO-AGUDELO, P. C. Estimation and correlation of chlorophyll and nitrogen contents in *Psidium guajava* L. with destructive and non-destructive methods. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, Tunja, v.14, n.1, p.26-31, 2020.

GUNKA, K.; COMMICHAU, F. M. Control of glutamate homeostasis in *Bacillus subtilis*: a complex interplay between ammonium assimilation, glutamate biosynthesis and degradation. **Molecular Microbiology**, Salem, v.85, p.213-224, 2012.

HAMANN, T.; DENNESS, L. Cell wall integrity maintenance in plants: lessons to be learned from yeast?. **Plant signaling & behavior**, Bonn, v.6, p.1706–1709, 2011.

HAMANN, T. The plant cell wall integrity maintenance mechanism—concepts for organization and mode of action. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.56, p.215–223, 2015.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ABD ALLAH, F. E. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biology Science**, Riyadh, v.26, p.1291-1297, 2019.

HISCOX, J.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.57, p.1332-1334. 1979.

JÁKLI, B.; TAVAKOL, E.; TRÄNKNER, M.; SENBAYRAM, M.; DITTERT, K. Quantitative limitations to photosynthesis in K deficient sunflower and their implications on water-use efficiency. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.209, p.20-30, 2017.

JANG, J. H.; KIM, S. H.; KHAINE, I.; KWAK, M. J.; LEE, H. K.; LEE, W. Y.; WOO, S. Y. Physiological changes and growth promotion induced in poplar seedlings by the plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis* JS. **Photosynthetica**, Prague, v.56, n.4, p.1188-1203, 2018.

KANG, S. M.; HAMAYUN, M.; KHAN, M. A.; IQBAL, A.; LEE, I. J. *Bacillus subtilis* JW1 enhances plant growth and nutrient uptake of Chinese cabbage through gibberellins secretion. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, Gottingen, v.92, p.172-178, 2019.

KAPPEL, N.; BOROS, I. F.; RAVELOMBOLA, F. S.; SIPOS, L. EC Sensitivity of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L.) types in terms of nitrate accumulation. **Agriculture**, Basel, v.11, a.315, 2021.

KASOZI, N.; KAISER, H.; WILHELMI, B. Effect of *Bacillus spp.* on lettuce growth and root associated bacterial community in a small-scale aquaponics system. **Agronomy**, Basel, v.11, a.947, 2021.

KIM, M. J.; MOON, Y.; TOU, J. C.; MOU, B.; WATERLAND, N. L. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.49, p.19-34, 2016.

KUMARI, S.; PRABHA, C.; SINGH, A.; KUMARI, S.; KIRAN, S. Optimization of Indole-3-Acetic Acid Production by Diazotrophic *B. subtilis* DR2 (KP455653), Isolated from Rhizosphere of *Eragrostis cynosuroides*. **International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences**, Thunder Bay, v.7, p.20-27, 2018.

LEE, S.; TRINH, C. S.; LEE, W. J.; JEONG, C. Y.; TRUONG, H. A.; CHUNG, N.; KANG, C. S.; LEE, H. *Bacillus subtilis* strain L1 promotes nitrate reductase activity in Arabidopsis and elicits enhanced growth performance in Arabidopsis, lettuce, and wheat. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v.133, p.231–244, 2020.

LUTTS, S.; KINET, J. M.; BOUHARMONT, J. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v.19, p.200-207, 1996.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, Piracicaba. 1997.

MASCARELLO, A. C.; SILVA, T. R. B.; GOUVEIA, B. T.; BERNARDI, D.; SECCO, D.; SANTOS, R. F.; ALVES, C. Z. Chlorophyll meter reading and total nitrogen content applied as topdressing in parts of the crambe plant. **African Journal of Biotechnology**, Saharan, v.15, n.2, p.45-49, 2016.

MATSUNAGA, M.; BEMELMANS, P. F.; TOLEDO, P. E. N.; DULLEY, R.D.; OKAWA, H.; PEDROSO, I.A. Metodologia de custo de produção utilizada pelo IEA. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v.3, n.1, p.123-139, 1976.

OPATOVSKY, I.; ELBAZ, M.; DORI, I.; AVRAHAM, L.; MORDECHAI-LEBIUSH, S.; DOMBROVSKY, A.; TSROR (LAHKIM), L., Control of lettuce big-vein disease by application of fungicides and crop covers. **Plant Pathology**, Oxford, v.68, p.790-795, 2019.

PERCHLIK, M.; TEGEDER, M. Leaf amino acid supply affects photosynthetic and plant nitrogen use efficiency under nitrogen stress. **Plant Physiology**, Bethesda, v.178, n.1, p.174–188, 2018.

QIAO, J.; YU, X.; LIANG, X.; LIU, Y.; BORRIS, R.; LIU, Y. Addition of plant-growth-promoting *Bacillus subtilis* PTS-394 on tomato rhizosphere has no durable impact on composition of root microbiome. **BMC Microbiology**, Chichester, v.17, a.131, 2017.

R CORE TEAM **R: a language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna <https://www.R-project.org/2015>.

RADIN, J. W. Distribution and development of nitrate reductase activity in germinating cotton seedlings. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.53, p.458-463, 1974.

SAGO, Y.; SHIGEMURA, A. Quantitative nutrient management reduces nitrate accumulation in hydroponic butterhead lettuces grown under artificial lighting, **HortScience Horts**, Alexandria, v.53, n.7, p.963-967, 2018.

SAKAMOTO, M.; KOMATSU, Y.; SUZUKI, T. Nutrient deficiency affects the growth and nitrate concentration of hydroponic radish. **Horticulturae**, Basel, v.7, a.525, 2021.

SAKATA. Informações técnicas da cultivar de alface americana Angelina. Disponível em: <https://www.sakata.com.br/hortalicas/folhosas/alface/americana-de-verao/angelina>. Acesso em 02 jan. 2022.

SHI, M.; GU, J.; WU, H.; RAUF, A.; EMRAN, T. B.; KHAN, Z.; MITRA, S.; ALJOHANI, A. S. M.; ALHUMAYDHI, F. A.; AL-AWTHAN, Y. S. Phytochemicals, nutrition, metabolism, bioavailability, and health benefits in lettuce -a comprehensive review. **Antioxidants**, Basel, v.11, a.1158, 2022.

SILVA, P. H. S.; CECÍLIO FILHO, A. B.; REIS, I. S.; NASCIMENTO, C. S.; NASCIMENTO, C. S. Rocket plants in response to nitrogen concentration in nutrient solution. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 39, n.3, p.341-345, 2021.

SILVA, F. C. **Manual de análise química de solo, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2009.

SINGH, S. K.; REDDY, V. R. Potassium starvation limits soybean growth more than the photosynthetic processes across CO₂ levels. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.8, a.991, 2017.

SÖYLEMEZ, S. The impact of different growth media and ammonium-nitrate ratio on yield and nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa* var. longifolia). **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, Cluj-Napoca, v.49, n.4, p.12540, 2021.

STAEL, S.; ROCHA, A. G.; ROBINSON, A. J.; KMIECIK, P.; VOTHKNECHT, U. C.; TEIGE, M. *Arabidopsis* calcium-binding mitochondrial carrier proteins as potential facilitators of mitochondrial ATP-import and plastid SAM-import. **FEBS Letters**, Amsterdam, v.585, a.3935, 2011.

SUN, B.; BAI, Z.; BAO, L.; XUE, L.; ZHANG, S.; WEI, Y.; ZHANG, Z.; ZHUANG, G.; ZHUANG, X. *Bacillus subtilis* biofertilizer mitigating agricultural ammonia emission and shifting soil nitrogen cycling microbiomes. **Environment International**, New York, v.144, a.105989, 2020.

TABAGLIO, V.; BOSELLI, R.; FIORINI, A.; GANIMEDE, C.; BECCARI, P.; SANTELLI, S.; NERVO, G. Reducing nitrate accumulation and fertilizer use in lettuce with modified intermittent nutrient film technique (NFT) system. **Agronomy**, Basel, v.10, a.1208, 2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Plant Physiology and Development**. 7 ed. Sinauer Associates, Sunderland. 2022. 864p.

TAVANTI, T. R.; TAVANTI, R. F. R.; GALINDO, F. S.; SIMÕES, I.; DAMETO, L. S.; SÁ, M. E. Yield and quality of soybean seeds inoculated with *Bacillus subtilis* strains. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.24, n.1, p.65-71, 2020.

THOR, K. Calcium-Nutrient and Messenger. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.10, p.1-10, 2019.

TRÄNKNER, M.; TRAVAKOL, E.; JÁKLI, B. Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. **Physiologia Plantarum**, Oxford, v.163, p.414-431, 2018.

WANG, Q.; YANG, S.; WAN, S.; LI, X. The Significance of calcium in photosynthesis. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v.20, a.1353, 2019.

WANG, Y.; WANG, D.; SHI, P.; OMASA, K. Estimating rice chlorophyll content and leaf nitrogen concentration with a digital still color camera under natural light. **Plant Methods**, Chichester, v.10, a.36, 2014.

YANG, X.; GIL, M. I.; YANG, Q.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Bioactive compounds in lettuce: Highlighting the benefits to human health and impacts of preharvest and postharvest practices. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v.21, p.4– 45, 2022.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, Notre Dame, v.80, n.948, p.209-214, 1955.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemocal Journal**, London, v.57, n.3, p.508-514, 1954.

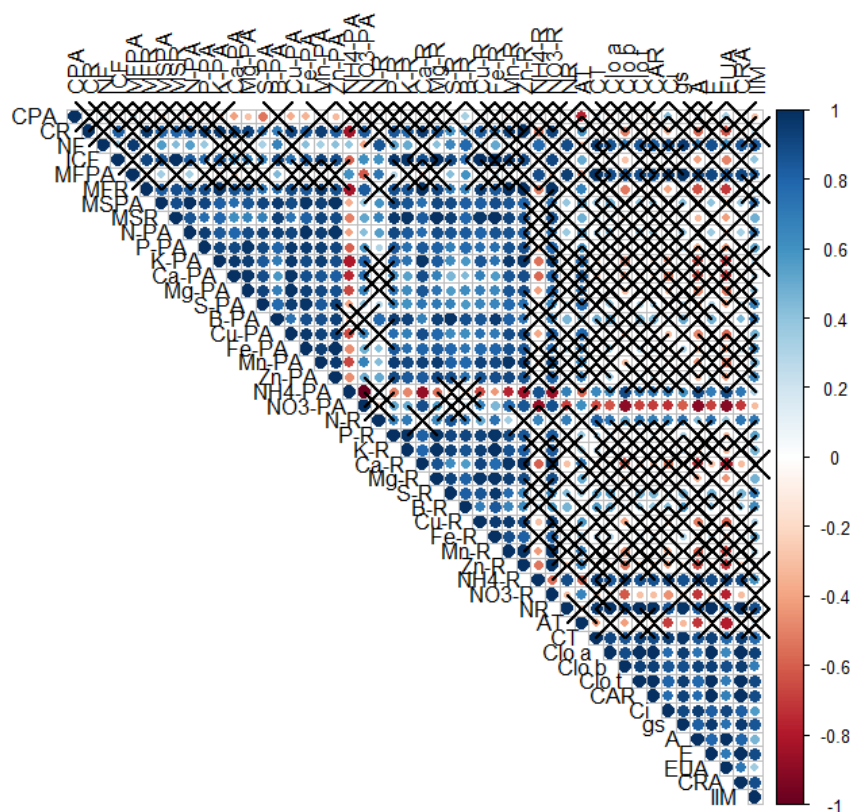
YONEYAMA, T.; SUZUKI, A. Exploration of nitrate-to-glutamate assimilation in non-photosynthetic roots of higher plants by studies of ¹⁵N-tracing, enzymes involved, reductant supply, and nitrate signaling: A review and synthesis. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.136, p.245-254, 2019.

YOUSUF, J.; THAJUDEEN, J.; RAHIMAN, M.; KRISHNANKUTTY, S.; ALIKUNJ A.P.; ABDULLA M.H.A. Nitrogen fixing potential of various heterotrophic *Bacillus* strains from a tropical estuary and adjacent coastal regions. **Journal of Basic Microbiology**, Weinheim, v.57, p.922-932, 2017.

ZHU, X.; YANG, R.; HAN, Y.; HAO, J.; LIU, C.; FAN, S. Effects of different $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ ratios on the photosynthesis and ultrastructure of lettuce seedlings. **Horticulture Environmental and Biotechnology**, Suwon, v.61, p.459–472, 2020.

APÊNDICE B – Mapa de calor de correlações

Figura 44 – Mapa de calor dos coeficientes de correlação de Pearson obtidos das variáveis analisadas em alface em resposta à inoculação com doses de *B. subtilis*. “X” indica correlação não significativa ($P > 0,05$). comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), matéria fresca da parte aérea (MFPA), matéria fresca da raiz (MFR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), índice de clorofila foliar (ICF), teor de clorofila a (Clo a), clorofila b (Clo b), clorofila total (Clo t), carotenóides (CAR), concentração de carboidratos totais (CT) e de aminoácidos totais (AT), atividade da enzima nitrato redutase (NR), acúmulo de nutrientes da parte aérea em nitrogênio (N-PA), fósforo (P-PA), potássio (K-PA), cálcio (Ca-PA), magnésio (Mg-PA), enxofre (S-PA), boro (B-PA), cobre (Cu-PA), ferro (Fe-PA), manganês (Mn-PA), zinco (Zn-PA), amônio (NH_4 -PA), nitrato (NO_3 -PA), acúmulo de nutrientes radiculares em nitrogênio (N-R), fósforo (P-R), potássio (K-R), cálcio (Ca-R), magnésio (Mg-R), enxofre (S-R), boro (B-R), cobre (Cu-R), ferro (Fe-R), manganês (Mn-R), zinco (Zn-R), amônio (NH_4 -R), nitrato (NO_3 -R), concentração substomática de CO_2 (Ci), condutância estomática (gs), taxa de fotossíntese líquida (A), transpiração foliar (E), eficiência do uso da água (EUA), conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas foliares (IIM).



Fonte: Elaborado pelo autor.

5 CAPÍTULO III. RESPOSTA DE ALFACE AMERICANA A DOSES DE *Pseudomonas fluorescens* EM SISTEMA HIDROPÔNICO

RESUMO: A inoculação com *P. fluorescens* tem se mostrado promissora no aumento da absorção de nutrientes e da produtividade das plantas, porém são escassas as pesquisas com esta bactéria em cultivos hidropônicos. Logo, estabeleceu-se as hipóteses de estimar a dose do inoculante via solução nutritiva com *P. fluorescens* que consiga proporcionar aumento de componentes produtivos, fisiológicos, nutricionais, econômicos na dose correta. O objetivo deste estudo foi estimar a dose de inoculante com a bactéria *P. fluorescens* que aumente a produtividade, os componentes produtivos, as trocas gasosas, nutrição de plantas e a análise econômica, assim como a redução do nitrato foliar de alface hidropônica. A pesquisa foi realizada em casa de vegetação, em cultivo protegido com 35% de sombreamento, em Ilha Solteira, SP, em sistema hidropônico NFT. Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com cinco repetições. Os tratamentos foram cinco doses de inoculante com *P. fluorescens* via solução nutritiva (0, 8, 16, 32 e 64 mL 100 L⁻¹). A inoculação com *P. fluorescens* na dose de 23 e 33 mL 100 L⁻¹ proporcionou os maiores teores de massa fresca (27%) e seca (30%) da parte aérea, respectivamente. As doses de 34 e 25 mL L⁻¹ de *P. fluorescens* proporcionaram as maiores quantidades de matéria fresca (74%) e seca (85%) das raízes. Houve aumento no acúmulo de 48% de N, 50% de P, 93% de K, 50% de Ca, 43% de Mg e 86% de S na parte aérea nas doses de 29, 33, 31, 31, 29, e 28 mL de *P. fluorescens* 100 L⁻¹, respectivamente. Também, aumentou a taxa líquida de fotossíntese, a concentração intracelular de CO₂, a clorofila total, a condutância estomática, a transpiração e a eficiência do uso da água, com doses entre 34 e 40 mL de *P. fluorescens*. A inoculação com *P. fluorescens* na dose entre 28 e 45 mL 100 L⁻¹ do inoculante proporcionou os maiores acúmulos de N, P, K, S, Ca e Mg na parte aérea e raízes da alface americana cultivada em sistema hidropônico. A inoculação de *P. fluorescens* na dose de 29 mL 100 L⁻¹ via solução nutritiva no cultivo hidropônico de alface proporcionou maior eficiência fotossintética, acúmulo de N e produtividade de

folhas das plantas, além de a redução do acúmulo de NO_3^- e aumento da atividade da enzima nitrato redutase na parte aérea das plantas de alface.

Palavras-Chave: *Lactuca sativa*; Assimilação de carbono; pigmentos fotossintéticos; absorção de nutrientes; bactérias promotoras do crescimento de plantas; nitrato redutase.

AMERICAN LETTUCE RESPONSE TO DOSES OF *Pseudomonas fluorescens* IN A HYDROPONIC SYSTEM

ABSTRACT: Inoculation with *P. fluorescens* has shown to be promising in increasing nutrient uptake and plant productivity, but research on this bacterium in hydroponic cultivation is scarce. Therefore, hypotheses were established to estimate the inoculant dose via nutrient solution with *P. fluorescens* that can provide an increase in productive, physiological, nutritional, economic components at the correct dose. The objective of this study was to estimate the inoculant dose with *P. fluorescens* bacteria that increases productivity, productive components, gas exchange, plant nutrition and economic analysis, as well as the reduction of foliar nitrate in hydroponic lettuce. The research was carried out in a greenhouse in Ilha Solteira, São Paulo State, Brazil, in a hydroponic system, in a randomized blocks design with five replications. The treatments were five doses of inoculant with *P. fluorescens* via nutrient solution (0, 8, 16, 32, and 64 mL 100 L⁻¹). Inoculation with *P. fluorescens* at a dose of 23 and 33 mL 100 L⁻¹ provided the highest fresh (27%) and dry (30%) matter of shoot, respectively. The doses of 34 and 25 mL L⁻¹ of *P. fluorescens* provided the highest fresh (74%) and dry (85%) matter of roots. The increase in the accumulation of 48% of N, 50% of P, 93% of K, 50% of Ca, 43% of Mg, and 86% of S in the shoot at doses of 29, 33, 31, 31, 29, and 28 mL 100 L⁻¹ of *P. fluorescens*. It also increased net photosynthesis rate, intracellular CO₂ concentration, total chlorophyll, stomatal conductance, transpiration, and water use efficiency using doses between 34 and 40 mL of *P. fluorescens*. Inoculation with *P. fluorescens* at a dose between 28 and 45 mL 100 L⁻¹ of the inoculant provided the highest accumulations of N, P, K, S, Ca, and Mg in the shoot and roots of lettuce grown in a hydroponic system. The inoculation of *P. fluorescens* at a dose of 29 mL 100L⁻¹ via nutrient solution in hydroponic lettuce cultivation provided greater photosynthetic efficiency, N and mass accumulation in the plants, in addition the reduction of NO_3^- accumulation in the shoot of the plants.

Keywords: *Lactuca sativa*; Carbon assimilation; photosynthetic pigments; nutrients uptake; plant growth-promoting bacteria; nitrate reductase.

5.1 INTRODUÇÃO

A alface é a hortaliça folhosa com maior produção e consumo no mundo, por possuir características culinárias desejáveis para consumo “in natura” na forma de saladas (DALASTRA *et al.*, 2020). A alface americana é muito comercializada minimamente processada, para o consumo doméstico, fast food e restaurantes (FAOSTAT, 2022). A alface é um vegetal de salada com baixo teor calórico, baixo teor de gordura e baixo teor de sódio, ainda, é rica em fibras, folato e vitamina C, vitamina B, vitamina E, vitamina K, além de minerais essenciais como ferro (KIM *et al.*, 2016). Além de diversas propriedades benéficas à saúde humana, incluindo efeitos antirradicais livres, anticardiovasculares, anti-inflamatórios, anticísticos, anticancerígenas e antidiabéticos (KIM *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2022).

A produção de alface é crescente no mundo, no entanto, conseguir produzir durante todo o ano tem sido uma problemática, principalmente, sendo cultivado no solo pelas alterações ambientais, dificuldade de controlar doenças radiculares e foliares em períodos prolongado de chuvas (OPATOVSKY *et al.*, 2019). O sistema de recirculação de solução nutritiva que ocorre na Nutrient Film Technique (NFT) em hidroponia proporciona maior condições de manejo de doenças no cultivo de alface, além de aumentar a precocidade e produtividade das plantas (DALASTRA *et al.*, 2020). O cultivo em sistema hidropônico tem reduzido o consumo de água na produção de hortaliças, e ainda aumenta a eficiência do uso da água (EUA), que é essencial para mitigar a crise hídrica global (KAPPEL *et al.*, 2021). Além de proporcionar o aumento da absorção e concentração de nutrientes nas plantas de alface (AINI *et al.*, 2019).

O uso de soluções nutritivas com maior condutividade elétrica no cultivo hidropônico, pode propiciar aumento da eficiência da absorção de nutrientes pelas plantas e seu transporte para parte aérea das plantas de alface (AINI *et al.*, 2019; MOREIRA *et al.*, 2022), como a concentração ou acúmulo de nitrato (NO_3^-) nas folhas (OLIVEIRA *et al.*, 2022; MOREIRA *et al.*, 2022), o aumento

do NO_3^- na parte aérea das plantas de alface não é benéfico para o sabor e saúde humana (MOREIRA *et al.*, 2022). Neste sentido, estudos evidenciam que algumas espécies de *Pseudomonas* spp. tem a capacidade de aumentar a atividade da enzima nitrato redutase nas plantas e proporcionar redução do nitrato nas plantas inoculadas (VITOR *et al.*, 2013; KALANTARI *et al.*, 2022).

O uso de alternativas para aumentar a produtividade sem aumentar o consumo de produtos químicos como os fertilizantes faz-se necessário para aumentar a sustentabilidade na produção de hortaliça no mundo. A inoculação com *Pseudomonas* spp. tem sido uma tecnologia utilizada para aumentar a aquisição de nutrientes, o crescimento, o aproveitamento de água e ainda ganhos de rendimento, em diversas plantas cultivadas (CARDOSO *et al.*, 2019; KANG *et al.*, 2019; CHU *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2021; LI *et al.*, 2022). A inoculação com *Pseudomonas fluorescens* foi anteriormente associada a diversos mecanismos que promovem o crescimento das plantas, como o aumento da produção de fitormônios, sideróforos e compostos secundários, além de promover aumento da aquisição de nutrientes pelas plantas (KANG *et al.*, 2019).

A inoculação de *P. fluorescens* em alface promoveu aumento da concentração de N, P, K e clorofila foliar, fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática, eficiência do uso da água e massa fresca da parte aérea e raízes em relação à ausência de inoculação (CARDOSO *et al.*, 2019). Além disso, estirpes de *Pseudomonas* tem se destacado como fixadoras de nitrogênio, conseguindo assim reduzir o consumo de fertilizantes nitrogenados e aumentando a eficiência produtiva (LI *et al.*, 2017).

Com a intenção de produzir alimentos saudáveis e de qualidade, reduzir o consumo de fertilizantes e aumentar a produtividade da alface em cultivo hidropônico, seria interessante utilizar a *P. fluorescens* na solução nutritiva para melhorar o cultivo de alface na hidroponia. Pela escassez de estudos relacionados à inoculação neste sistema de cultivo, pesquisas para encontrar a dose ideal do inoculante são importantes. Logo, estabeleceu-se as hipóteses de estimar a dose do inoculante via solução nutritiva com *P. fluorescens* que consiga proporcionar aumento de componentes produtivos, fisiológicos, nutricionais, econômicos na dose correta. Portanto, o objetivo do estudo foi verificar os efeitos de doses de *P. fluorescens* no crescimento das plantas,

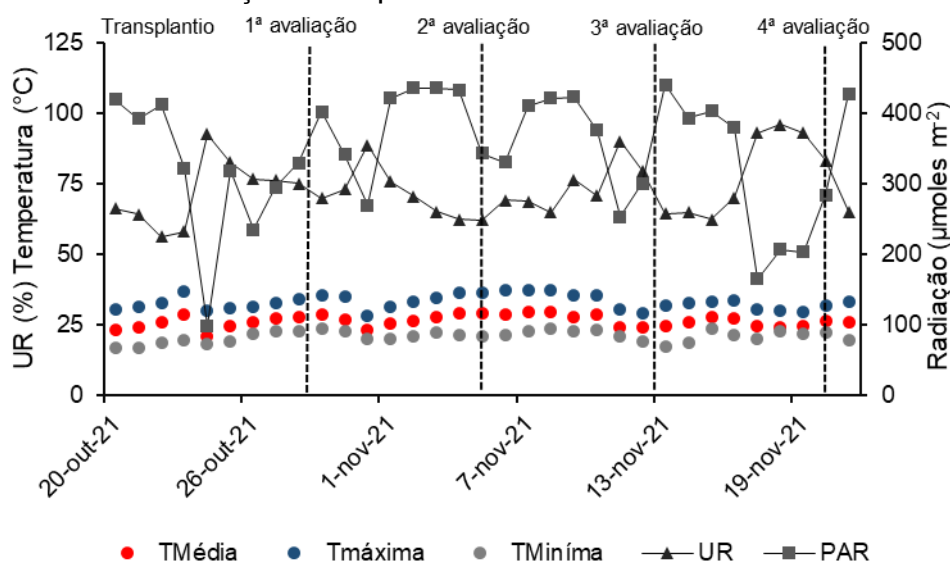
acúmulo de nutrientes, acúmulo de NO_3^- e NH_4^+ , concentração de pigmentos fotossintéticos, trocas gasosas, atividade da enzima nitrato redutase e análise econômica de alface americana cultivada em sistema hidropônico.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Localização e caracterização de cultivo

O sistema de cultivo NFT de alface hidropônica foi desenvolvida em cultivo protegido com 30% de sombreamento, na Universidade Estadual Paulista - (UNESP), Ilha Solteira – SP, com coordenadas geográficas (20° 25'07"S 51° 20 '31"W) e uma altitude de 376 m. Os dados meteorológicos foram coletados da área externa da estufa de uma estação meteorológica automática da UNESP, entre o período de 20 de outubro a 21 de novembro de 2021 (Figura 45).

Figura 45 - Condições climáticas de umidade relativa do ar (UR), temperatura máxima (T_{Máxima}), média (T_{Média}) e mínima (T_{Mínima}) e radiação PAR durante a realização do experimento.

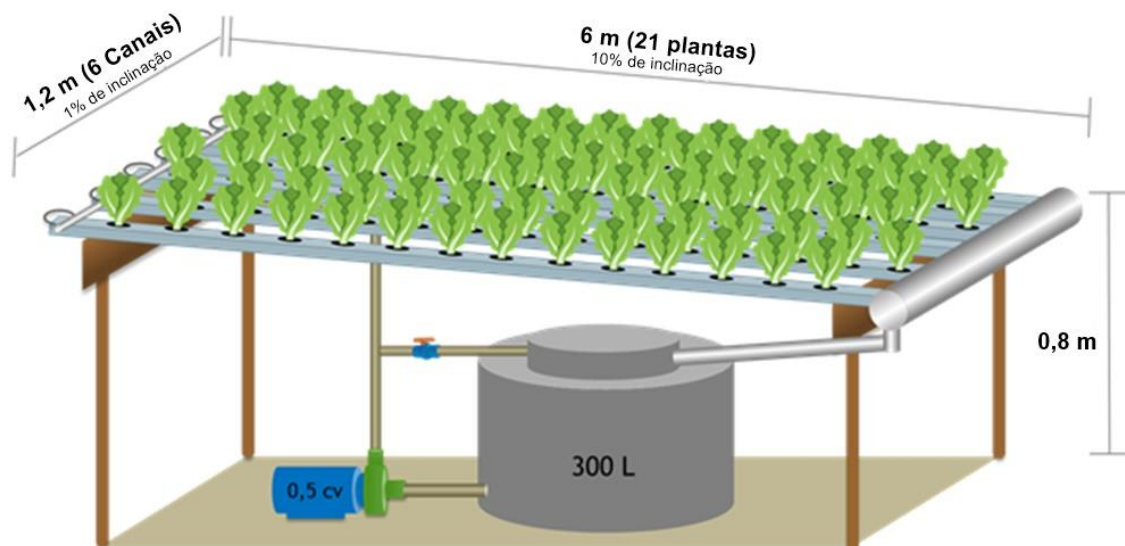


Fonte: Elaborado pelo autor.

No experimento instalado em sistema NFT continham bancadas individuais de seis metros de comprimento e 10% de declividade. Os canais de cultivo foram confeccionados em PVC com seção retangular de 8 cm de largura e 4 cm de altura e perfurações superiores, para acomodar plantas a cada 25 cm (Figura 46). Cada bancada consistia em 6 canais de cultivo distantes 20 cm com um sistema de bombeamento individual e um reservatório de 300L com

vazão de 1 L por minuto e período de exposição à solução nutritiva com fluxo contínuo.

Figura 46 – Esquema da bancada de condução dos experimentos, Ilha Solteira, SP, 2022.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com cinco repetições, cada unidade experimental foi constituída por 4 plantas de alface coletadas na bancada aleatoriamente dos 4 canais centrais da bancada hidropônica. Os tratamentos foram constituídos de doses de *P. fluorescens* estirpe CCTB03 (garantia de 1×10^8 UFC mL⁻¹), sendo as doses de 0 (testemunha não inoculada), 8; 16; 32 e 64 mL do inoculante líquido para cada 100 litros de solução nutritiva, aplicadas no dia do transplântio das mudas.

Utilizou-se a alface cultivar Angelina, que segundo informações da Sakata (2022), são plantas vigorosas, com excelente formação de saia, cabeças fechadas, compactas e uniformes em campo aberto e em hidroponia, nível moderado de resistência à bacteriose, folhas verdes intensas e brilhantes, segurança de plantio em períodos de oscilações climáticas (alta adaptação às condições de cultivo tropical).

As mudas foram desenvolvidas em espuma fenólica por 15 dias e posteriormente transplantadas para bancadas permanentes do sistema NTF, onde permaneceram por 31 dias até a colheita. Foi realizada uma aplicação via solução nutritiva de inseticida sistêmico com princípio ativo imidacloprido

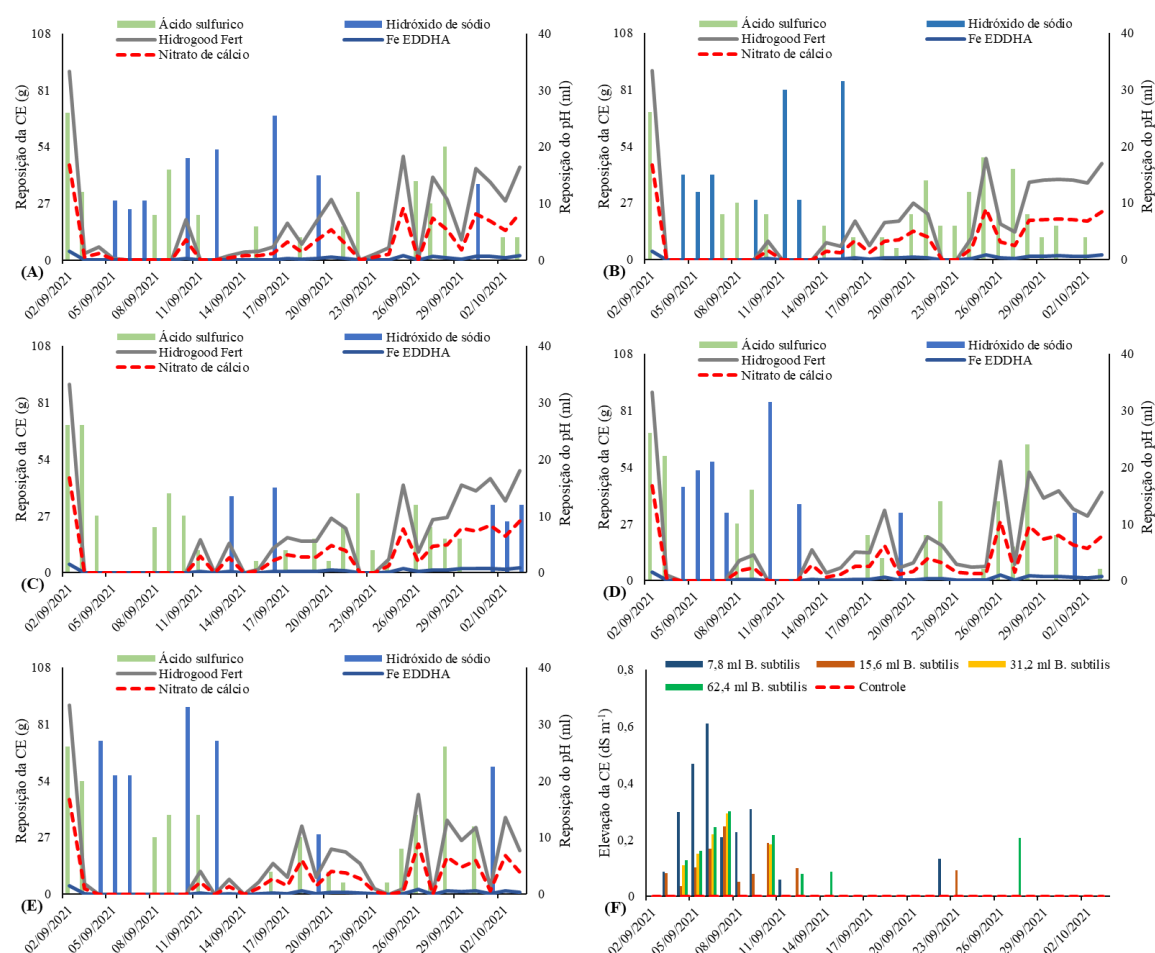
(neonicotinoides) na dose de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ para o controle de tripes (*Frankliniella schultzei*) aos 10 dias após transplântio (DAT).

A solução nutritiva foi composta por fertilizantes concentrados Hidrogood Fert Nacional na dose de $0,666 \text{ g L}^{-1}$, indicada para todas as fases de desenvolvimento da cultura, com as seguintes concentrações de nutrientes (%): 10 de N, 9 de P, 28 de K, 4,3 de S, 3,3 de Mg, 0,06 de B, 0,01 de Cu, 0,05 de Mn, 0,07 de Mo e 0,02 de Zn; também utilizou-se o Nitrato de Cálcio na dose de $0,495 \text{ g L}^{-1}$ com as seguintes concentrações de nutrientes (%): 15,5 de N e 26,5 de Ca; e o Hidrogood Fert Ferro EDDHA 6% de Fe na dose de $0,020 \text{ g L}^{-1}$.

A medição e correção da condutividade elétrica (CE) e do pH foram realizadas diariamente pela manhã, nesta ocasião a CE foi reajustada para a CE determinada para cada bancada de cultivo com a reposição de fertilizantes se necessário. Adicionalmente, foi realizado no 1°, 8°, 16° e 24°DAT a suplementação com 35 mg L^{-1} de KCl para melhorar o estado hídrico das plantas pelo efeito das elevadas temperaturas da região (determinação realizada em estudos prévios, pois a não suplementação proporcionou murcha nas plantas e queima nas bordas no período de maior calor diário) (Informação pessoal).

A condutividade elétrica inicial foi de $1,3 \text{ dS m}^{-1}$, sendo este valor elevado de acordo com o estágio de cultivo e sua resposta à adubação, conforme descrito por Dalastra (2017). No 11° DAT, elevou-se a CE determinada para $1,5 \text{ dS m}^{-1}$ e aos 21° DAT foram elevadas para $1,7 \text{ dS m}^{-1}$, que permaneceu até a colheita. Para manter o pH da solução entre 6,0 e 6,5, foi utilizado ácido sulfúrico (25%) quando pH estava acima de 6,5, e hidróxido de sódio (25%) quando o pH ficou abaixo de 6,0. A reposição dos fertilizantes para aumentar a condutividade elétrica e ajuste no pH da solução nutritiva constam nas Figuras 47A, 47B, 47C, 47D e 47E. O efeito da inoculação na solução nutritiva causou elevação da CE sem adição de nutrientes (possivelmente pela fixação biológica de nitrogênio “FBN”) e desta forma evitou a reposição de nutrientes na solução nutritiva por um período maior, pois mesmo com as plantas crescendo, foi observado elevações diárias da condutividade elétrica da solução nutritiva sob o efeito da inoculação (Figura 47F).

Figura 47 – Correção do pH e reposição condutividade elétrica (CE) em sistema hidropônico NFT com cultivo de alface americana (cultivar Angelina) no tratamento controle (A), com a inoculação de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva na dose 8 mL 100 L⁻¹ (B) 16 mL 100 L⁻¹ (C), 32 mL 100 L⁻¹ (D), 64 mL 100 L⁻¹ (E) e a elevação da CE ocasionada pela inoculação (F) no período do experimento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.3 Avaliações biométricas

As avaliações foram realizadas aos 10, 17, 24 e 31 DAT das mudas de alface, no momento da colheita de cada avaliação foi realizada a colheita da matéria fresca do sistema radicular e da parte aérea, quantificou-se o comprimento da parte aérea e das raízes, e o índice de clorofila foliar, utilizando clorofilog Falker CFL-1030 (FALKER, 2008). Em seguida, o material foi enviado para secagem em estufa de ventilação forçada a 60 °C por 72

horas, para a obtenção da matéria seca do sistema radicular e da parte aérea. A produtividade da cultura foi baseada na população de plantas de 19,5 plantas m^{-2} , conforme a equação XVII:

$$\text{XVII. } \textit{Prod} = \textit{MFF} * \textit{PP}$$

Prod: produtividade (kg m^{-2});

MFF: massa fresca das folhas (kg planta^{-1});

PP: população de plantas (plantas m^{-2}).

5.2.4 Avaliações nutricionais

Após secagem, pesagem e trituração dos materiais vegetais em moinho Wiley, foram determinados segundo a metodologia de Malavolta *et al.* (1997), as concentrações de N, P, K, S, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, B e Zn na parte aérea da alface em todas as avaliações. Para as raízes a quantificação de nutrientes foi realizada apenas na avaliação final aos 31 DAT. Na avaliação final foi determinada a concentração de nitrato e amônio nas folhas e raízes de acordo com a metodologia descrita por Silva (2009). O acúmulo de nutrientes na parte aérea e nas raízes das plantas foi calculado com base nas respectivas produtividades de massa seca e concentração de nutrientes nas plantas conforme a equação XVIII:

$$\text{XVIII. } \textit{AC} = \textit{PMS} * \textit{PP}$$

AC: acúmulo de nutrientes (g ou mg m^{-2});

PMS: produtividade de massa seca (kg m^{-2});

CN: concentração de nutrientes (g ou mg kg^{-1}).

5.2.5 Avaliações trocas gasosas e estado hídrico da folha

A avaliação de trocas gasosas foi realizada em pelo menos oito plantas por tratamento aos 17 e 31 DAT das mudas, no período entre as 9 h e as 11 h da manhã, em folhas totalmente expandidas localizada na parte mediana da planta, para tanto, foi utilizado um analisador de gás infravermelho (Infra Red Gas Analyser - CIRAS-3, modelo CRS300), sendo as condições inicialmente impostas de $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), 380 ppm de CO_2 e temperatura da câmara em 28°C . Na ocasião foram mensuradas a concentração interna de carbono ($\text{Ci- } \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática ($\text{gs-mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração ($\text{E- mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e

taxa de fotossíntese líquida (A - $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a eficiência do uso da água (EUA- $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$).

Na avaliação final foi determinado o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas celulares (IIM). O estado da água das plantas foi determinado pelo teor de água relativo da folha (CRA). O CRA foi calculado de acordo com a equação XIX:

$$\text{XIX. CRA (\%)} = \left[\frac{(MF - MS)}{(MT - MS)} \right] * 100$$

Dez discos de folhas de 25 mm de diâmetro foram coletados às 8 h da manhã (ao amanhecer) de quatro folhas de cada planta, e em seguida, pesado imediatamente para a determinação de massa fresca (MF). Para a medição de massa túrgida (MT), discos de folhas foram submersos por 12 h em água destilada em 25 °C; depois disso, foram secados suavemente em uma toalha de papel e pesados. As amostras foram então secas em estufa a 75 °C por 24 horas e pesadas para determinar a massa seca (MS).

O Índice de estabilidade da membrana da folha (IIM), de acordo com Lutts *et al.* (1996), utilizando-se dez discos foliares (25 mm de diâmetro) de quatro folhas da planta, foram lavadas em água destilada, colocadas em tubos contendo 50 mL de água deionizada, e mantida a 25 °C em banho-maria por 6 h. A condutividade elétrica da solução foi analisada com medidor de CE (C1). Posteriormente, as amostras foram colocadas em banho-maria (100 °C) por 1 h, e a condutividade elétrica (C2) foi avaliada após equilíbrio a 25 °C. O índice de estabilidade de membranas celulares foi estimado de acordo com a seguinte equação XX:

$$\text{XX. IIM} = \left[1 - \left(\frac{C1}{C2} \right) \right] * 100$$

5.2.6 Avaliações enzimáticas, clorofila, aminoácidos e carboidratos

A atividade da enzima nitrato redutase (NR) *in vivo* foi determinada de acordo com a metodologia de Radin (1974). Foram coletadas a 2ª e 3ª folha completamente expandidas a partir do ápice entre as 9 e 10 hrs da manhã para evitar grandes interferências da intensidade luminosa sobre a atividade da enzima e de clorofila foliar. Amostras de tecido foliar fresco foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório em gelo, e lavadas com água deionizada. Em seguida, 100 mg de tecido fresco cortado

em discos foram transferidos para tubos de ensaio contendo 3 mL de solução tampão fosfato pH 7,4 (50 mmol L^{-1} + $200 \text{ mmol L}^{-1} \text{ KNO}_3$).

Estas amostras foram infiltradas a vácuo durante 2 min para aumentar a penetração da solução nos tecidos. Em seguida, os tubos de ensaio foram incubados em banho-maria a 33°C por 30 minutos envoltos em papel alumínio contra a luz. A reação foi interrompida pela adição de 1 mL de sulfanilamida a 1% em solução de HCl 2 mol L^{-1} e, em seguida, 1 mL de solução de naftilenodiamina a 0,05%. O nitrito (NO_2^-) produzido foi medido em espectrofotômetro a 540 nm, utilizando-se uma curva de calibração padrão de nitrito. A atividade da enzima esteve diretamente relacionada com a quantidade de NO_2^- e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de massa fresca (MF).

Os teores de clorofila a (Clo a), b (Clo b), (Clo t) e carotenóides (CAR) foram determinados usando-se o agente extrator DMSO. O peso fresco do tecido foliar (50 mg) foi cortado em fragmentos de 1 mm e incubado em 7 mL de DMSO no escuro em banho-maria a 65°C por 30 min (HISCOX; ISRAELSTAM, 1979). Após as leituras no espectrofotômetro, os teores dos pigmentos fotossintéticos foram calculados e expressos em mg g^{-1} MF. Conforme as equações XXI, XXII, XXIII e XXIV:

$$\text{XXI. } Clo a = (12.70 * ABS_{663}) - (2.69 * ABS_{645})$$

$$\text{XXII. } Clo a = (22.90 * ABS_{645}) - (4.68 * ABS_{663})$$

$$\text{XXIII. } Clo t = (20.20 * ABS_{663}) + (8.02 * ABS_{663})$$

$$\text{XXIV. } CAR = ((1000 * ABS_{470}) - (1.29 * Clo a - 53.38 * Clo b) \div 198)$$

Os aminoácidos totais foram quantificados com o método da ninidrina ácida (Yemm *et al.*, 1955). Foram utilizados 100 μL do extrato solúvel em água com 900 μL de H_2O , 500 μL de tampão citrato, 200 μL de ninidrina a 5% em metilglicol e 1 mL de solução de KCN 0,0002 M. As amostras foram aquecidas em banho-maria a 100°C por 20 min e colocadas para resfriar em temperatura ambiente para posterior inclusão de 1 mL de etanol 60%. A determinação foi realizada em espectrofotômetro a $\lambda = 570 \text{ nm}$ com os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

Os carboidratos totais foram determinados de acordo com o método da anthrone descrito por Yemm e Willis (1954). 1 mL do extrato solúvel em água foi adicionado a um tubo de ensaio com 1 mL de solução de anthrone (0,2%

em ácido sulfúrico), seguido de agitação e posterior incubação em banho-maria por 10 min e resfriamento em temperatura ambiente. Em seguida, a determinação foi realizada em espectrofotômetro em $\lambda = 620$ nm. A concentração de carboidratos totais foi medida por meio da curva padrão da solução de glicose e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

5.2.7 Análise econômica

A análise econômica foi realizada por meio da estrutura baseada no Custo Operacional Total (COT) de produção, utilizada pelo Instituto de Economia Agrícola (IEA), segundo Matsunaga *et al.* (1976), que consiste na soma dos custos de despesas: operações, insumos (fertilizantes, sementes, agroquímicos, inoculante, etc.), mão de obra, maquinários e sistema de irrigação, denominado Custo Operacional Efetivo (COE). Além disto o COT, considerou outras despesas e taxas de juros, representando 5,0% do COE (MATSUNAGA *et al.*, 1976), resultando no custo operacional total (COT), que foi extrapolado para um hectare.

5.2.8 Análise estatística

Como os dados de todas as variáveis apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas (Shapiro Wilk-Test), foram submetidos à análise de variância. A significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância foi testada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. As médias relativas aos níveis do inoculante foram ajustados em forma de regressão a 5% de probabilidade. Usando o pacote corrplot para avaliar a correlação os componentes produtivos, fisiológicos e nutricionais usando o software R (R Core Team 2015).

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Efeito das doses de *P. fluorescens* sobre o crescimento das plantas

Observou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre o comprimento da parte aérea e das raízes de alface aos 10, 17 e 24 DAT, e houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre o comprimento da parte aérea e das raízes na 31 DAT (Tabela 37).

Tabela 37 – Análise de variância dos valores de F calculado para o comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR) aos 10, 17, 24 e 31 DAT.

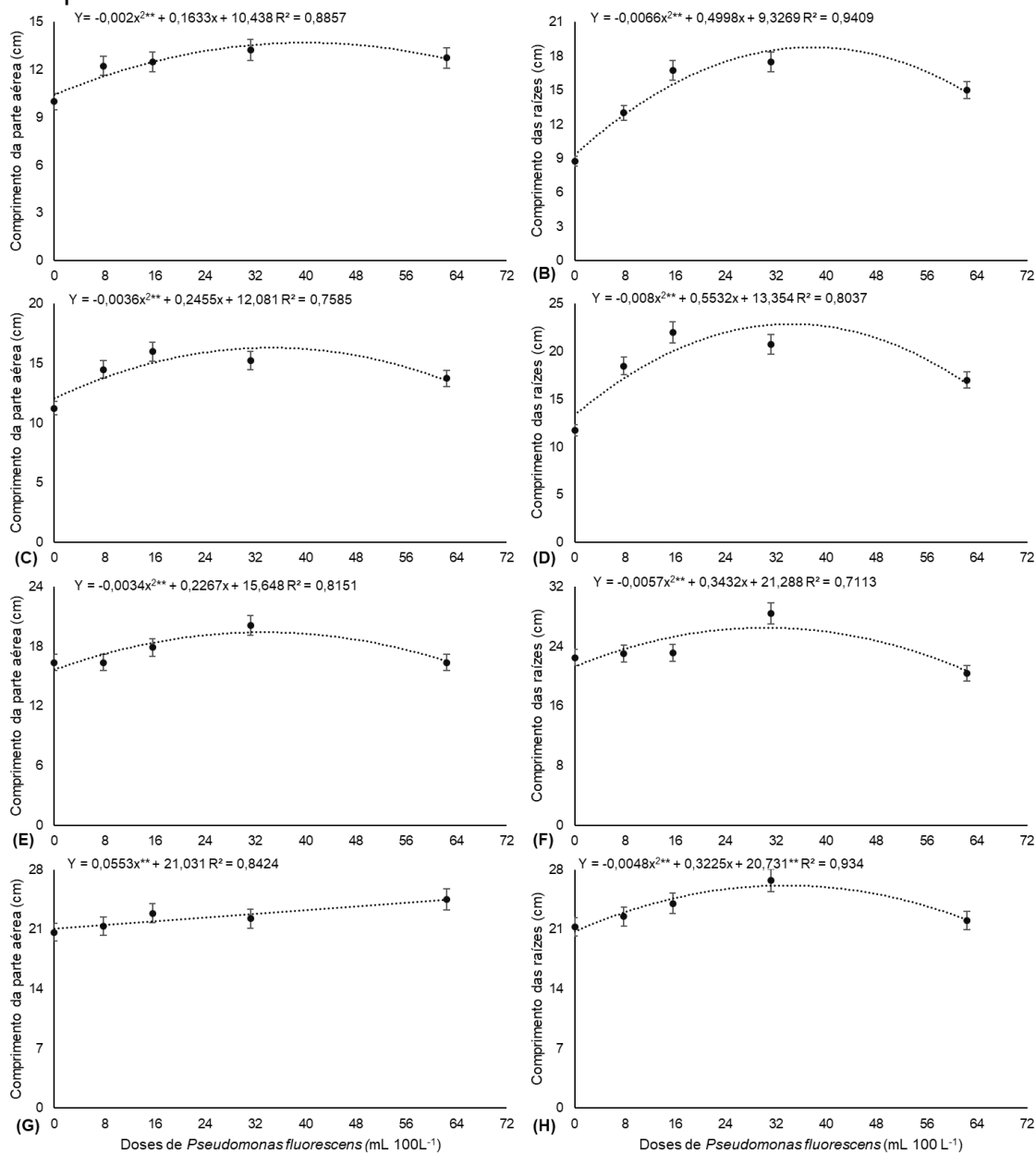
F.V.	CPA	CR	CPA	CR	CPA	CR	CPA	CR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,21ns	7,11**	0,74ns	1,62ns	1,57ns	0,20ns	1,80ns	0,77ns
Doses	7,09**	72,85**	16,83**	86,12**	8,65**	38,72**	4,43*	4,55*
CV (%)	7,77	5,79	6,29	4,78	5,97	7,12	5,74	7,56
Linear	11,22**	81,82**	3,48ns	17,83**	1,24ns	3,82ns	14,98**	4,47*
Quadrática	13,91**	192,36**	47,59**	259,03**	12,13**	43,92**	0,008ns	13,20**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve aumento do comprimento da parte aérea conforme o incremento das doses de *P. fluorescens* via solução nutritiva aos 31 DAT (Figura 48G). Nas demais avaliações notou-se aumento do comprimento da parte aérea calculada de 13,77; 16,27 e 19,45 cm na dose do inoculante estimada de 40, 34 e 33 mL 100 L⁻¹ de *P. fluorescens* com comprimento de 10,5; 27,2 e 30,4 cm aos 10, 17 e 24 DAT, respectivamente (Figuras 48A, 48C e 48E). Verificou-se aumento do comprimento das raízes até a dose do inoculante estimada de 37, 34, 30 e 33 mL 100 L⁻¹ de *P. fluorescens* com comprimento calculado de 18,8; 22,9; 26,45 e 27,2 cm aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 48B, 48D, 48F e 48H).

Figura 48 – Comprimento da parte aérea aos 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o comprimento das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre a massa fresca da parte aérea e das raízes de alface nas quatro épocas de avaliações (Tabela 38).

Tabela 38 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (MFR) aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

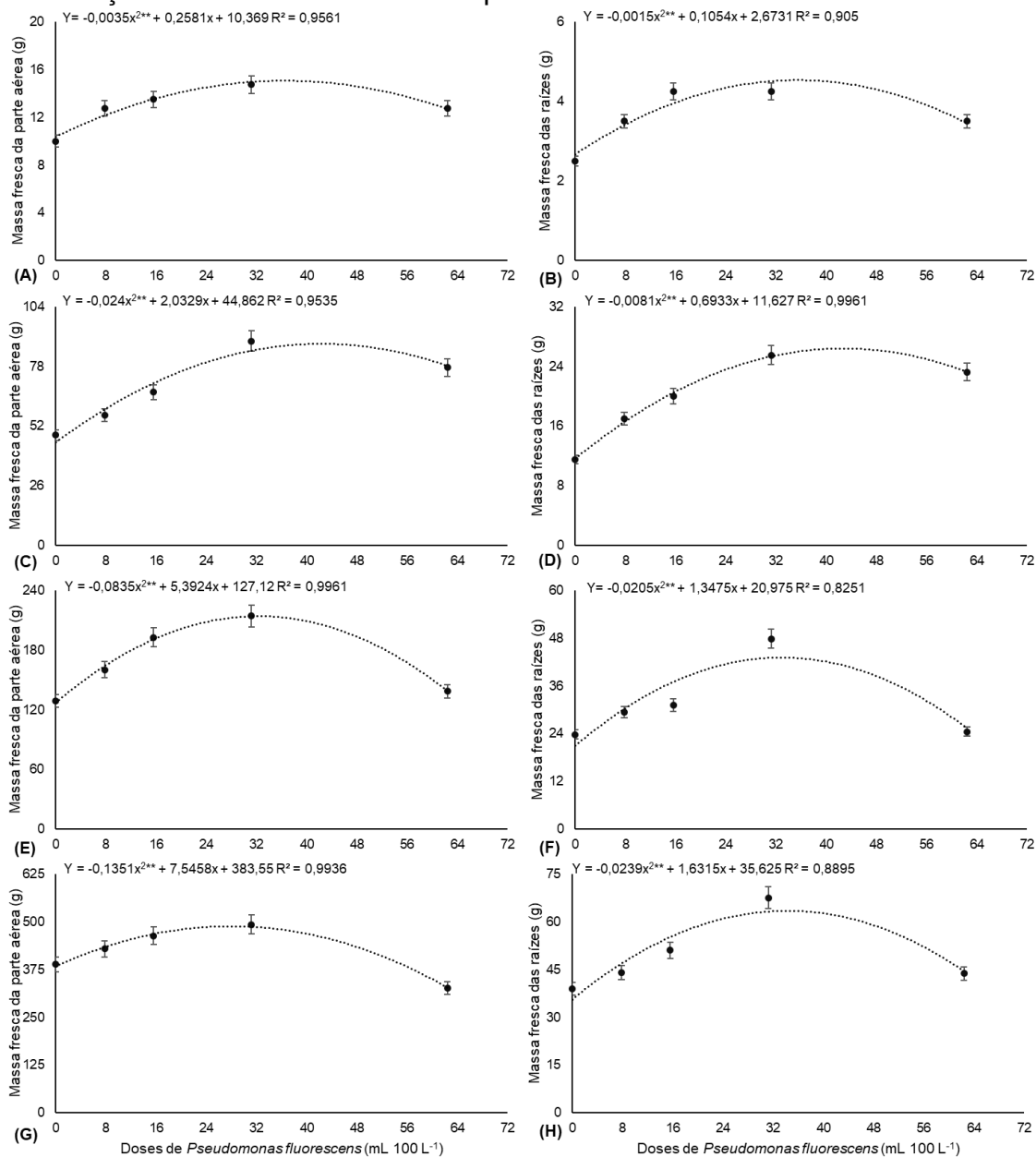
F.V.	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,25ns	0,39ns	0,49ns	0,80ns	2,31ns	0,67ns	0,86ns	0,52ns
Doses	16,72**	6,07**	118,4**	47,28**	42,57**	17,61**	39,19**	76,29**
CV (%)	6,68	16,24	4,42	8,21	6,34	15,37	4,09	5,65
Linear	12,45**	2,63ns	259,24**	111,19**	1,50ns	0,12ns	8,01*	28,67**
Quadrática	51,51**	19,35**	192,3**	77,17**	52,09**	37,56**	148,6**	255,9**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Aos 10, 17, 24 e 31 DAT, o *P. fluorescens* promoveu aumento da massa fresca da parte aérea até a dose de 36, 42, 32 e 27 mL 100 L⁻¹ de solução nutritiva com a maior massa fresca da parte aérea de 15,1; 86,12; 214,2 e 488,9 g planta⁻¹, respectivamente (Figuras 49A, 49C, 49E e 49G). Ao realizar a inoculação nas doses estimadas de 35, 42, 32 e 34 mL de *P. fluorescens* proporcionou-se massa fresca das raízes calculadas de 4,5; 26,5; 43,1 e 63,5 g planta⁻¹ aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 49B, 49D, 49F e 49H).

Figura 49 – Massa fresca da parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa fresca das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre a massa seca da parte aérea e das raízes da alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT (Tabela 39).

Tabela 39 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR) aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

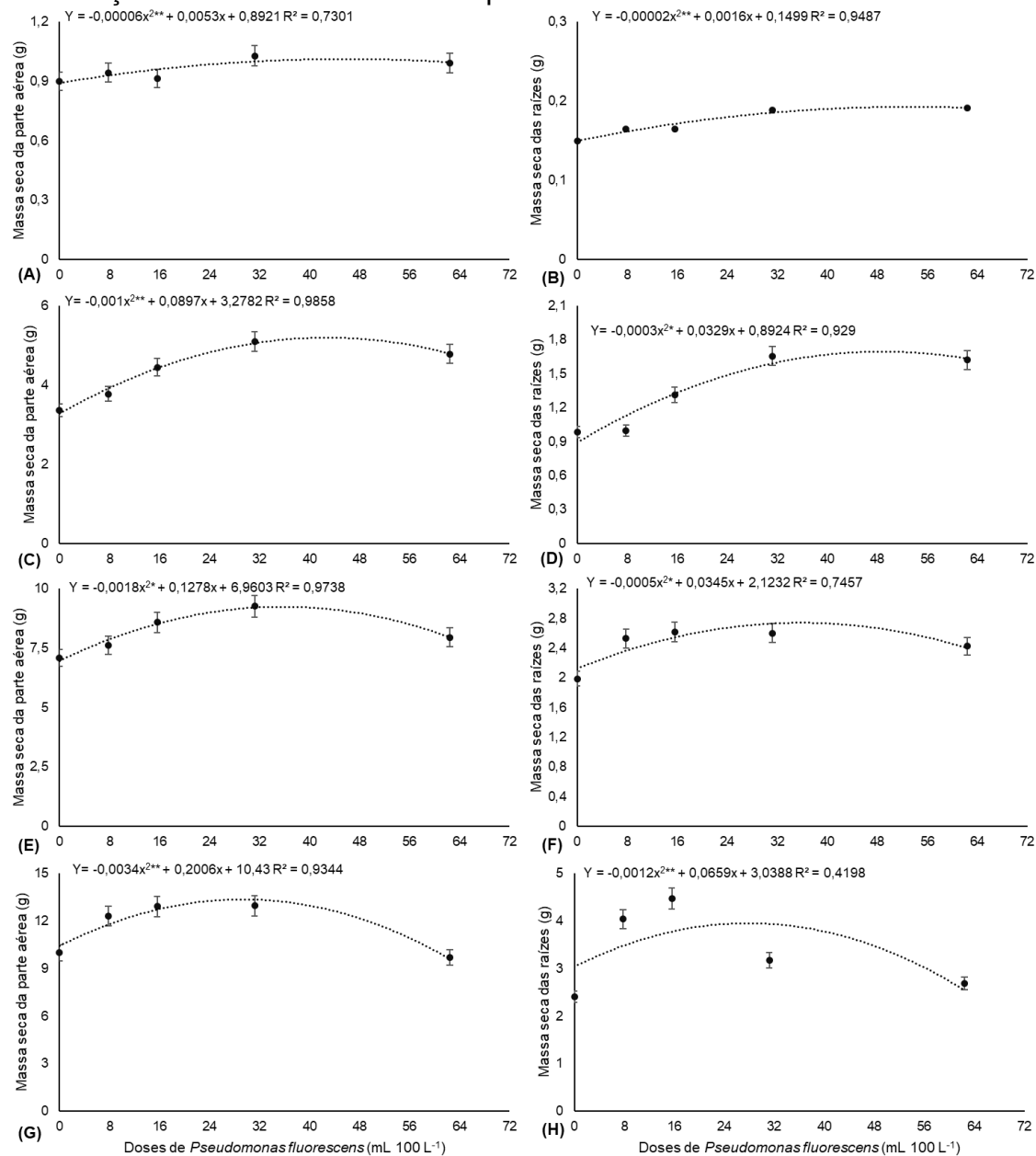
F.V.	MSPA	MSR	MSPA	MSR	MSPA	MSR	MSPA	MSR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,96ns	1,45ns	1,16ns	0,04ns	0,29ns	0,54ns	0,97ns	0,81ns
Doses	7,87**	8,51**	35,96**	10,87**	5,09**	6,69**	22,63**	32,22**
CV (%)	5,81	11,25	5,57	14,98	7,39	9,25	6,58	9,22
Linear	0,62ns	2,99ns	84,48**	31,66**	1,13ns	0,47ns	0,01ns	10,58**
Quadrática	16,59**	14,26**	57,32**	8,73*	4,78*	6,25*	87,15**	43,53**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Notou-se aos 10, 17, 24 e 31 DAT foi observado aumento da massa seca das raízes calculadas de 1,01; 1,8; 2,7 e 3,9 g planta⁻¹ nas doses estimadas de 44, 54, 34 e 27 mL de *P. fluorescens* respectivamente (Figuras 50B, 50D, 50F e 50H). A maior massa seca da parte aérea calculada de 1,01; 5,29; 9,23 e 13,39 g planta⁻¹ até as doses estimadas de 44, 44, 32 e 34 mL de *P. fluorescens* 100 L⁻¹ aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 50A, 50C, 50E e 50G).

Figura 50 – Massa seca da parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa seca das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre a produtividade de folhas frescas e número de folhas por planta aos 31 DAT (Tabela 40).

Tabela 40 – Análise de variância dos valores de F calculado para a produtividade de folhas e número de folhas por planta aos 31 dias após o transplântio (DAT).

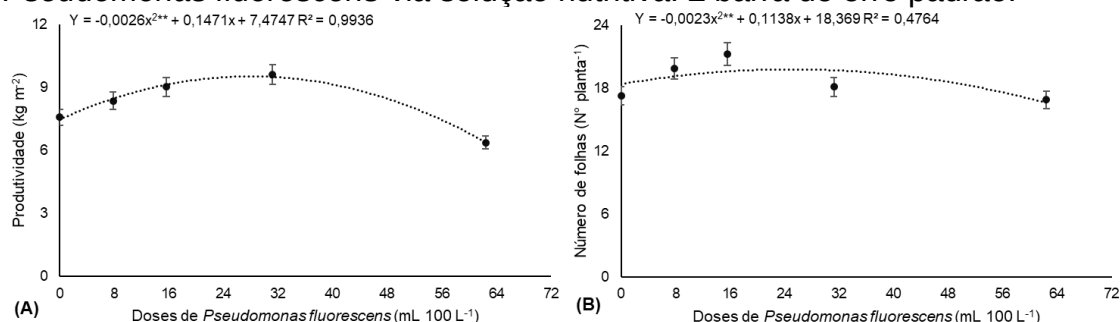
F.V.	Produtividade	Número de folhas
	31 DAT	
Bloco	1,36ns	0,90ns
Doses	36,36**	17,94**
CV (%)	4,40	4,67
Linear	15,55**	13,82**
Quadrática	129,15**	20,38**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se o aumento da produtividade e do número de folhas de alface quando inoculado com *P. fluorescens* na dose de 29 e 24 mL 100 L⁻¹ de solução nutritiva com produtividade máxima calculada de 9,55 kg m⁻² e 19,8 folhas planta⁻¹, respectivamente (Figuras 7A e 7B).

Figura 51 – Produtividade de massa fresca (A) e o número de folhas (B) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre índice de clorofila foliar (ICF) aos 10, 17 e 24 DAT, e significativo ($p \leq 0,05$) aos 31 DAT (Tabela 41).

Tabela 41 – Análise de variância dos valores de F calculado para o índice de clorofila foliar aos 10, 17, 24 e 31 DAT.

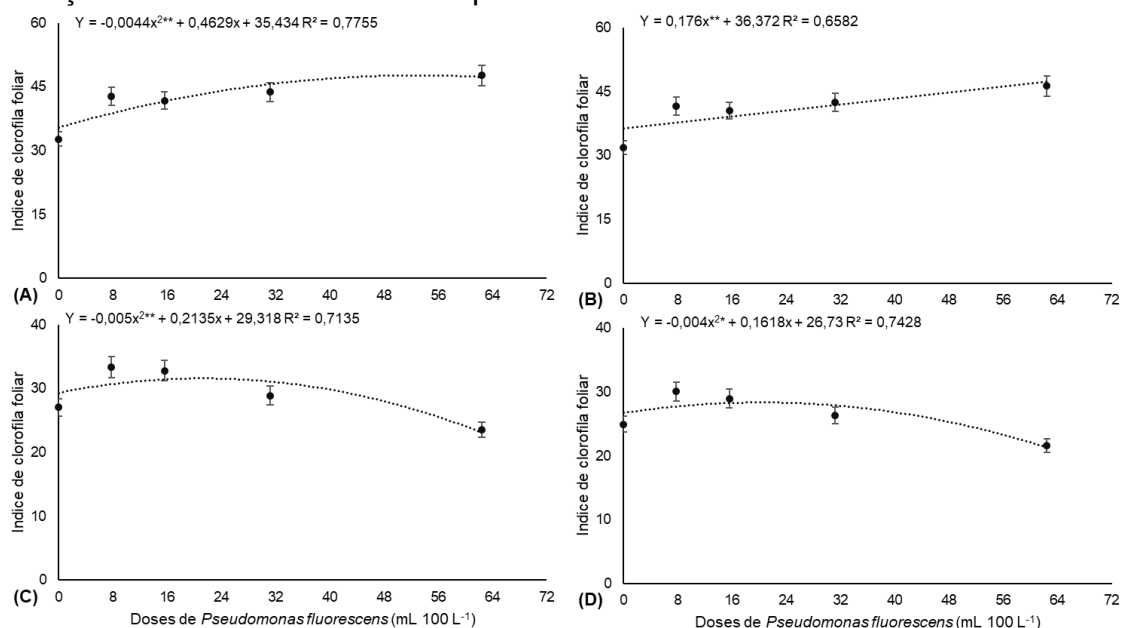
F.V.	Índice de clorofila foliar			
	10 DAT	17 DAT	24 DAT	31 DAT
Bloco	0,51ns	0,51ns	11,39**	0,69ns
Doses	7,86**	7,86**	42,58**	4,77*
CV (%)	9,42	9,42	6,24	11,32
Linear	20,70**	20,70**	61,71**	1,51ns
Quadrática	3,69**	3,69ns	7,33**	7,25*

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A inoculação com *P. fluorescens* aumentou o ICF até nas doses de 52, 21 e 20 mL 100 L⁻¹, com valores de ICF máximo calculado de 48, 31 e 28 aos 10, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 52A, 52C e 52D). Porém, aos 17 DAT houve aumento do ICF com aumento das doses de *P. fluorescens* (Figura 52B).

Figura 52 – Índice de clorofila foliar aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.2 Efeito das doses de *P. fluorescens* sobre o acúmulo de nutrientes na parte aérea

Reportou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre acúmulo de N na parte aérea nas quatro épocas de avaliações e no acúmulo de P aos 17, 24 e 31 DAT, e significativo ($p \leq 0,05$) no acúmulo de P aos 10 DAT (Tabela 42).

Tabela 42 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N e de P na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT.

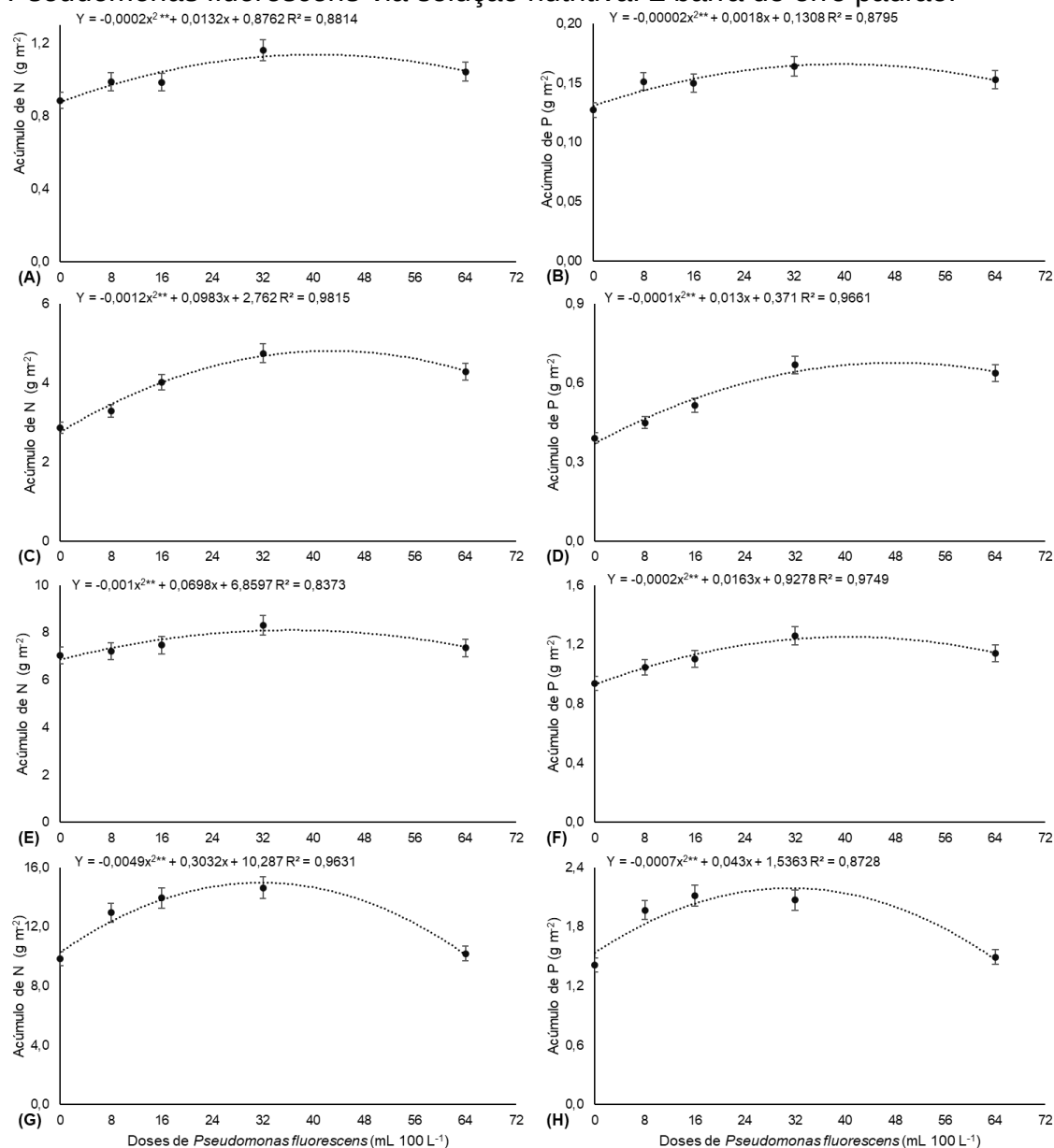
F.V.	N	P	N	P	N	P	N	P
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,63ns	0,80ns	0,26ns	0,21ns	1,05ns	1,10ns	0,91ns	1,62ns
Doses	7,87**	3,93*	18,38**	41,31**	29,41**	6,01**	11,02**	20,27**
CV (%)	7,07	9,20	9,21	6,98	3,07	9,50	10,66	8,17
Linear	11,20**	4,28ns	39,07**	116,81**	28,91**	8,77**	0,83ns	2,77ns
Quadrática	16,47**	9,29**	33,09**	42,41**	88,66**	4,99*	41,60**	68,10**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A dose de *P. fluorescens* estimada de 33, 40, 34 e 30 mL 100 L⁻¹ proporcionou maior acúmulo de N na parte aérea calculado de 1,09; 4,78; 8,08 e 14,98 g m⁻² aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 53A, 53C, 53E e 53G). O maior acúmulo de P na parte aérea calculado foi de 0,17; 0,79; 1,26 e 2,20 g m⁻² nas doses de *P. fluorescens* estimada de 45, 65, 40 e 30 mL aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 53B, 53D, 53F e 53H).

Figura 53 – Acúmulo de nitrogênio na parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de fósforo na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.

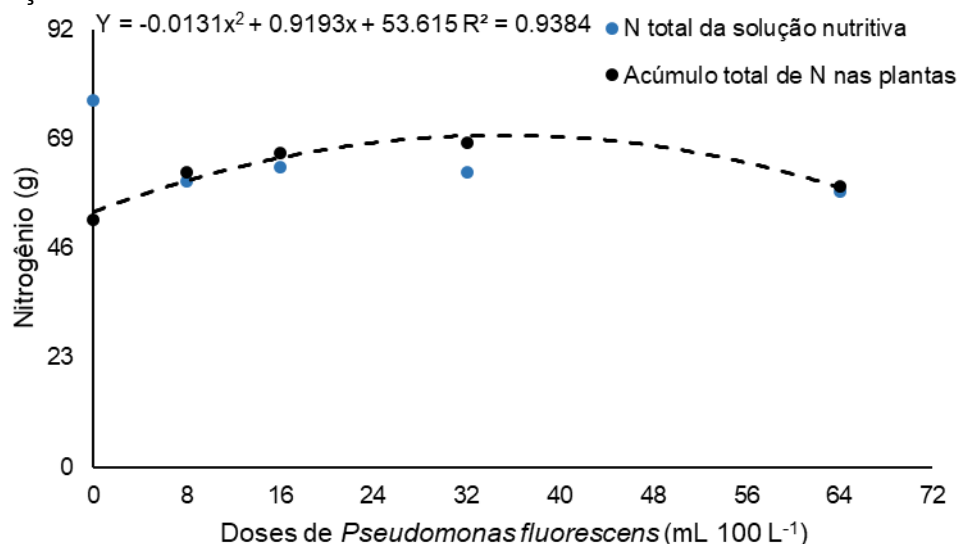


Fonte: Elaborado pelo autor.

O fornecimento de nitrogênio na dose $0 \text{ mL } 100 \text{ L}^{-1}$ foi maior que o acúmulo de nitrogênio em todas as plantas cultivadas nesta tratamentos, demonstrando baixa eficiência do uso dos fertilizantes nitrogenados, como ocorreu na maior dose (64 mL) onde o *P. fluorescens* em excesso competiu com as plantas pelo fertilizante fornecido. Por outro lado, nas doses de 8, 16 e 32 mL de *P. fluorescens* se observou maior acúmulo de N nas plantas (3, 5 e

10%, respectivamente) em relação ao nitrogênio fornecido via solução nutritiva (Figura 10).

Figura 54 – Acúmulo de nitrogênio total nas plantas de alface em toda bancada de cultivo hidropônico e o fornecimento total de nitrogênio via solução nutritiva em todo período de cultivo em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Notou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre acúmulo de K na parte aérea aos 10, 17, 24 e 31 DAT e de S aos 31 DAT, e significativo ($p \leq 0,05$) para acúmulo de S aos 10 e 17 DAT, e houve efeito não significativo ($p > 0,05$) sobre o acúmulo de S na parte aérea aos 24 DAT (Tabela 43).

Tabela 43 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de K e de S na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

F.V.	K	S	K	S	K	S	K	S
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,29ns	0,68ns	0,13ns	3,36ns	0,46ns	0,99ns	2,87ns	3,78*
Doses	16,92**	3,64*	8,32**	4,26*	4,18*	3,04ns	46,99**	35,90**
CV (%)	10,27	14,90	21,58	15,76	18,46	15,77	9,13	8,98
Linear	0,004ns	0,57ns	11,51**	9,28**	1,38ns	0,69ns	8,84*	14,60**
Quadrática	66,52**	7,45**	12,08**	1,94ns	6,99*	1,39ns	173,96**	77,66**

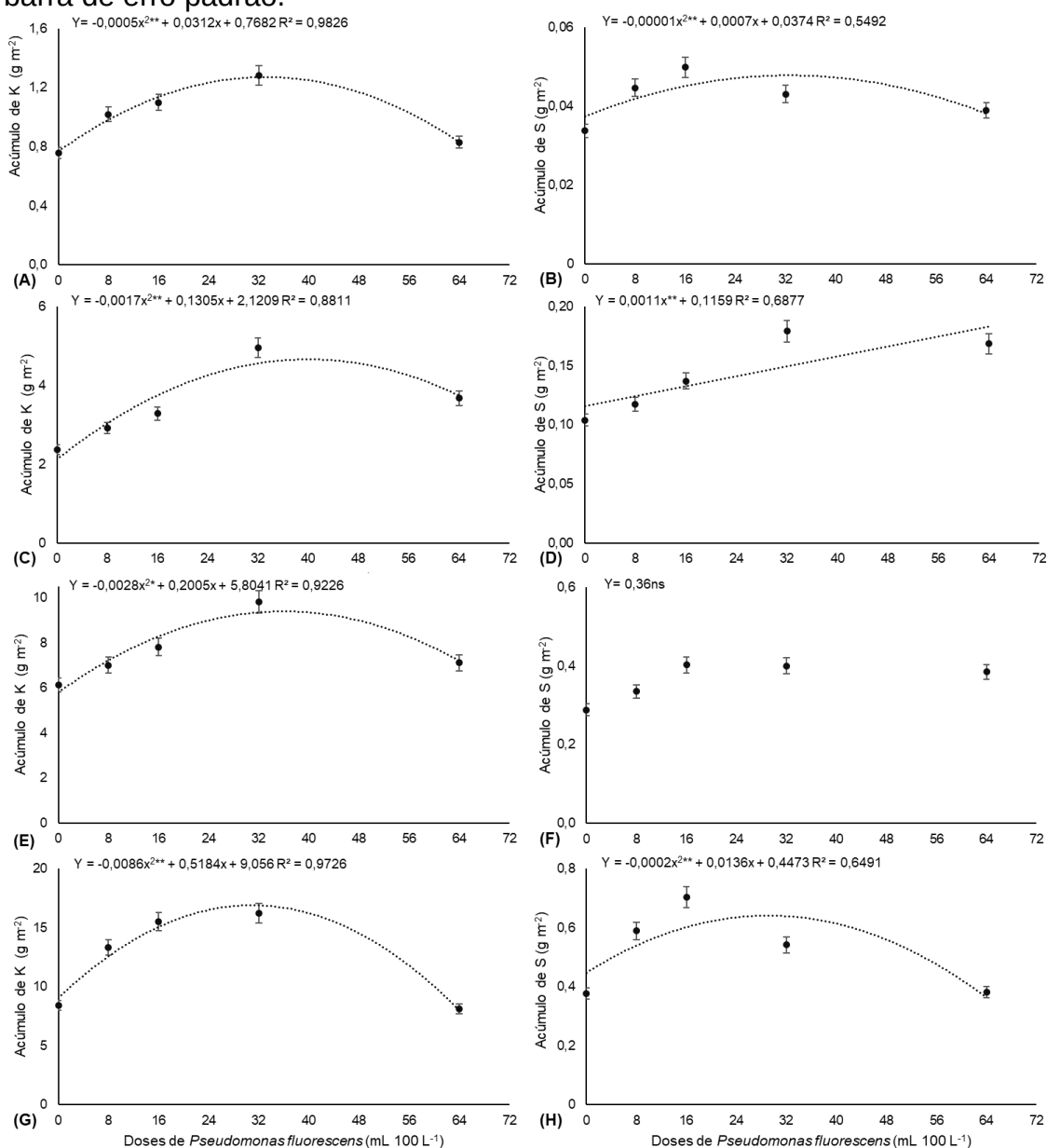
ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As doses de *P. fluorescens* estimadas de 31, 38, 35 e 30 mL 100 L⁻¹ proporcionaram maior acúmulo de K na parte aérea calculado de 1,25; 4,62; 9,39 e 16,87 g m⁻², respectivamente (Figuras 55A, 55C, 55E e 55G). Não

houve efeito significativo das doses de *P. fluorescens* sobre o acúmulo de S na parte aérea aos 24 DAT, hou aumento do acúmulo de S conforme houve aumento das doses de *P. fluorescens* via solução nutritiva aos 17 DAT (Figura 55D e 55F). Houve um aumento do acúmulo de S na parte aérea de alface (0,05 e 0,68 g m⁻²) nas doses estimadas de 35 e 34 mL de *P. fluorescens* 100 L⁻¹ aos 10 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 55B e 55H).

Figura 55 – Acúmulo de potássio na parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de enxofre na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre acúmulo de Ca na parte aérea aos 10, 17 e 31 DAT, e de acúmulo de Mg aos 17, 24 e 31 DAT, e não significativo ($p > 0,05$) para acúmulo de Mg na parte aérea aos 10 DAT e acúmulo de Ca aos 24 DAT (Tabela 44).

Tabela 44 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Ca e de Mg na parte aérea das plantas de alface americana aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

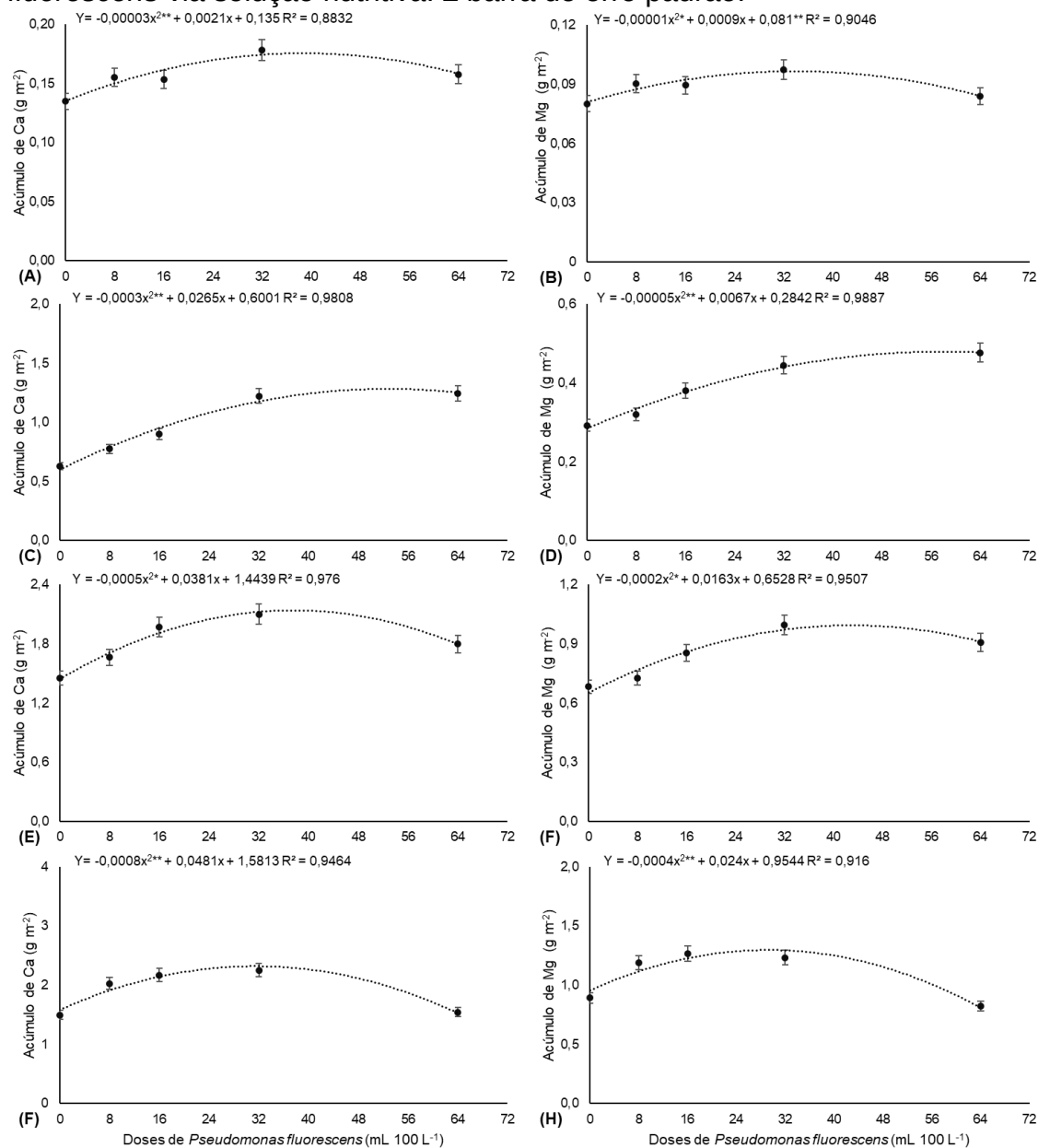
F.V.	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,66ns	0,52ns	0,36ns	0,46ns	0,75ns	0,54ns	2,08ns	1,90ns
Doses	6,10**	1,96ns	94,81**	34,27**	2,91ns	5,89**	21,23**	12,34**
CV (%)	7,88	10,52	5,84	6,96	16,62	12,62	8,13	10,94
Linear	5,16*	0,18ns	308,50**	121,16**	0,18ns	0,48ns	2,47ns	7,03*
Quadrática	17,28**	7,07*	63,36**	14,67**	5,85*	6,68*	78,00**	38,09**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O maior acúmulo de Ca calculado foi de 0,17; 1,18; 2,17 e 2,30 g m⁻² na dose de *P. fluorescens* estimada de 35, 44, 38 e 30 mL 100 L⁻¹ aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 56A, 56C, 56E e 56G). A dose estimada de *P. fluorescens* de 45, 63, 40 e 30 mL 100 L⁻¹ proporcionou acúmulo de Mg calculado de 0,10; 0,51; 0,98 e 1,31 g m⁻² aos 10, 17, 24 e 31 DAT respectivamente (Figuras 56B, 56D, 56F e 56H)

Figura 56 – Acúmulo de cálcio na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de magnésio na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre acúmulo de Cu na parte aérea nas quatro épocas de avaliações e de acúmulo de B aos 10, 17 e 31 DAT, e significativo ($p \leq 0,05$) para acúmulo de B aos 24 DAT (Tabela 45).

Tabela 45 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B e de Cu na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

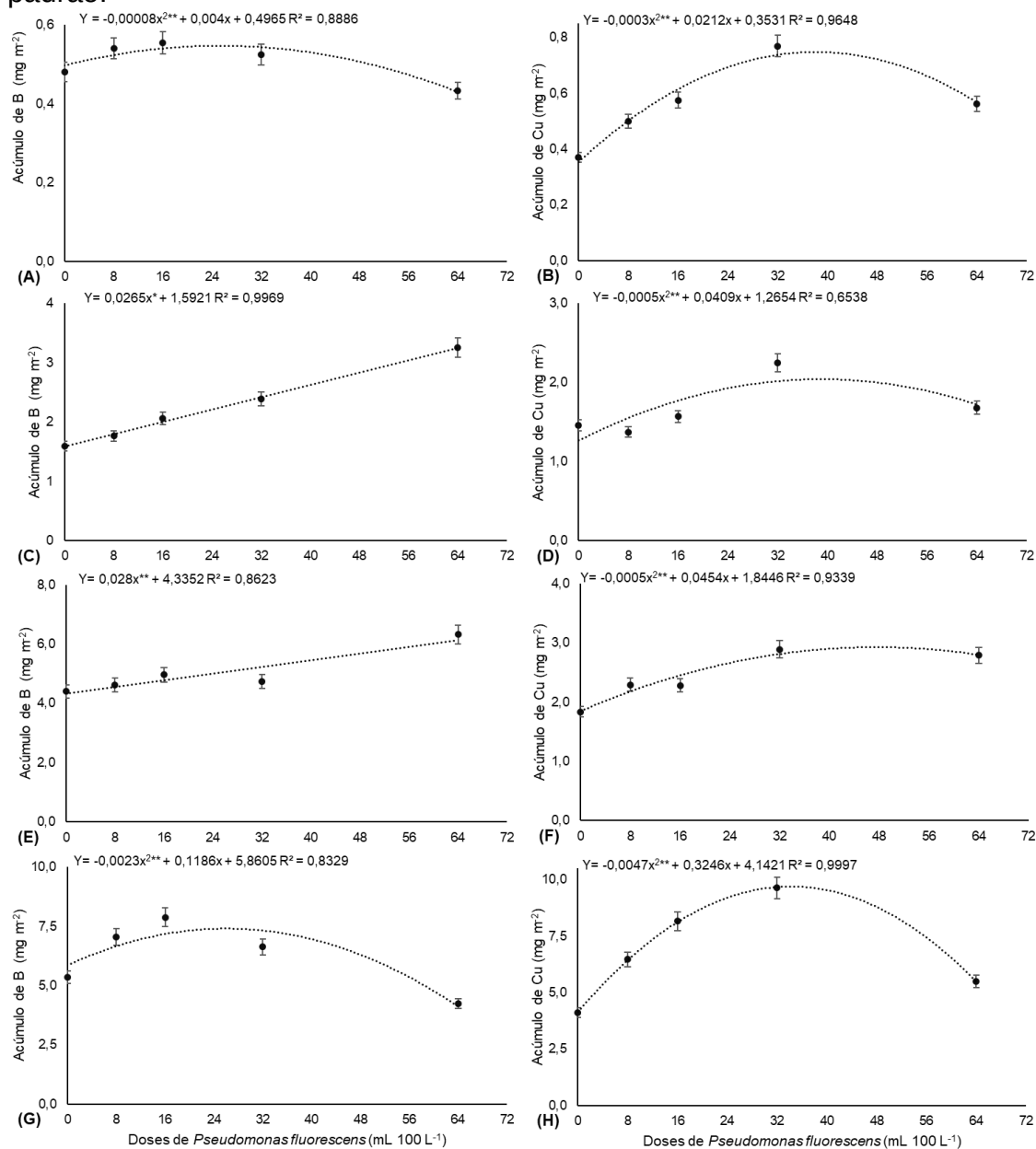
F.V.	B	Cu	B	Cu	B	Cu	B	Cu
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,95ns	0,96ns	0,65ns	1,48ns	0,45ns	0,39ns	1,79ns	1,41ns
Doses	5,86**	25,54**	30,66**	5,69**	4,50*	13,02**	18,79**	75,46**
CV (%)	8,04	10,35	10,71	17,38	1435	9,80	10,66	7,40
Linear	9,18**	23,86**	122,23**	4,58ns	12,67**	35,39**	23,71**	5,27*
Quadrática	11,92**	74,91**	0,005ns	10,33**	3,90ns	13,28**	38,92**	296,5**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi observado o aumento do acúmulo de B na parte aérea das plantas de alface conforme o incremento da dose de *P. fluorescens* via solução nutritiva aos 17 e 24 DAT (Figuras 57C e 57E). O maior acúmulo de B na parte aérea calculado aos 10 e 31 DAT foi de 0,55 e 7,39 mg m⁻², na dose calculada de 25 e 25 mL de inoculante respectivamente (Figuras 57A e 57G). Houve aumento do acúmulo de Cu calculado na parte aérea de 0,73; 2,10; 2,87 e 9,75 mg m⁻² nas doses de *P. fluorescens* calculadas de 35, 40, 45 e 34 mL 100 L⁻¹ aos 10, 17, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 57B, 57D, 57F e 57H).

Figura 57 – Acúmulo de boro na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de cobre na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre acúmulo de Zn na parte aérea aos 10, 17 e 31 DAT e de Fe aos 10, 24 e 31 DAT, significativo ($p \leq 0,05$) para acúmulo de Zn aos 24 DAT; e não significativo ($p > 0,05$) para acúmulo de Fe aos 17 DAT (Tabela 46).

Tabela 46 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de Fe e de Zn na parte aérea das plantas de alface americana aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT.

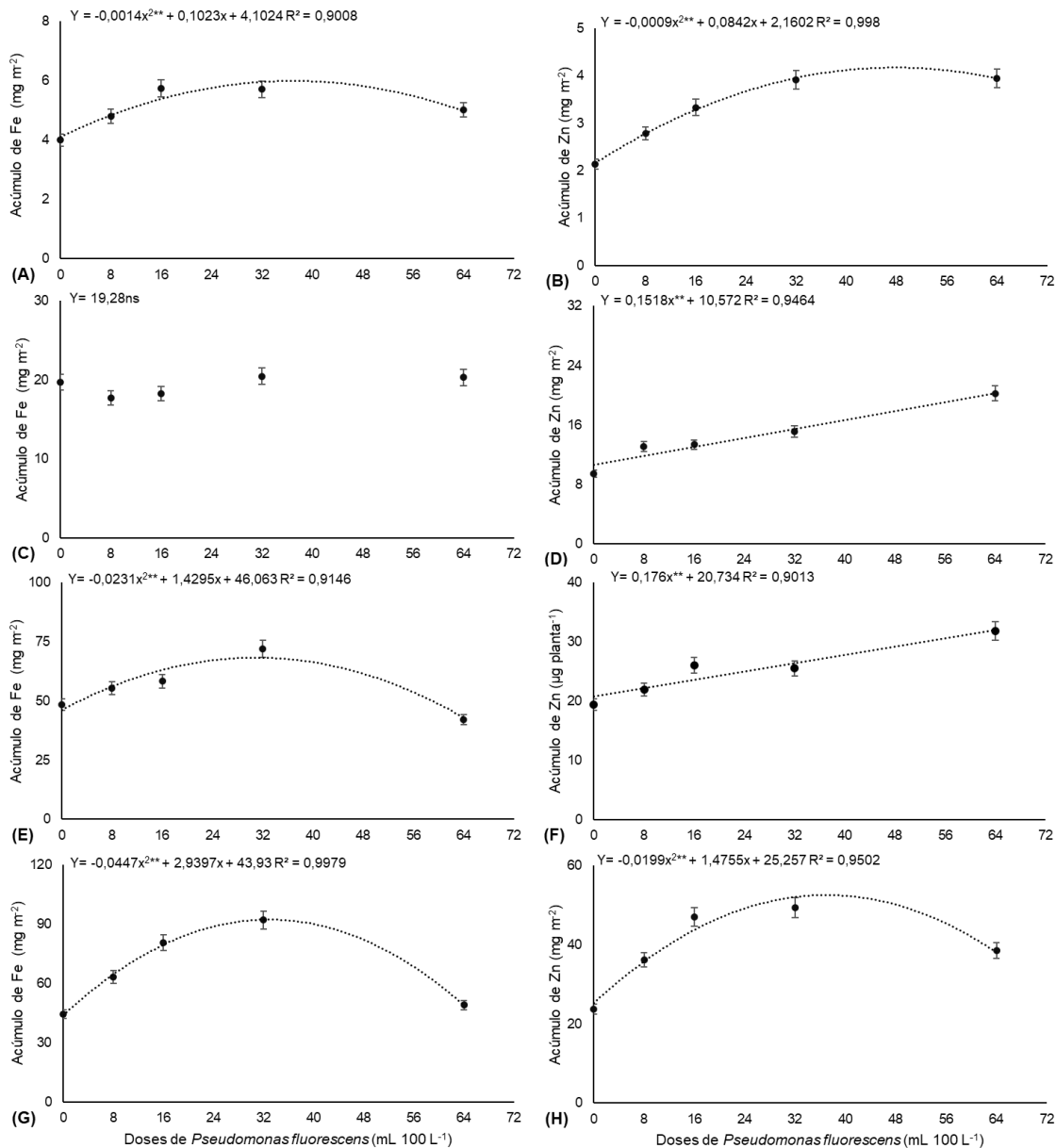
F.V.	Fe	Zn	Fe	Zn	Fe	Zn	Fe	Zn
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,90ns	0,44ns	0,17ns	0,20ns	0,17ns	0,31ns	1,26ns	1,32ns
Doses	8,26**	20,38**	1,10ns	33,25**	25,70**	3,57*	17,53**	23,72**
CV (%)	9,97	10,61	12,29	11,84	12,90	21,11	11,74	10,72
Linear	4,74*	59,39**	1,50ns	107,82**	0,56ns	9,82**	1,01ns	15,07**
Quadrática	24,98**	21,96**	0,02ns	3,55ns	63,52**	0,03ns	57,61**	75,08**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Não houve efeito das doses de *P. fluorescens* sobre o acúmulo de Fe na parte aérea de alface hidropônica aos 17 DAT (Figura 58C). O maior acúmulo de Fe calculado foi de 5,87; 68,18 e 92,26 mg m⁻² nas doses de *P. fluorescens* calculada de 36, 30 e 32 mL 100 L⁻¹ aos 10, 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 58A, 58E e 58G). Acúmulo máximo calculado de Zn na parte aérea das plantas de alface foi de 4,18 e 52,61 mg m⁻² nas doses calculadas de 46 e 37 mL de *P. fluorescens* aos 10 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 58B e 58H). Foi verificado aumento do acúmulo de Zn na parte aérea das plantas de alface de acordo com incremento das doses de *P. fluorescens* via solução nutritiva em cultivo hidropônico aos 17 e 24 DAT (Figuras 58D e 58F).

Figura 58 – Acúmulo de ferro na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de zinco na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre acúmulo de Mn na parte aérea aos 17, 24 e 31 DAT, e não significativo ($p > 0,05$) para acúmulo de Mn aos 10 DAT (Tabela 47).

Tabela 47 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acumulo de Mn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

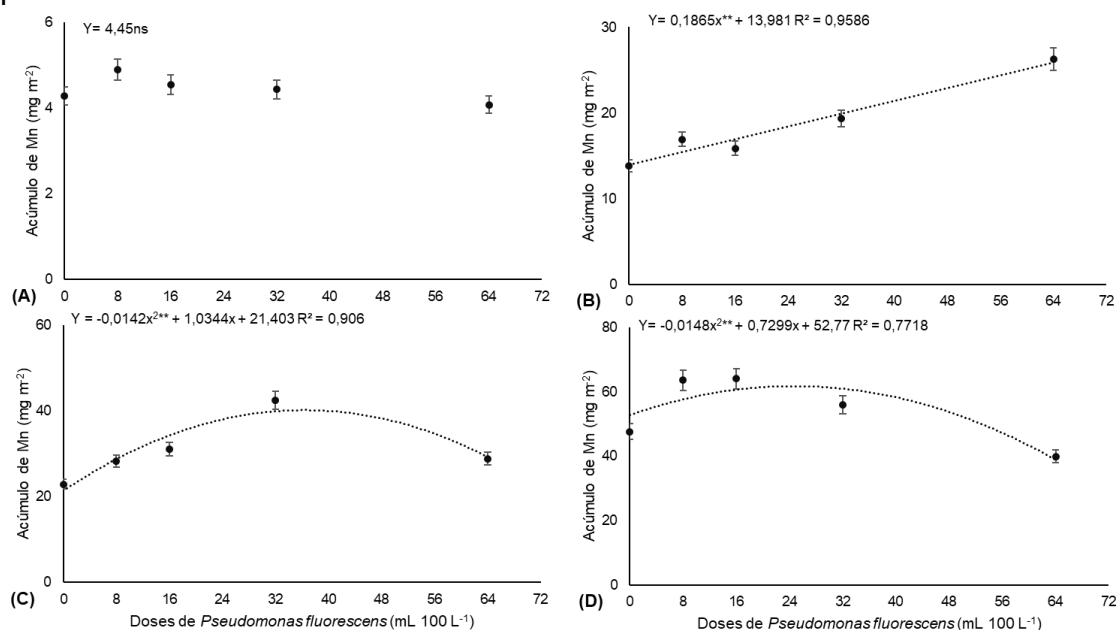
F.V.	Acúmulo de Mn na parte aérea			
	10 DAT	17 DAT	24 DAT	31 DAT
Bloco	1,62ns	0,50ns	0,53ns	0,25ns
Doses	1,71ns	14,52**	15,41**	15,16**
CV (%)	10,57	13,71	12,01	9,89
Linear	2,55ns	55,70**	6,75*	21,66**
Quadrática	1,10ns	0,48ns	49,08**	25,15**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Não foi observado efeito das doses de *P. fluorescens* sobre o acúmulo de Mn na parte aérea das plantas de alface aos 10 DAT (Figura 59A), porém aos 17 DAT, o acúmulo de Mn na parte aérea aumentou conforme o aumento das doses de *P. fluorescens* via solução nutritiva (Figura 59B). Foi verificado aumento do acúmulo de Mn calculado na parte aérea de 40,24 e 61,77 mg m⁻² nas doses estimadas de 36 e 24 mL de *P. fluorescens* aos 24 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 59C e 59D).

Figura 59 – Acúmulo de manganês na parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.3 Efeito das doses de *P. fluorescens* sobre o acúmulo de nutrientes nas raízes

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre os acúmulos de N, P, K, S, Ca e Mg nas raízes da alface aos 31 DAT (Tabela 48). Tabela 48 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N, de P, de K, de S, de Ca e de Mg nas raízes das plantas de alface Americana aos 31 dias após o transplantio (DAT).

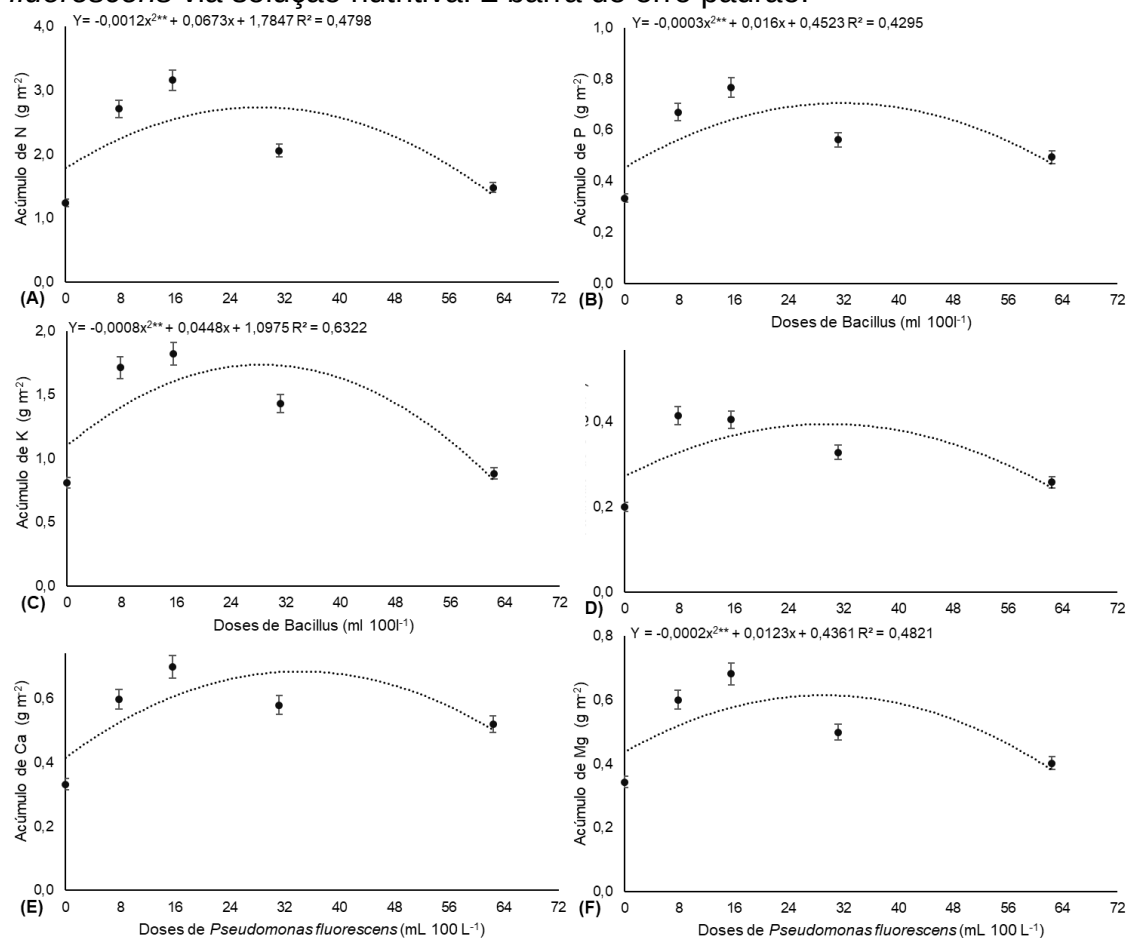
F.V.	N	P	K	S	Ca	Mg
	31 DAT					
Bloco	1,13ns	0,72ns	0,31ns	0,44ns	0,40ns	0,83ns
Doses	65,22**	45,53**	56,79**	37,58**	32,83**	36,34**
CV (%)	9,39	8,69	9,77	9,67	8,68	9,20
Linear	20,43**	0,15ns	29,02**	6,17**	3,82ns	8,07*
Quadrática	104,94**	78,33**	60,88**	43,76**	70,76**	61,56**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi verificado maior acúmulo de N, P, K, Ca, Mg e S calculado nas raízes de 2,73; 0,66; 1,72; 0,73; 0,62 e 0,44 g m⁻² sob as doses de *P. fluorescens* estimadas de 28, 26, 28, 39, 30 e 41 mL 100 L⁻¹, respectivamente (Figuras 60A, 60B, 60C, 60D, 60E e 60F).

Figura 60 – Acúmulo de nitrogênio nas raízes (A), fósforo (B), potássio (C), enxofre(D), cálcio (E) e magnésio (F) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Notou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre os acúmulos de B, Cu, Fe, Mn e Zn nas raízes da alface aos 31 DAT (Tabela 49).

Tabela 49 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B, de Cu, de Fe, de Mn e de Zn nas raízes das plantas de alface aos 31 dias após o transplântio (DAT).

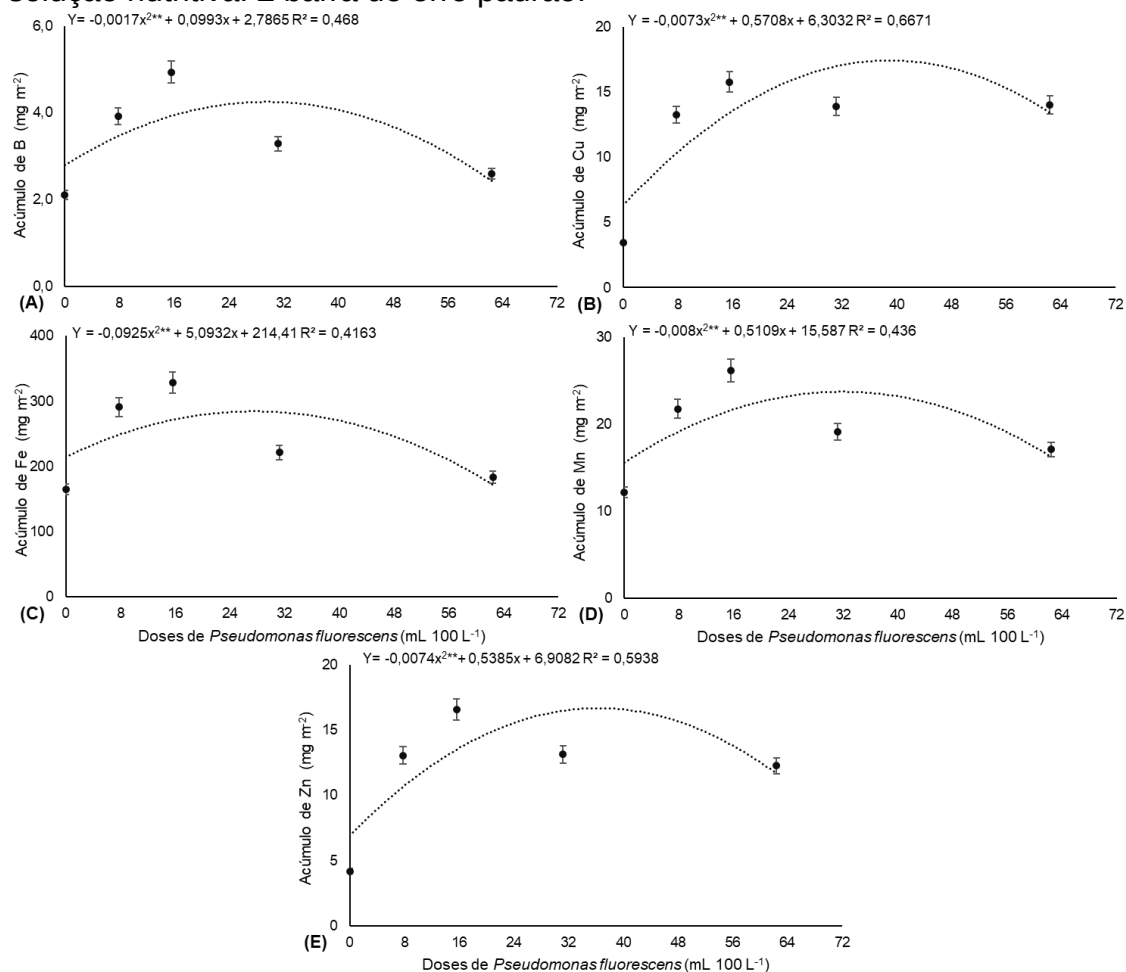
F.V.	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	31 DAT				
Bloco	0,75ns	0,99ns	1,07ns	0,02ns	0,09ns
Doses	55,789**	42,72**	35,22**	22,48**	63,21**
CV (%)	8,83	12,42	9,93	11,50	9,76
Linear	9,09*	43,17**	12,90**	0,05**	27,74**
Quadrática	95,28**	70,85**	45,74**	39,16**	122,40**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi verificado maior acúmulo de B, Cu, Fe, Mn e Zn calculado nas raízes de 4,24; 17,46; 284,52; 16,70 e 23,74 g m⁻² sob as doses de *P. fluorescens* estimadas de 29, 39, 27, 36 e 31 mL 100 L⁻¹, respectivamente (Figuras 61A, 61B, 61C, 61D e 61E).

Figura 61 – Acúmulo de boro nas raízes (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e zinco (E) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.4 Efeito das doses de *P. fluorescens* sobre as trocas gasosas e clorofila foliar

Reportou-se efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre a concentração de clorofila a, clorofila b, clorofila total e carotenoides foliares aos 31 DAT (Tabela 50).

Tabela 50 – Análise de variância dos valores de F calculado para a concentração de clorofila a (Clo a), de clorofila b (Clo b), de clorofila total (Clo t) e de carotenóides (CAR) nas folhas das plantas de alface aos 31 dias após o transplântio (DAT).

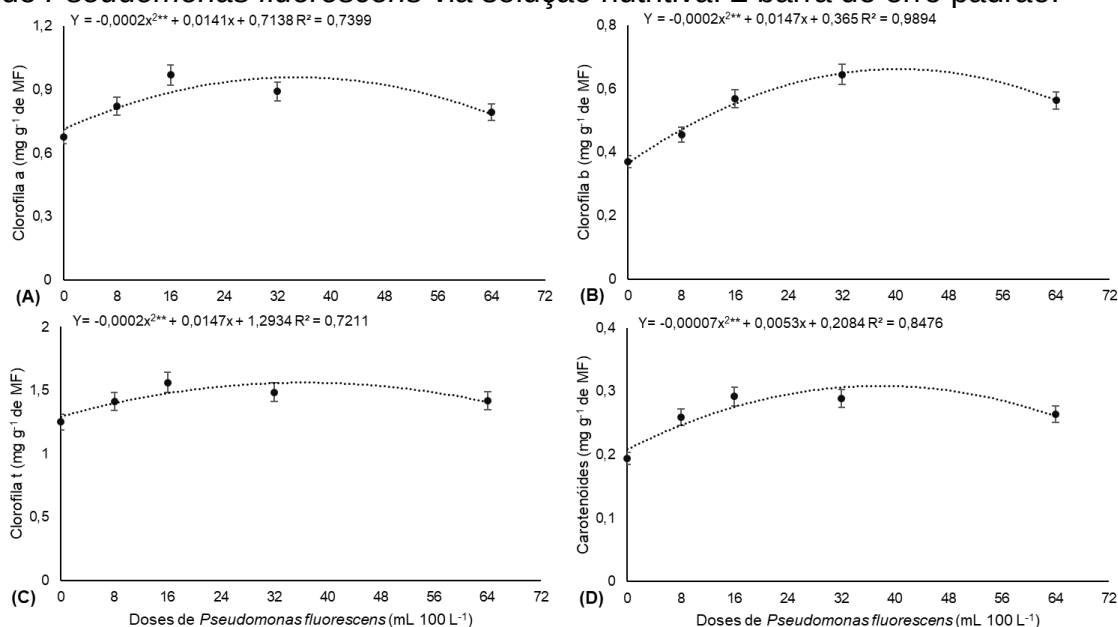
F.V.	Clo a	Clo b	Clo t	CAR
	31 DAT			
Bloco	0,25ns	5,85*	0,76ns	0,83ns
Doses	21,01**	49,77**	72,20**	15,76**
CV (%)	5,75	5,87	3,69	7,61
Linear	2,12ns	2,12ns	12,54**	11,84**
Quadrática	60,07**	115,82**	130,5**	41,58**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi observado o aumento da concentração foliar de Clo a, Clo b, Clo t e CAR calculada de 0,96; 0,63; 1,56 e 0,31 mg g⁻¹ de MF nas doses de *P. fluorescens* estimadas de 35, 36, 36 e 37 mL 100 L⁻¹ aos 31 DAT, respectivamente (Figuras 62A, 62B, 62C e 62D).

Figura 62 – Concentração foliar de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenóides (D) aos 31 dias após o transplântio das plantas de alface americana (cultiva Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre a concentração interna de carbono, condutância estomática, transpiração e taxa de fotossíntese líquida foliar da alface aos 17 e 31 DAT (Tabela 51).

Tabela 51 – Análise de variância dos valores de F calculado para concentração interna de carbono (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A) nas folhas das plantas de alface aos 17 e 31 dias após o transplântio – (DAT).

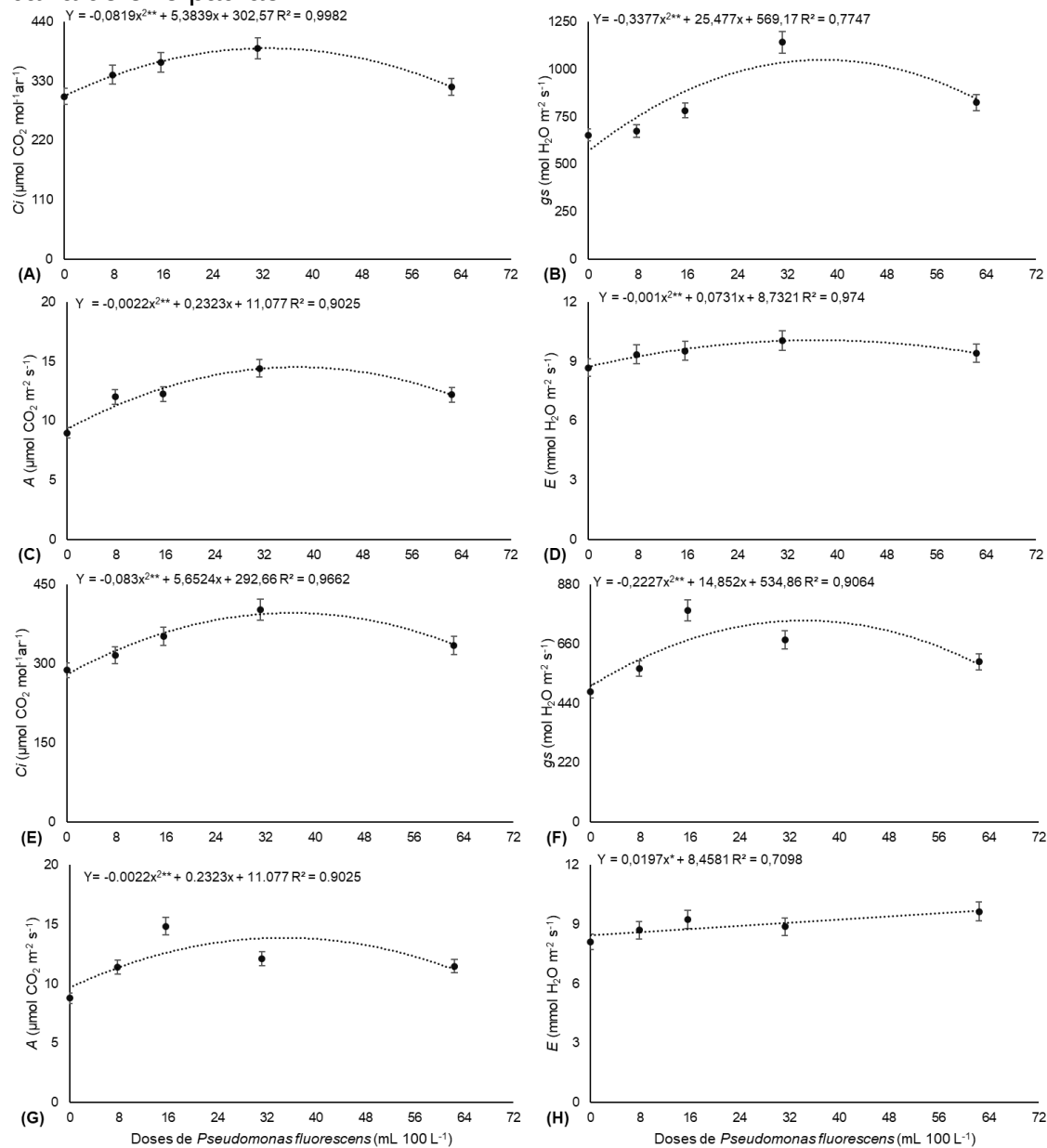
F.V.	Ci	gs	A	E	Ci	gs	A	E
	17 DAT		17 DAT		31 DAT		31 DAT	
Bloco	2,15ns	0,95ns	2,76ns	1,06ns	2,74ns	0,18ns	3,70*	3,09ns
Doses	24,47**	36,99**	28,15**	14,71**	5,69**	7,05**	23,94**	4,93**
CV (%)	4,18	7,90	6,11	2,72	2,48	22,01	6,45	5,22
Linear	0,58ns	32,89**	27,83**	13,33**	0,34ns	6,72*	24,74**	6,57*
Quadrática	97,12**	81,75**	77,48**	43,75**	5,52*	6,73*	64,00**	1,15ns

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os maiores *Ci* calculado foram de 391,05 e 388,89 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}^{-1}$ nas doses de *P. fluorescens* estimadas de 32 e 34 mL 100 L⁻¹ aos 17 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 63A e 63E). A maior *E* obtida calculada foi de 10,07 mmol H₂O m⁻² s⁻¹ nas doses estimadas de 36 mL de *P. fluorescens* 100 L⁻¹ aos 17 DAT, porém, aos 31 DAT o *E* aumentou conforme a dose de *P. fluorescens* via solução nutritiva (Figuras 63D e 63H). As maiores taxas de *A* calculadas foram de 17,21 e 14,5 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na dose estimada de 52 e 52 mL de *P. fluorescens* 100 L⁻¹ aos 17 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 63C e 63G). Foi observado nas doses estimadas de 37 e 33 mL de *P. fluorescens* 100 L⁻¹, a maior *gs* estimado de 1049,7 e 747,8 mol H₂O m⁻² s⁻¹ aos 17 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 63B e 63F).

Figura 63 – Trocas gasosas foliares aos 17 dias após o transplante - DAT (A) e aos 31 DAT (E), condutância estomática (g_s) aos 17 DAT (B) e aos 31 DAT (F), taxa de fotossíntese líquida (A) aos 17 DAT (C) e aos 31 DAT (G), transpiração (E) aos 17 DAT (D) e aos 31 DAT (H) plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre a eficiência do uso da água foliar aos 17 e 31 DAT, e sobre conteúdo relativo de água e integridade de membranas foliares na alface aos 31 DAT (Tabela 52).

Tabela 52 – Análise de variância dos valores de F calculado para eficiência do uso da água (EUA) nas folhas das plantas de alface aos 17 e 31 dias após o transplântio (DAT) e para o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas (IIM) nas folhas das plantas de alface americana aos 31 DAT.

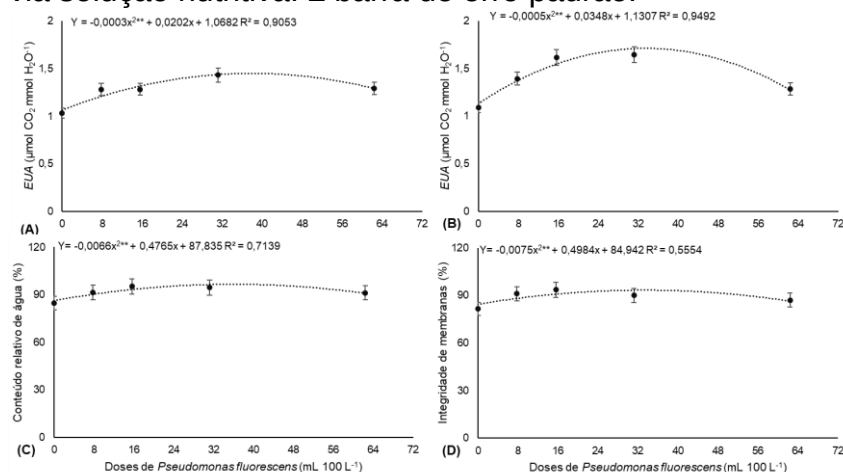
F.V.	EUA	EUA	CRA	IIM
	17 DAT	31 DAT	31 DAT	
Bloco	3,88*	0,58ns	0,86ns	1,39ns
Doses	17,13**	37,28**	20,76**	48,87**
CV (%)	5,53	4,33	1,99	1,49
Linear	18,78**	20,28**	10,07**	1,44ns
Quadrática	43,25**	119,27**	59,18**	112,81**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As maiores EUA obtidas foram de 1,41 e 1,74 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$ nas doses estimadas de 33 e 34 mL de *P. fluorescens* 100 L⁻¹ aos 17 e 31 DAT, respectivamente (Figuras 64A e 64B). O maior CRA calculado foi verificado na dose de *P. fluorescens* de 36 mL 100 L⁻¹ com CRA máximo calculado de 96% de água nas folhas (Figura 64C). Houve aumento do índice de IIM até a dose calculada de *P. fluorescens* de 33 mL 100 L⁻¹, com IIM máximo calculado de 93% de membranas integras nas folhas (Figura 64D).

Figura 64 – Trocas gasosas foliares aos na eficiência do uso da água (EUA) aos 17 DAT (A) e aos 31 DAT (B), e do estado hídrico das folhas no conteúdo relativo de água das folhas (C) e o índice de integridade de membranas celulares das folhas (D) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.5 Efeito das doses de *P. fluorescens* sobre a atividade da enzima nitrato redutase e do acúmulo de nitrato

Houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses de *P. fluorescens* sobre os acúmulos de nitrato e amônio na parte aérea e raízes, concentrações totais de aminoácidos e carboidratos, assim como na atividade da enzima nitrato redutase nas folhas de alface aos 31 DAT (Tabela 53).

Tabela 53 – Análise de variância dos valores de F calculado o acúmulo de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) na parte aérea e nas raízes, concentração de aminoácidos totais (AT), carboidratos totais (CT) e na atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas das plantas de alface americana aos 31 dias após o transplântio (DAT).

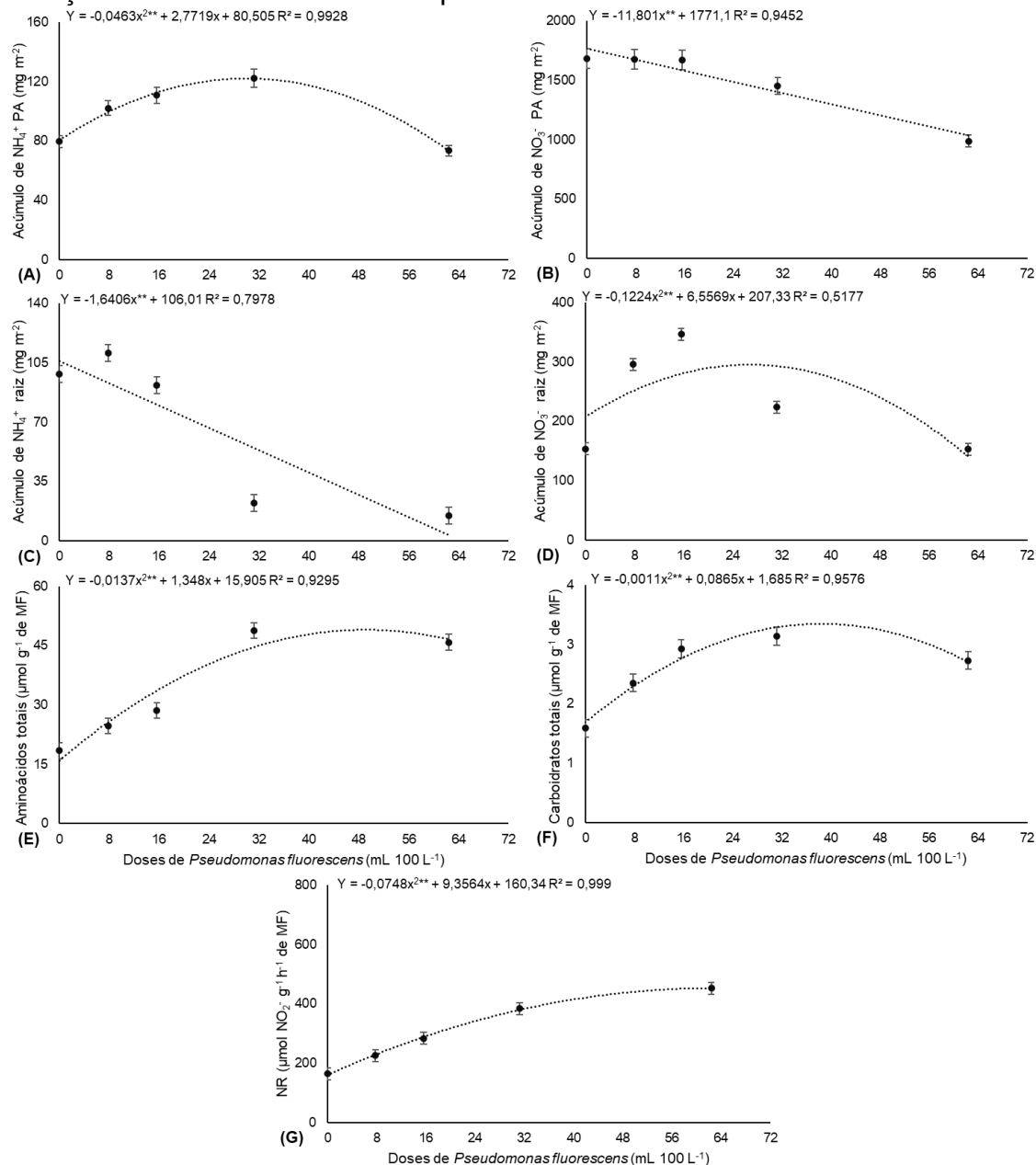
F.V.	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+	AT	CT	NR
	Parte aérea		Raízes		Foliar		
Bloco	1,56ns	0,64ns	1,57ns	0,52ns	0,01ns	2,14ns	0,95ns
Doses	18,54**	19,91**	47,55**	83,54**	61,52**	38,10**	80,42**
CV (%)	8,96	9,51	10,68	14,66	10,26	7,77	8,62
Linear	55,84**	4,77***	27,02**	266,58**	180,30**	49,41**	296,69**
Quadrática	13,17**	74,31**	71,45**	13,54**	48,42**	96,54**	24,66**

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi verificado redução no acúmulo de NH_4^+ nas raízes e no acúmulo de NO_3^- na parte aérea à medida que se aumentaram as doses de *P. fluorescens* na solução nutritiva (Figuras 65C e 65E). Como houve o aumento da atividade da enzima NR foliar até a dose estimada de 57 mL de *P. fluorescens* via solução nutritiva (Figura 63G). O maior acúmulo de NH_4^+ calculado na parte aérea e o acúmulo de NO_3^- nas raízes foi de 122,10 e 277,3 mg m⁻² na dose estimada de 30 e 27 mL de *P. fluorescens*, respectivamente (Figuras 65B e 65F). Foi verificado a maior concentração de AT e CT calculado de 49,06 e 3,38 µmol g⁻¹ de MF nas doses estimadas de 49 e 39 mL de *P. fluorescens* 100 L⁻¹ aos 31 DAT, respectivamente (Figuras 63E e 63F).

Figura 65 – Acúmulo de amônio na parte aérea (A), nas raízes (C), acúmulo de nitrato na parte aérea (B), nas raízes (D), concentração de aminoácidos totais (E), carboidratos totais (F) e atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas (G) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta a doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.6 Análise econômica

O tratamento controle (sem inoculação com *P. fluorescens*) teve o menor custo operacional total (COT) de R\$ 20,93 e o COT aumentou conforme o incremento na dose de *P. fluorescens* na solução nutritiva, porém a lucratividade foi maior (R\$ 28,55 m^{-2}) ao utilizar 32 $\text{mL } 100 \text{ L}^{-1}$ de *P. fluorescens* na solução nutritiva. Por outro lado, sem a inoculação teve lucratividade de R\$

9,94 m⁻², ao realizar inoculação com as doses de 8 e 16 mL de *P. fluorescens* obteve-se lucratividades de R\$ 22,84 e 26,04 m⁻² respectivamente, não sendo as doses mais lucrativas devido a menor produtividade em relação a dose de 32 mL *P. fluorescens* (Tabela 54).

Tabela 54 - Custo operacional total (COT, R\$ m⁻²) e rentabilidade (R\$ m⁻²) modelo de estrutura de alface americana (Cultivar Angelina) em hidroponia sob o tratamento controle (0 mL 100 L⁻¹ solução nutritiva), e as doses de *Pseudomonas fluorescens* via solução nutritiva.

Tratamento		0 mL 100 L ⁻¹ de <i>P. fluorescens</i>		8 mL 100 L ⁻¹ de <i>P. fluorescens</i>		16 mL 100 L ⁻¹ de <i>P. fluorescens</i>		32 mL 100 L ⁻¹ de <i>P. fluorescens</i>		64 mL 100 L ⁻¹ de <i>P. fluorescens</i>						
Descrição	Uni.	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)
A. Operações																
Mão-de-obra	hr	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94
Irrigação (energia elétrica)	kw h ⁻¹	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69
Consumo de água	L	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13
Subtotal A.	R\$			14,76			14,76			14,76			14,76			14,76
B. Insumos hidroponia																
Inoculante	L	0,00	80,00	0,00	0,024	80,00	0,27	0,048	80,00	0,53	0,096	80,00	1,07	0,192	80,00	2,13
Inseticida (Evidence)	kg	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08
Mudas	muda	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95
Hidrogood Fert	kg	0,513	7,00	0,50	0,545	7,00	0,53	0,544	7,00	0,53	0,576	7,00	0,56	0,445	7,00	0,43
Ferro EDDHA 6%	kg	0,023	70,00	0,23	0,025	70,00	0,24	0,025	70,00	0,24	0,0265	70,00	0,26	0,021	70,00	0,20
Nitrato de Cálcio	kg	0,258	2,20	0,08	0,274	2,20	0,08	0,274	2,20	0,08	0,29	2,20	0,08	0,223	2,20	0,07
Cloreto de Potássio	kg	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04
Ácido Sulfúrico 25%	L	0,17	5,00	0,12	0,17	5,00	0,12	0,15	5,00	0,10	0,15	5,00	0,10	0,18	5,00	0,13
Hidróxido de Sódio 25%	L	0,12	10,00	0,17	0,10	10,00	0,14	0,15	10,00	0,21	0,10	10,00	0,14	0,06	10,00	0,01
Subtotal B.	R\$			5,17			5,45			5,76			6,28			7,04
Custo operacional efetivo	R\$			19,93			20,21			20,52			21,04			21,80
Outras despesas	R\$			0,00			0,00			0,00			0,00			0,00
Custo de Juros	R\$			1,00			1,01			1,03			1,05			1,09
Custo operacional Total	R\$			20,93			21,22			21,55			22,09			22,89
Receita																
Produtividade	kg m ⁻²	7,57	5,27	39,89	8,36	5,27	44,06	9,03	5,27	47,59	9,61	5,27	50,64	6,37	5,27	33,57
Lucratividade	R\$			18,96			22,84			26,04			28,55			10,68

5.4 DISCUSSÃO

O aumento do acúmulo de massa nas raízes é um dos efeitos observados da inoculação com *P. fluorescens* em diversas culturas cultivadas em solo (SANDINI *et al.*, 2019; CHU *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2022), porém não há relatos do sucesso da inoculação via solução nutritiva com esta bactéria, quanto à capacidade de colonizar as raízes das plantas sem presença de solo. No entanto, neste estudo, a capacidade desta bactéria de colonizar as raízes em sistema hidropônico favoreceu o aumento da massa fresca e seca das raízes da alface em 74 e 85% na dose de 34 e 27 mL 100 L⁻¹ em relação ao não inoculado aos 31 DAT, respectivamente (Figuras 49H e 50H). O crescimento das raízes superior ao inocular com *P. fluorescens* ocorre pelo estímulo do aumento da produção de fitormônios como o ácido indol-3-acético (AIA) pelas plantas, que agem principalmente como estimuladores do crescimento radicular e, em consequência melhora a exploração do ambiente de cultivo, absorção de água e nutrientes (KOCHAR *et al.*, 2011).

Constatou-se aumento da massa fresca e seca da parte aérea em 27% e 30% na dose estimada de 28 mL e 29 mL de *P. fluorescens*, respectivamente, em relação a não inoculação (Figuras 49G e 50G). A massa fresca da parte aérea tem relação direta com o número de folhas das plantas de alface, que teve aumento de 23% sob a dose estimada de 24 mL de *P. fluorescens* 100 L⁻¹ (Figura 51B). Para a alface, o número de folhas e sua massa estão entre as características mais importantes, por ser uma hortaliça comercializável in natura; assim, o maior peso fresco favorece o uso de um menor número de plantas para comercialização, uma vez que o aumento do número de plantas para formar um pacote comercializável reduz a lucratividade (DALASTRA *et al.*, 2020). A inoculação com *P. fluorescens* favorece o aumento do acúmulo de massa fresca e seca da parte aérea das plantas, pelo aumento da eficiência fotossintética, assimilação de carbono e aquisição de nutrientes pelas raízes (SANDINI *et al.*, 2019; CARDOSO *et al.*, 2019).

Alem disso, é possível evidenciar uma correlação positiva e significativa entre a massa seca e fresca da parte aérea, capacidade fotossintática e assimilação de carbono, o que permite afirmar que este aumento do acúmulo de massa nos tecidos está intimamente relacionado com o aumento da eficiência fotossintética e de assimilação de carbono pelas plantas (Figura 66).

Estes resultados podem ser explicados pela melhor eficiência fotossintética e hídrica, pelo aumento de 40% no C_i , 62% na g_s , 69% na A , 43% $C_{lo a}$, 74% na $C_{lo b}$, 25% na $C_{lo t}$ e 50% no CRA que contribuem para maior crescimento e acúmulo de massa nas folhas das plantas (Figuras 62 e 63). O crescimento das folhas ocorre com o aumento da assimilação líquida de CO_2 no processo fotossintético, cujo acúmulo de carbono nas folhas permite a formação de novas folhas e aumento da massa das plantas, resultando em maior produtividade (FONSECA *et al.*, 2022).

A inoculação com *P. fluorescens* propiciou aumento de 15% na E e 51% na EUA das folhas de alface (Figuras 63H e 64B), o que indica proteção das folhas contra estresses abióticos, principalmente pela elevada temperatura do ambiente de cultivo de alface (plantas de clima ameno). A maior eficiência do uso da água está relacionada à maior integridade de membranas celulares das folhas, que estão relacionadas com a capacidade da planta de manter suas atividades metabólicas e fotossintéticas em funcionamento, mesmo em períodos com temperaturas altas como as do local deste estudo (Figura 45). A maior eficiência do uso da água proporciona maior turgor nas células-guarda, mantendo os estômatos abertos nesta situação, o g_s observado foi 62% maior que na ausência da inoculação. O estado hídrico das folhas das plantas consegue aumentar os períodos de abertura de estômatos, que favorece a atividade fotossintética e, consequente assimilação líquida de CO_2 pelas plantas, como também melhora a eficiência do uso da água e do crescimento das plantas (BUCKLEY, 2019).

Além disso, o fornecimento adequado de *P. fluorescens* proporciona maior crescimento da planta de alface através do aumento da aquisição de nutrientes. O maior acúmulo de nutrientes na parte aérea das plantas de alface foi observado nas doses de 29, 33, 32, 31, 28 e 28 mL 100L⁻¹ de *P. fluorescens* com aumento nos acúmulos da parte aérea de N, P, K, S, Ca e Mg em 48, 50, 93, 50, 43, 86%, respectivamente, em relação ao tratamento não inoculado (Figuras 53G, 53H, 55G, 55H, 56G e 56H). Ainda, o maior acúmulo de nutrientes nas raízes das plantas de alface foi observada nas doses de 45, 40, 29, 34, 30 e 35 mL 100L⁻¹ de *P. fluorescens* com aumento nos acúmulos das raízes de N, P, K, S, Ca e Mg em 154, 130, 124, 111, 99 e 107%, respectivamente, em relação ao não inoculado (Figura 60).

O maior acúmulo de Ca na parte aérea e nas raízes da alface pode ser um dos fatores determinantes para o aumento do crescimento da planta sob a inoculação com *P. fluorescens*, isto pode ser comprovado pela correlação positiva das características de crescimento da planta com o acúmulo de Ca na planta (Figura 66). O Ca é um nutriente que participa do crescimento das plantas de forma estrutural no crescimento radicular, espessamento da parede celular, aumenta a proteção das plantas a patógenos e aumenta a restauração da integridade das membranas celulares (THOR, 2019). Uma boa formação e estabilização de paredes celulares primárias nas plantas dependem do fornecimento e aquisição adequada de Ca, como integridade da parede celular dependente diretamente do Ca para realizar a transdução de sinal adequada do apoplasto para o citoplasma, fundamental para a função celular (HAMANN; DENNES, 2011). Curiosamente o Ca tem a função de segundo mensageiro, ele está envolvido na sinalização da disponibilidade de nutrientes e suas mudanças (THOR *et al.*, 2019). Isso foi relatado em relação ao K, NO_3^- , Fe, NH_4^+ e B (WILKINS *et al.*, 2016; KUDLA *et al.*, 2018), e também sugerido para o Mg (TANG; LUAN, 2017).

Outro motivo relacionado ao aumento da eficiência da absorção e transporte de nutrientes pelas plantas inoculadas com *P. fluorescens* está principalmente relacionado pelo aumento do crescimento das raízes, produção de sideróforos, produção de compostos secundário e de fitormônios na planta (CHU *et al.*, 2020). O crescimento radicular também beneficia o aumento da eficiência de absorção de N, P, K, Ca, Mg e S como relatado em Zuri Guinea Grass sob a inoculação com *P. fluorescens* em relação à não inoculação (SÁ *et al.*, 2019). Além disso, o aumento das concentrações de giberilinas e citocinina pela inoculação com *P. fluorescens* promovem maior crescimento e alongamento do caule, folhas e raízes como no aumento da divisão celular da planta (SHARMA *et al.*, 2018).

As doses entre 36 e 37 mL de *P. fluorescens* favoreceram aumento da concentração de pigmentos fotossintéticos e taxa de assimilação de CO_2 (Figuras 62 e 63E). As taxas de assimilação fotossintética de CO_2 são favorecidas por nutrição adequada de K e Mg, aumentando as concentrações intracelulares de CO_2 e a atividade fotossintética da folha (SINGH; REDDY, 2017). Devido ao papel osmótico de K no aumento da condutância estomática

da folha (atuando na regulação da célula-guarda), assim, menor absorção de K prejudica a fotossíntese da planta (JÁKLI *et al.*, 2017). O crescimento e o metabolismo das plantas requerem a translocação de carboidratos dos tecidos fotossinteticamente ativos, cujo carregamento de sacarose é a principal forma de transporte de carboidratos nas plantas, com isso, a deficiência de K e Mg no floema pode prejudicar o transporte da eficiência do carbono para dentro da planta e o fornecimento adequado dessas duas moléculas aumentam a fotoproteção (TRÄNKNER *et al.*, 2018).

Os principais mecanismos relacionados à maior absorção de nitrogênio pelas plantas inoculada com *P. fluorescens* é aumento do crescimento radicular (aumenta a exploração do solo ou solução nutritiva pelas raízes), promoção de crescimento (aumento na produção de compostos secundários e fitormônios) e fixação biológica de nitrogênio, portanto, as alterações positivas do metabolismo do nitrogênio proporcionam maiores produtividade pelo aumento no acúmulo de carbono (LI *et al.*, 2017).

O alto fornecimento de nitrogênio na forma de nitrato na hidroponia tem sido uma preocupação frequente no cultivo de hortaliças, principalmente pelo aumento da concentração de NO_3^- foliar que causam prejuízos à qualidade das folhas e também aos serem humanos (SILVA *et al.*, 2021; SAKAMOTO *et al.*, 2021; MOREIRA *et al.*, 2022). O manejo da solução nutritiva tem sido uma das alternativas para reduzir as concentrações de NO_3^- foliar nas plantas de alface hidropônico (CONVERSA *et al.*, 2021; MOREIRA *et al.*, 2022). Por outro lado, o uso de bactérias tem sido uma das tecnologias que proporcionam aumento da eficiência do uso de fertilizantes nitrogenados (HASHEM *et al.*, 2019), e ainda podem aumentar a atividade da enzima nitrato redutase e, em consequência, reduzindo a concentração foliar de NO_3^- (TABAGLIO *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2022; MOREIRA *et al.*, 2022), mesmo em condições com alta disponibilidade de NO_3^- para absorção das plantas.

Curiosamente, os resultados obtidos concordam com estes estudos, por aumentar a atividade da enzima NR em 154% e acúmulo de NH_4^+ em 192% na parte aérea, em consequência redução de 65% do acúmulo de NO_3^- na parte aérea das plantas de alface, conforme o aumento das doses de *P. fluorescens* (Figuras 65A, 65C e 65E). A inoculação com *P. fluorescens* proporcionou maior atividade de nitrato redutase em ambiente com alto quantidade de NO_3^- a

atividade da enzima aumentou, reduzindo as concentrações foliares do nutriente (KALANTARI *et al.*, 2022). O maior acúmulo de NO_3^- nas folhas das hortaliças reduzem a palatabilidade, por serem responsáveis pelo amargor nas folhas de alface e, ainda, são prejudiciais à saúde humana (ZHU *et al.*, 2021; MOREIRA *et al.*, 2022).

Além disso, a inoculação com *P. fluorescens* influenciou diretamente no ciclo de N, atividades enzimáticas e síntese de metabólitos secundários, aminoácidos, aquisição e eficiência de uso de nutrientes pelas plantas (MANNING; TRIPPE, 2021). O menor acúmulo de NO_3^- foliar obtido neste estudo está relacionado ao aumento da atividade da enzima nitrato redutase, que reduz o nitrato a nitrito no citosol pelas atividades da enzima nitrato redutase onde entra em plastídios ou cloroplastos, para reduzir em amônia que foi fixada via glutamato sintase/glutamina sintase em aminoácidos (YONEYAMA; SUZUKI, 2019). Esses glutamina e glutamato serviram como substrato para transaminação e produção de aminoácidos utilizados na ingestão de proteínas (TAIZ *et al.*, 2022). Concordando com nossos resultados, por verificar aumento de 165% na concentração total de aminoácidos e de 98% de carboidratos total sob as doses de 50 e 38 mL 100 L^{-1} de *P. fluorescens*, respectivamente (Figuras 65F e 65G).

O transporte adequado de N das raízes para as folhas é essencial para promover o aumento do crescimento foliar e acúmulo de carbono, como no aumento das concentrações de aminoácidos, que estão intimamente ligadas ao processo de fotossíntese nas folhas (PERCHLIK; TEGEDER, 2018). Curiosamente, os resultados foram aumento da clorofila a, clorofila b e carotenoides em 43, 74 e 50% sob as doses de 35, 36 e 37 mL 100 L^{-1} de *P. fluorescens*, respectivamente (Figuras 62A, 62B e 62D). A maior eficiência fotossintética das plantas sob inoculação com *P. fluorescens* foi relatada por ser um mecanismo de promoção de crescimento das plantas e acúmulo de carbono foliar (HAMEED *et al.*, 2021). Estes resultados podem estar associados ao maior acúmulo de N nas plantas, e à influência do uso adequado do N pelas plantas na taxa fotossintética e ciclo de carbono vegetal (EVANS; CLARKE, 2019). Em diversos estudos tem sido observado que a concentração de clorofila das folhas tem correlação positiva com a concentração de N encontradas nos tecidos (WANG *et al.*, 2014;

MASCARELLO *et al.*, 2016; GÜIZA-CASTILLO *et al.*, 2020; GALINDO *et al.*, 2021), assim como houve correlação positiva do acúmulo de NH_4^+ e N na parte aérea com as concentrações de clorofila e carotenoides foliares (Figura 66).

O maior conteúdo de clorofila foliar ainda proporciona maior assimilação de carboidratos e aminoácidos para as folhas das plantas, isto pode ser afirmado pela correlação positiva do conteúdo total de carboidrato e aminoácidos com a clorofila a, clorofila b e carotenoides (Figura 66). Como descrito anteriormente, que a absorção adequada de nitrogênio proporciona aumento das concentrações de clorofila e aminoácidos nas folhas (PERCHLIK; TEGEDER, 2018).

A correlação negativa da atividade da enzima nitrato redutase com acúmulo de NH_4^+ nas raízes e a correlação positiva com acúmulo de NH_4^+ na parte aérea (Figura 66), demonstram a capacidade de a inoculação com *P. fluorescens* de aumentar a atividade enzimática no metabolismo do N e de reduzir os riscos à saúde humana com excesso da ingestão de NO_3^- na alimentação. Além disso, a correlação negativa do acúmulo de NO_3^- e positiva do NH_4^+ com o aumento de concentração de carboidratos e aminoácidos nas folhas são resultados da quebra de NO_3^- nas folhas das plantas, que podem ser direcionadas para o metabolismo do glutamato e glutamina que resulta em maiores concentrações de aminoácidos nas folhas (Figura 66). Estes resultados podem ainda proporcionar uma nova perspectiva com relação à ação da *P. fluorescens* sob o metabolismo do nitrogênio, aumentando a segurança alimentar pela redução da quantidade de NO_3^- presente nas folhas sem comprometer a aquisição de N pelas plantas. Levando em consideração que a inoculação de *P. fluorescens* aumentou a produção de massa fresca da parte aérea que é importante para a comercialização da alface hidropônica.

A inoculação com *P. fluorescens* proporcionou aumento do acúmulo de massa nas plantas, acúmulo de nutrientes, na eficiência fotossintética e do uso da água. Os principais mecanismos do *P. fluorescens* para melhorar crescimento e a nutrição das plantas de alface hidropônico, estão relacionados ao aumento da produção de hormônios de crescimento vegetal e de compostos secundários. O aumento da produtividade de folhas de alface com a inoculação de *P. fluorescens* é uma tecnologia de baixo custo, que reduz o consumo de fertilizantes e aumenta a lucratividade do horticultor.

5.5 CONCLUSÕES

A dose de 29 mL 100 L⁻¹ do inoculante de *P. fluorescens* proporcionou maior massa fresca da parte aérea e produtividade de folhas, sendo a dose indicada para atingir a maior eficiência de produtiva. A dose de 32 mL 100 L⁻¹ de *P. fluorescens* proporcionou maior lucratividade da alface americana (cultivar Angelina) cultivado em sistema hidropônico.

A inoculação com *P. fluorescens* em doses entre 23 e 37 mL 100 L⁻¹ aumentou todos os componentes da produção e os acúmulos de N, P, K, Ca, Mg e S na parte aérea. As doses entre 29 e 45 mL 100 L⁻¹ promoveram os maiores acúmulos de N, P, K, Ca, Mg e S nas raízes, pigmentos fotossintéticos e concentração de carboidratos foliar das plantas de alface.

REFERÊNCIAS

- AINI, N.; YAMIKA, W. S. D.; ULUM, B. Effect of nutrient concentration, PGPR and AMF on plant growth, yield and nutrient uptake of hydroponic lettuce. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v.21, p.175–183, 2019.
- BUCKLEY, T. N. How do stomata respond to water status? **New Phytologist**, Cambridge, v.224, p.21-36, 2019.
- CARDOSO, A. L.; RÊGO, M. C. F.; MATOS, G. S. B.; BATISTA, T. F. V.; SILVA, G. B. Physiology and nutritional contents of lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants induced by *Pseudomonas fluorescens*. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v.5, n.9, p.15538-15556, 2019.
- CHU, T. N.; BUI, L. V.; HOANG, M. *Pseudomonas* PS01 isolated from maize rhizosphere alters root system architecture and promotes plant growth. **Microorganisms**, Basel, v.8, n.4, a.471, 2020.
- CONVERSA, G.; BONASIA, A.; LAZZIZERA, C.; LA ROTONDA, P.; ELIA, A. Reduction of nitrate content in baby-leaf lettuce and cichorium endivia through the soilless cultivation system, electrical conductivity and management of nutrient solution. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.12, p.645-671, 2021.
- DALASTRA, C. **Nutrição e produção de alface americana em função da vazão, periodicidade de exposição e condutividade elétrica da solução nutritiva em sistema hidropônico**. 98f. 2017. Tese (doutorado em agronomia) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Pós-graduação em sistema de produção, 2017.
- DALASTRA, C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; VARGAS, P. F. Periodicity of exposure of hydroponic lettuce plants to nutrient solution. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.33, p.81-89, 2020.
- EVANS, J. R.; CLARKE, V. C. The nitrogen cost of photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.70, n.1, p.7–15, 2019.
- FALKER Automação Agrícola Ltda. Manual do medidor eletrônico de teor clorofla (ClorofLOG / CFL 1030). Porto Alegre: **Falker**, 2008. 33 p.
- FAOSTAT—Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division. **Food Production and Trade**. disponível online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FO> (acesso in 4 Setembro 2022).
- FONSECA, M. D. C. D.; BOSSOLANI, J. W.; DE OLIVEIRA, S. L.; MORETTI, L. G.; PORTUGAL, J. R.; SCUDELETTI, D.; DE OLIVEIRA, E. F.; CRUSCIOL, C. A. C. *Bacillus subtilis* Inoculation improves nutrient uptake and physiological activity in sugarcane under drought stress. **Microorganisms**, Basel, v.10, a.809, 2022.

GALINDO, F. S.; BELLOTTE, J. L. M.; SANTINI, J. M. K.; BUZETTI, S.; ROSA, P. A. L.; JALAL, A.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Zinc use efficiency of maize-wheat cropping after inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v.120, p.205–221, 2021.

GÜIZA-CASTILLO, L. L.; PINZÓN-SANDOVAL, E. H.; SERRANO-CELY, P. A.; CELY-REYES, G. E.; SERRANO-AGUDELO, P. C. Estimation and correlation of chlorophyll and nitrogen contents in *Psidium guajava* L. with destructive and non-destructive methods. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, Tunja, v.14, n.1, p.26-31, 2020.

HAMANN, T.; DENNESS, L. Cell wall integrity maintenance in plants: lessons to be learned from yeast?. **Plant Signaling & Behavior**, Bonn, v.6, p.1706–1709, 2011.

HAMEED, H. M.; ALI, F. H.; MAKKI, M. A. The synergistic effect for *Pseudomonas fluorescens* and salicylic acid in chlorophyll a, b and carotene content of wheat plant (*Triticum aestivum* L.). **Annals of the Romanian Society for Cell Biology**, Constanța, v.25, n.5, p.2642-2649, 2021.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ABD ALLAH, F. E. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biology Science**, Riyadh, v.26, p.1291-1297, 2019.

HISCOX, J.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.57, p.1332-1334. 1979.

JÁKLI, B.; TAVAKOL, E.; TRÄNKNER, M.; SENBAYRAM, M.; DITTERT, K. Quantitative limitations to photo-synthesis in K deficient sunflower and their implications on water-use efficiency. **Journal Plant Physiology**, Stuttgart, v.209, p.20– 30, 2017.

KAPPEL, N.; BOROS, I. F.; RAVELOMBOLA, F. S.; SIPOS, L. EC Sensitivity of Hydroponically Grown Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Types in Terms of Nitrate Accumulation. **Agriculture**, Basel, v.11, a.315, 2021.

KALANTARI, A.; ALIASGHARZAD, N.; NAJAFI, N. Nitrate Reductase Activity, Iron and Nitrate Concentrations in Spinach Inoculated with Two Species of *Pseudomonas* under Different Nitrogen Levels. **Water and Soil Science**, Tabriz, v.32, n.2, p.25-41, 2022.

KANG, S. M.; HAMAYUN, M.; KHAN, M. A.; IQBAL, A.; LEE, I. J. *Pseudomonas fluorescens* JW1 enhances plant growth and nutrient uptake of Chinese cabbage through gibberellins secretion. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, Gottingen, v.92, p.172-178, 2019.

KIM, M. J.; MOON, Y.; TOU, J. C.; MOU, B.; WATERLAND, N. L. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.49, p.19-34, 2016.

KOCHAR, M.; UPADHYAY, A.; SRIVASTAVA, S. Indole-3-acetic acid biosynthesis in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Psd and plant growth regulation by hormone overexpression. **Research of Microbiology**, San Francisco, v.162, n.4, p.426-35, 2011.

KUDLA, J.; BECKER, D.; GRILL, E.; HEDRICH, R.; HIPPLER, M.; KUMMER, U. Advances and current challenges in calcium signaling. **New Phytologist**, Cambridge, v.218, p.414–431, 2018.

LI, H. B.; SINGH, R. K.; SINGH, P.; SONG, Q. Q.; XING, Y. X.; YANG, L. T.; LI, Y. R. Genetic diversity of nitrogen-fixing and plant growth promoting *Pseudomonas* species isolated from sugarcane rhizosphere. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v.14, n.8, a.1268, 2017.

LI, Q.; LI, H.; YANG, Z.; CHENG, X.; ZHAO, Y.; QIN, L.; BISSELING, T.; CAO, Q.; WILLEMSSEN, V. Plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* sp. CM11 specifically induces lateral roots. **New Phytologist**, Cambridge, v.235, p.1575–1588, 2022.

LOPES, M. J. S.; DIAS-FILHO, M. B.; GURGEL, E. S. C. Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Lausanne, v.5, a.606454, 2021.

LUTTS, S.; KINET, J. M.; BOUHARMONT, J. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v.19, p.207, 1996.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, Piracicaba. 1997.

MANNING, V. A.; TRIPPE, K. M. Absence of 4-Formylaminooxyvinylglycine production by *Pseudomonas fluorescens* WH6 results in resource reallocation from secondary metabolite production to rhizocompetence. **Microorganisms**, Basel, v.9, a.717, 2021.

MASCARELLO, A. C.; SILVA, T. R. B.; GOUVEIA, B. T.; BERNARDI, D.; SECCO, D.; SANTOS, R. F.; ALVES, C. Z. Chlorophyll meter reading and total nitrogen content applied as topdressing in parts of the crambe plant. **African Journal of Biotechnology**, Saharan, v.15, n.2, p.45-49, 2016.

MATSUNAGA, M.; BEMELMANS, P. F.; TOLEDO, P. E. N.; DULLEY, R.D.; OKAWA, H.; PEDROSO, I.A. Metodologia de custo de produção utilizada pelo IEA. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v.23, n.1, p.123-139, 1976.

MOREIRA, V. A.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; GATO, I. M. B.; OLIVEIRA, T. J. S. S.; BOLETA, G. H. M.; GIOLO, V. M.; VITÓRIA, L. S.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* increases nutrition and yield of hydroponic lettuce. **Archives of Microbiology**, Berlin, v.204, n.440, p.1-12, 2022.

OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; OLIVEIRA, J. R.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Foliar inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Trichoderma harzianum* in hydroponic arugula improves the productive components and plant nutrition and reduces foliar nitrate. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.52, e72755, 2022.

OPATOVSKY, I.; ELBAZ, M.; DORI, I.; AVRAHAM, L.; MORDECHAI-LEBIUSH, S.; DOMBROVSKY, A.; TSROR (LAHKIM), L., Control of lettuce big-vein disease by application of fungicides and crop covers. **Plant Pathology**, Oxford, v.68, p.790-795, 2019.

PERCHLIK, M.; TEGEDER, M. Leaf amino acid supply affects photosynthetic and plant nitrogen use efficiency under nitrogen stress. **Plant Physiology**, Bethesda, v.178, n.1, p.174–188, 2018.

R Core Team **R: a language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna <https://www.R-project.org/2015>.

RADIN, J. W. Distribution and development of nitrate reductase activity in germinating cotton seedlings. **Annual Review Plant Physiology**, Palo Alto, v.53, p.458-463, 1974.

SÁ, G. C. R.; HUNGRIA, M.; CARVALHO, C. L. M.; MOREIRA, A.; NOGUEIRA, M.; HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C. V. nutrients uptake in shoots and biomass yields and roots and nutritive value of zuri guinea grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.50, n.22, p.2927-2940, 2019.

SAKATA. Informações técnicas da cultivar de alface americana Angelina. **Disponível em:** <https://www.sakata.com.br/hortalicas/folhosas/alface/americana-de-verao/angelina>. Acesso em: 02 jan. 2022.

SANDINI, I. E.; PACENTCHUK, F.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; CRUZ, S. P. D.; NAKATANI, A. S.; ARAUJO, R. S. Seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* promotes growth, yield and reduces nitrogen application in maize. **International Journal of Agriculture Biology**, Punjab, v.22, p.1369–1375, 2019.

SHARMA, S.; SHARMA, A.; KAUR, M. Extraction and evaluation of gibberellic acid from *Pseudomonas* sp.: Plant growth promoting rhizobacteria. **Journal of**

Pharmacognosy and Phytochemistry, New Delhi, v.7, n.1, p.2790-2795, 2018.

SILVA, F.C. **Manual de análise química de solo, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2009.

Silva, P. H. S.; Cecílio Filho, A. B.; Reis, I. S.; Nascimento, C. S.; Nascimento, C. S. Rocket plants in response to nitrogen concentration in nutrient solution. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.39, p.341-345, 2021.

SINGH, S. K.; REDDY, V. R. Potassium starvation limits soybean growth more than the photosynthetic processes across CO₂ levels. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.8, a.991, 2017.

TABAGLIO, V.; BOSELLI, R.; FIORINI, A.; GANIMEDE, C.; BECCARI, P.; SANTELLI, S.; NERVO, G. Reducing nitrate accumulation and fertilizer use in lettuce with modified intermittent nutrient film technique (NFT) system. **Agronomy**, Basel, v.10, a.1208, 2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Plant Physiology and Development**. 7 ed. Sinauer Associates, Sunderland. 2022. 864 p.

TANG R. J.; LUAN S. Regulation of calcium and magnesium homeostasis in plants: from transporters to signaling network. **Current Opinion in Plant Biology**, Potsdam, v.39, p.97–105, 2017.

THOR, K. Calcium-Nutrient and Messenger. **Frontiers Plant Science**, Lausanne, v.10, p.1-10, 2019.

TRÄNKNER, M.; TRAVAKOL, E.; JÁKLI, B. Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. **Physiologia Plantarum**, Oxford, v.163, p.414-431, 2018.

VITOR, S.C.; DUARTE, G.T.; SAVIANI, E.E.; VINCENTZ, M.G.; OLIVEIRA, H.C.; SALGADO, I. Nitrate reductase is required for the transcriptional modulation and bactericidal activity of nitric oxide during the defense response of *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae*. **Planta**, Berlin, v.238, n.3, p.475-486, 2013.

WANG, Y.; WANG, D.; SHI, P.; OMASA, K. Estimating rice chlorophyll content and leaf nitrogen concentration with a digital still color camera under natural light. **Plant Methods**, Chichester, v.10, a.36, 2014.

WILKINS, K. A.; MATTHUS, E.; SWARBRECK, S. M.; DAVIES, J. M. Calcium-mediated abiotic stress signaling in roots. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.7, a.1296, 2016.

YANG, X.; GIL, M. I.; YANG, Q.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Bioactive compounds in lettuce: Highlighting the benefits to human health and impacts of

preharvest and postharvest practices. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v.21, p.4-45, 2022.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, Notre Dame, v.80, n.948, p.209-214, 1955.

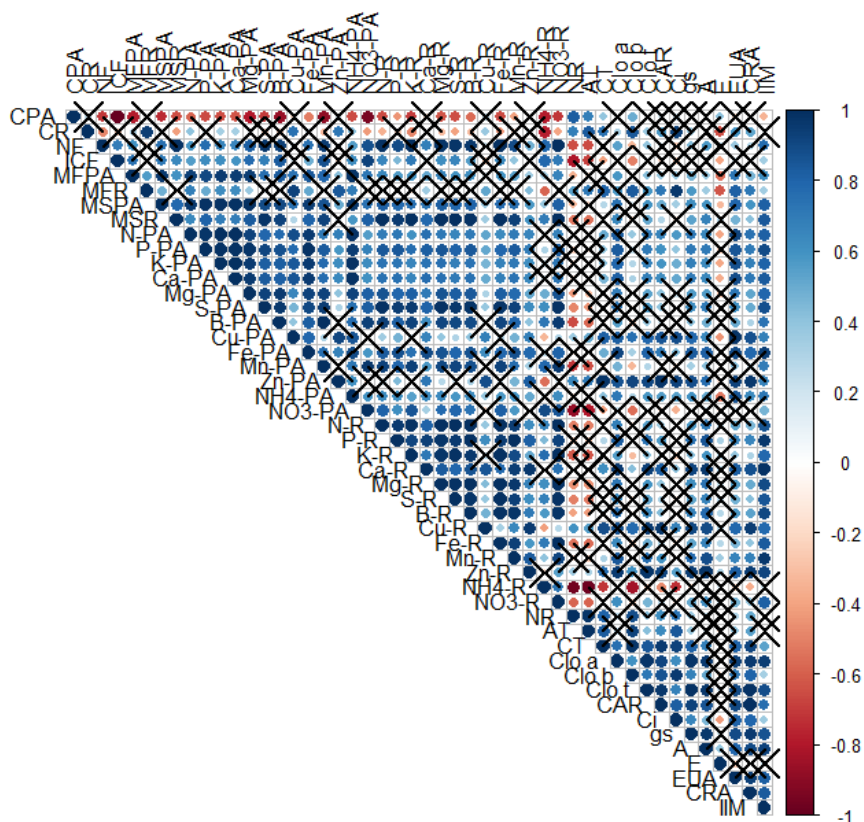
YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemichal Journal**, London, v.57, n.3, p.508-514, 1954.

YONEYAMA, T.; SUZUKI, A. Exploration of nitrate-to-glutamate assimilation in non-photosynthetic roots of higher plants by studies of ^{15}N -tracing, enzymes involved, reductant supply, and nitrate signaling: A review and synthesis. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.136, p.245-254, 2019.

ZHU, X.; YANG, R.; HAN, Y.; HAO, J.; LIU, C.; FAN, S. Effects of different $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ ratios on the photosynthesis and ultrastructure of lettuce seedlings. **Horticulture Environmental and Biotechnology**, Suwon, v.61, p.459-472, 2020.

APÊNDICE C – Mapa de calor de correlações

Figura 66 – Mapa de calor dos coeficientes de correlação de Pearson obtidos das variáveis analisadas em alface em resposta à inoculação com doses de *P. fluorescens*. “X” indica correlação não significativa ($P > 0,05$). comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), matéria fresca da parte aérea (MFPA), matéria fresca da raiz (MFR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), índice de clorofila foliar (ICF), teor de clorofila a (Clo a), clorofila b (Clo b), clorofila total (Clo t), carotenóides (CAR), concentração de carboidratos totais (CT) e de aminoácidos totais (AT), atividade da enzima nitrato redutase (NR), acúmulo de nutrientes da parte aérea em nitrogênio (N-PA), fósforo (P-PA), potássio (K-PA), cálcio (Ca-PA), magnésio (Mg-PA), enxofre (S-PA), boro (B-PA), cobre (Cu-PA), ferro (Fe-PA), manganês (Mn-PA), zinco (Zn-PA), amônio (NH_4 -PA), nitrato (NO_3 -PA), acúmulo de nutrientes radiculares em nitrogênio (N-R), fósforo (P-R), potássio (K-R), cálcio (Ca-R), magnésio (Mg-R), enxofre (S-R), boro (B-R), cobre (Cu-R), ferro (Fe-R), manganês (Mn-R), zinco (Zn-R), amônio (NH_4 -R), nitrato (NO_3 -R), concentração substomática de CO_2 (Ci), condutância estomática (gs), taxa de fotossíntese líquida (A), transpiração foliar (E), eficiência do uso da água (EUA), conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas foliares (IIM).



Fonte: Elaborado pelo autor.

6 CAPÍTULO IV. INOCULAÇÕES E COINOCULAÇÕES DE *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* E *Pseudomonas fluorescens* EM ALFACE AMERICANA CULTIVADA EM SISTEMA HIDROPÔNICO

RESUMO: A inoculação com *P. fluorescens*, *A. brasilense* e *B. subtilis* mostrou resultados promissores no aumento da produtividade de folhas e na aquisição de nutrientes pelas plantas de alface. O estudo teve como objetivo verificar o efeito das inoculações e coinoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* sobre a produtividade, componentes produtivos, trocas gasosas, nitrato foliar e a nutrição de plantas de alface americana em cultivo sob hidroponia. A pesquisa foi realizada em casa de vegetação em Ilha Solteira, em sistema hidropônico NFT, com 35% de sombreamento. Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com cinco repetições. Os tratamentos foram oito combinações de inoculações via solução nutritiva (1. Não inoculado, 2. *A. brasilense*, 3. *B. subtilis*, 4. *P. fluorescens*, 5. *A. brasilense* + *B. subtilis*, 6. *A. brasilense* + *P. fluorescens*, 7. *B. subtilis* + *P. fluorescens* e 8. *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens*). As inoculações com *P. fluorescens* e com *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram as maiores produtividades de folhas de alface (89 e 92%) em comparação ao não inoculado, respectivamente. As coinoculações com *A. brasilense* + *B. subtilis* e com *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram aumentos de 196 e 208%, respectivamente na massa fresca da parte aérea em relação ao não inoculado. O aumento no acúmulo de 233 e 208% de N, 292 e 296% de K, 319 e 314% de Ca, 216 e 260% de Mg, 600 e 638% de Cu e 366 e 368% de Mn na parte aérea foi constatado com as inoculações com *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação ao controle. As inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis* e *A. brasilense* + *B. subtilis* proporcionaram aumentos, respectivamente, de 40, 40 e 56% na EUA; de 12, 11 e 13% no CRA; de 84, 83 e 87% no E; e de 36, 32 e 25% na clorofila total em relação ao controle. Verificou-se aumento de 68, 32, 45 e 51% na atividade da enzima nitrato redutase sob as respectivas inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis*, *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação ao controle. Houve redução do acúmulo de NO_3^- foliar na alface em 69, 83, 82 e 75% sob as inoculações com *A. brasilense*, *B. subtilis*, *A. brasilense* + *B.*

subtilis e *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens*, respectivamente. A inoculação isolada de *P. fluorescens* e a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* são as mais indicadas para cultivo de alface hidropônico, por proporcionar a maior produtividade, lucratividade e acúmulos de N, K, Ca, Mg, Cu e Mn. As inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis*, *A. brasilense* + *B. subtilis* e *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* favoreceram redução do acúmulo de NO_3^- na parte aérea das plantas de alface e o aumento da atividade da enzima nitrato redutase.

Palavras-Chave: *Lactuca sativa*; Assimilação de carbono; pigmentos fotossintéticos; absorção de nutrientes; nitrato redutase.

INOCULATION AND COINOCULATIONS OF *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* AND *Pseudomonas fluorescens* IN AMERICAN LETTUCE GROWN IN A HYDROPONIC SYSTEM

ABSTRACT: Inoculation with *P. fluorescens*, *A. brasilense* and *B. subtilis* showed promising results in increasing leaf productivity and nutrient acquisition by lettuce plants. The study aimed to verify the effect of inoculations and coinoculations of *A. brasilense*, *B. subtilis* and *P. fluorescens* on productivity, productive components, gas exchange, leaf nitrate and nutrition of hydroponic lettuce plants. The research was carried out in a greenhouse in Ilha Solteira, S. Paulo, Brazil, in a NFT hydroponic system, in a randomized block design with five replications. The treatments were eight combinations of inoculations via nutrient solution (1. Non-inoculated, 2. *A. brasilense*, 3. *B. subtilis*, 4. *P. fluorescens*, 5. *A. brasilense* + *B. subtilis*, 6. *A. brasilense* + *P. fluorescens*, 7. *B. subtilis* + *P. fluorescens* and 8. *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens*). Inoculation with *P. fluorescens* and *B. subtilis* + *P. fluorescens* provided the highest leaf productivity (89 and 92%) compared to non-inoculated, respectively. Co-inoculation with *A. brasilense* + *B. subtilis* and *B. subtilis* + *P. fluorescens* provided an increase of 196 and 208% in fresh mass of shoots compared to non-inoculated. The increase in the accumulation of 233 and 208% of N, 292 and 296% of K, 319 and 314% of Ca, 216 and 260% of Mg, 600 and 638% of Cu and 366 and 368% of Mn in the shoot under inoculations with

P. fluorescens and *B. subtilis* + *P. fluorescens*. Inoculations of *A. brasilense*, *B. subtilis* and *A. brasilense* + *B. subtilis* provided an increase of 40, 40 and 56% in EUA, 12, 11 and 13% in CRA, 84, 83 and 87% in E and 36, 32 and 25% in total chlorophyll respectively. As there was an increase of 68, 32, 45 and 51% in the activity of the nitrate reductase enzyme under the inoculations of *A. brasilense*, *B. subtilis*, *P. fluorescens* and *B. subtilis* + *P. fluorescens* in relation to the control respectively, and in the reduction of NO₃⁻ accumulation in 69, 83, 82 and 75% under inoculations with *A. brasilense*, *B. subtilis*, *A. brasilense* + *B. subtilis* and *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* respectively. Isolated inoculation of *P. fluorescens* and co-inoculation of *B. subtilis* + *P. fluorescens* are the most suitable for hydroponic lettuce cultivation, as they provide greater productivity, profitability and accumulation of N, K, Ca, Mg, Cu and Mn. Inoculations of *A. brasilense*, *B. subtilis*, *A. brasilense* + *B. subtilis* and *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* favored a reduction in the accumulation of NO₃⁻ in the aerial part of the plants and an increase in the activity of the enzyme nitrate reductase.

Keywords: Carbon assimilation; *Lactuca sativa*; photosynthetic pigments; nutrients uptake; nitrate reductase.

6.1 INTRODUÇÃO

A alface é a hortaliça folhosa com maior produção e consumo no mundo, por possuir características culinárias desejáveis para consumo “in natura” na forma de saladas (DALASTRA *et al.*, 2020). A alface americana é muito comercializada minimamente processada, para o consumo doméstico, fast food e restaurantes (FAOSTAT, 2022). Devido ao seu conteúdo em termos de vitaminas, minerais e compostos biologicamente ativos, como pigmentos fotossintéticos e fenóis, a alface também foi reconhecida como um importante alimento funcional (ARTÉS; ALLENDE, 2014).

A produção de alface é crescente no mundo, e conseguir produzir durante todo o ano tem sido uma problemática, principalmente, quando cultivada em solo, pelas alterações ambientais, dificuldade de controlar doenças radiculares e foliares em períodos prolongados de chuvas

(OPATOVSKY *et al.*, 2019). O sistema de recirculação de solução nutritiva que ocorre na Nutrient Film Technique (NFT) em hidroponia reduz doenças no cultivo de alface, além de aumentar a precocidade e produtividade das plantas e de reduzir o consumo de água em relação à produção de hortaliças folhosas em solo (DALASTRA *et al.*, 2020). Neste sistema, ocorre maior eficiência no uso da água, que é essencial para a crise hídrica global (KAPPEL *et al.*, 2021); além de conseguir aumentar a absorção e concentração de nutrientes nas plantas de alface (AINI *et al.*, 2019).

O uso de alternativas para aumentar a produtividade sem aumentar o consumo de produtos químicos, como os fertilizantes minerais, é primordial para reduzir os custos e aumentar a sustentabilidade na produção de hortaliça no mundo. A inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) tem sido uma tecnologia utilizada para aumentar a aquisição de nutrientes, o crescimento, o aproveitamento de água e ainda ganhos de produtividade, em diversas plantas cultivadas (FUKAMI *et al.*, 2018; LOPES *et al.*, 2021). O efeito isolado da inoculação de *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *B. subtilis* foram anteriormente testados e conseguiram proporcionar aumento no crescimento radicular, no acúmulo de massa na parte aérea das plantas e no acúmulo de nutrientes, como na atividade fotossintética das plantas de? (KANG *et al.*, 2019; MOREIRA *et al.*, 2022; KALANTARI *et al.*, 2022).

O efeito das coinoculações destas bactérias foi anteriormente utilizados e foi observado aumento na produtividade e no acúmulo de nutrientes no feijão (JALAL *et al.*, 2021; MORTINHO *et al.*, 2022), na cana-de-açúcar (ROSA *et al.*, 2020), no capim Mavuno (SÁ *et al.*, 2019), na soja (OLIVEIRA *et al.*, 2019) e na alface (ANGELINA *et al.*, 2020). Porém, os efeitos benéficos das coinoculações entre *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* não foi anteriormente testado via solução nutritiva em sistema hidropônico, para o cultivo de alface americana, o que pode aumentar a produtividade e a qualidade das plantas de alface produzidas.

Com a intenção de produzir alimentos saudáveis e de qualidade, reduzir o consumo de fertilizantes, aumentar a eficiência do uso da água e da produtividade de folhas, assim como na reduzir a concentração e acúmulo do nitrato foliar da alface em cultivo hidropônico, precisa-se pesquisar as inoculações isoladas ou em conjunto via solução nutritiva para melhorar o

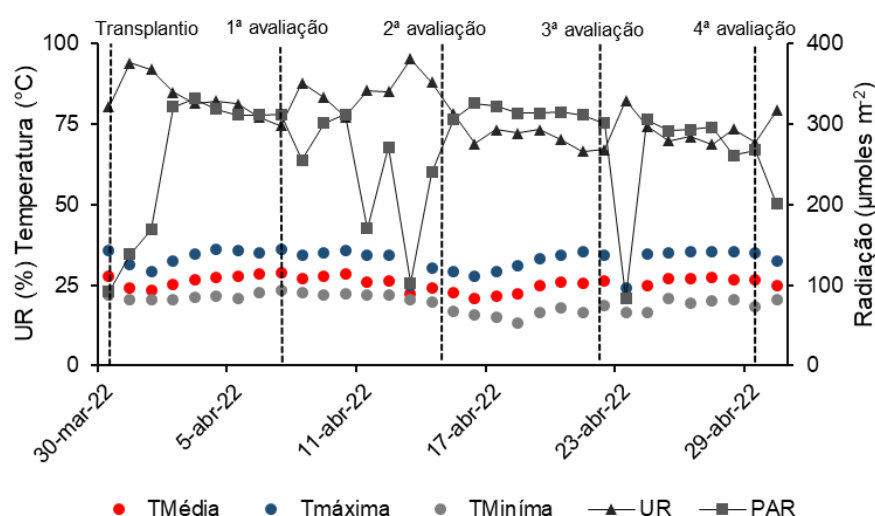
cultivo de alface na hidroponia. Com base nas doses obtidas em estudos anteriores e nos resultados promissores destacados anteriormente nesta tese. A hipótese do estudo é comparar o efeitos das inoculações isoladas e combinadas na melhora dos componentes produtivos, fisiológicos, nutricionais e econômicos. O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos das inoculações e coinoculações entre *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* via solução nutritiva na nutrição, nas trocas gasosas, nos pigmentos fotossintéticos, no crescimento e na produtividade de alface americana cultivada em sistema hidropônico, além do seu efeito sobre a lucratividade da cultura.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Localização e caracterização de cultivo

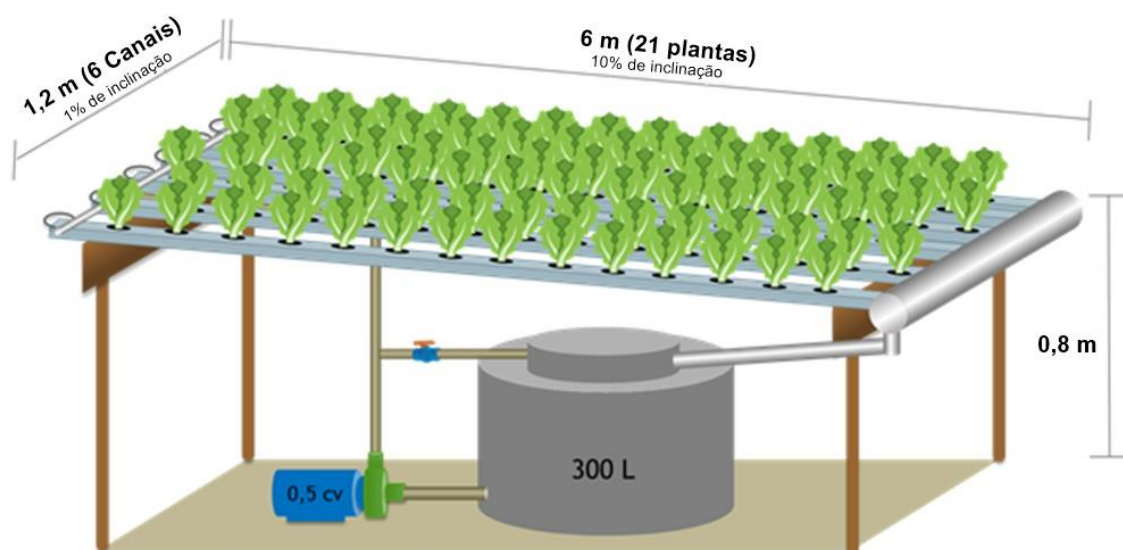
O experimento de alface hidropônica foi conduzido no sistema de cultivo NFT em cultivo protegido com 30% de sombreamento na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Ilha Solteira - SP com coordenadas geográficas (20° 25'07"S 51° 20 '31"W) e uma altitude de 376 m. Os dados meteorológicos foram coletados da área externa da estufa de uma estação meteorológica automática da UNESP entre o período de 30 de março a 30 de abril de 2022 (Figura 67).

Figura 67 - Condições climáticas de umidade relativa do ar (UR), temperatura máxima (T_{máxima}), média (T_{média}) e mínima (T_{mínima}) e radiação PAR (RAD) durante a realização do experimento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O experimento em sistema NFT continha bancadas individuais de seis metros de comprimento e 10% de declividade. Os canais de cultivo foram confeccionados em PVC com seção retangular de 8 cm de largura e 4 cm de altura e perfurações superiores para acomodar plantas a cada 25 cm (Figura 68). Cada bancada consistia em seis canais de cultivo distantes 20 cm com um sistema de bombeamento individual e um reservatório de 300 L com vazão de 1 L por minuto e período de exposição da solução nutritiva com fluxo contínuo. Figura 68 – Esquema da bancada de condução dos testes. Ilha Solteira, SP, 2022.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com cinco repetições, cada unidade experimental foi constituída por quatro plantas de alface coletadas na bancada aleatoriamente dos quatro canais centrais da bancada hidropônica. Os tratamentos foram constituídos por oito inoculação e co-inoculações de bactérias via solução nutritiva (1- não inoculação, 2- *A. brasilense*, 3- *B. subtilis*, 4- *P. fluorescens*, 5- *A. brasilense* + *B. subtilis*, 6- *A. brasilense* + *P. fluorescens*, 7- *B. subtilis* + *P. fluorescens* e 8- *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens*), nas doses 44 mL de *Azospirillum brasilense*, 32 mL *Bacillus subtilis* e 29 mL de *Pseudomonas fluorescens* para cada 100 L de solução nutritiva, aplicadas no dia do transplante das mudas de alface. Os inoculantes líquidos utilizados foram de *A. brasilense* com as estirpes AbV5 e AbV6 (garantia de 2×10^8 UFC mL⁻¹), *B. subtilis* com a estirpe CCTB04 (garantia

de 1×10^8 UFC mL⁻¹) e de *P. fluorescens* com a estirpe CCTB03 (garantia de 2×10^8 UFC mL⁻¹).

Utilizou-se a alface americana (cultivar Angelina), segundo informações da Sakata (2022), são plantas vigorosas, com excelente formação de saia, cabeças fechadas, compactas e uniformes em campo aberto e em hidroponia, nível moderado de resistência à bacteriose, folhas verdes intensas e brilhantes, segurança de plantio em períodos de oscilações climáticas (alta adaptação às condições de cultivo tropical).

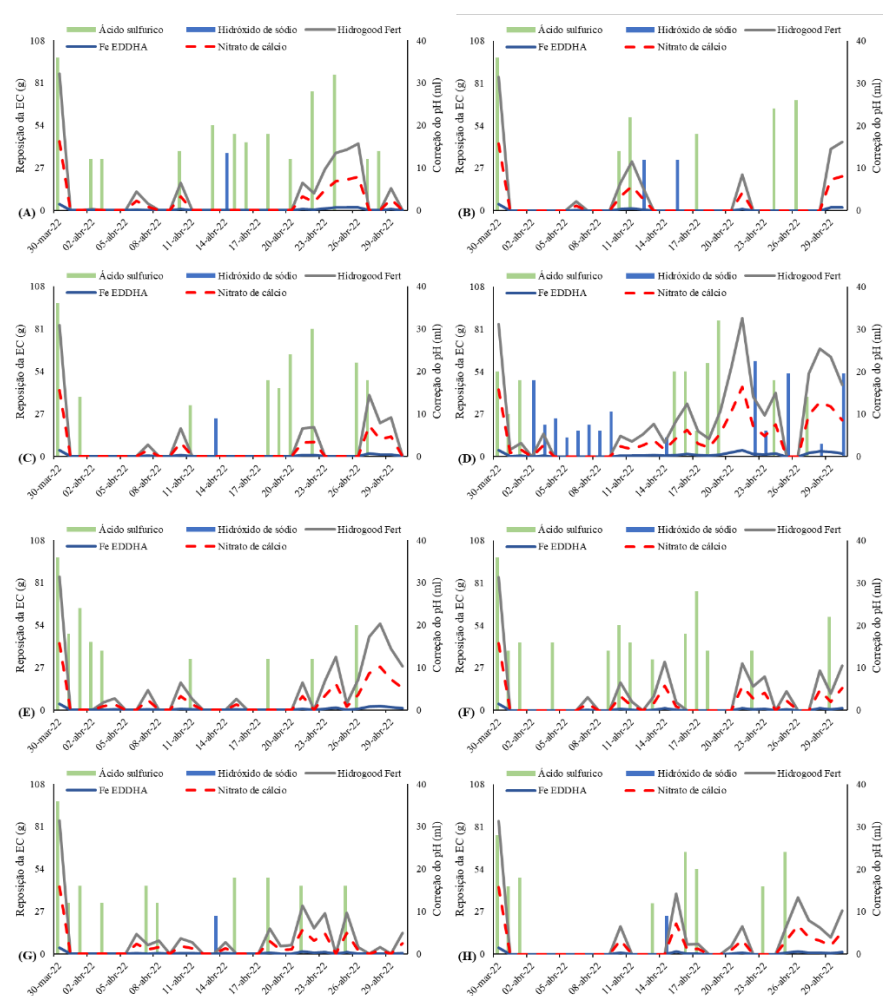
As mudas foram desenvolvidas em espuma fenólica por 15 dias e posteriormente transplantadas para bancadas permanentes do sistema NTF, onde permaneceram por 31 dias até a colheita. Foi realizada uma aplicação via solução nutritiva de fungicida de contato com princípio ativo ciazofamida (imidazol) na dose de 0,033 mL L⁻¹ para controle de *Pythium spp.* aos 10 dias após o transplântio (DAT) e do inseticida sistêmico com princípio ativo imidacloprido (neonicotinoides) na dose de 0,1 g L⁻¹ de solução nutritiva para o controle de tripses (*Frankliniella schultzei*) aos 10 DAT.

A solução nutritiva composta por fertilizantes concentrados Hidrogood Fert Nacional foi utilizada na dose de 0,666 g L⁻¹, indicada para todas as fases de desenvolvimento da cultura, com as seguintes concentrações de nutrientes (%): 10 de N, 9 de P, 28 de K, 4,3 de S, 3,3 de Mg, 0,06 de B, 0,01 de Cu, 0,05 de Mn, 0,07 de Mo e 0,02 de Zn; utilizou-se o Nitrato de Cálcio na dose de 0,495 g L⁻¹ com as seguintes concentrações de nutrientes (%): 15,5 de N e 26,5 de Ca; e também Hidrogood Fert Ferro EDDHA 6% de Fe na dose de 0,020 g L⁻¹.

A medição e correção da condutividade elétrica (CE) e do pH foram realizadas diariamente pela manhã, nesta ocasião a CE foi reajustada para a CE determinada para cada bancada de cultivo com a reposição de fertilizantes se necessário. Adicionalmente foi realizado no 1º, 8º, 16º e 24º dia após o transplântio (DAT) a suplementação com 35 mg L⁻¹ de KCl para melhorar o estado hídrico das plantas pelo efeito das elevadas temperaturas da região (determinação realizada em estudos prévios, pois a não suplementação proporcionou murcha nas plantas e queima nas bordas no período de maior calor diário) (Informação pessoal).

A condutividade elétrica inicial foi de $1,3 \text{ dS m}^{-1}$, sendo este valor elevado de acordo com o estágio de cultivo e sua resposta à adubação conforme descrito por Dalastra (2017). No 11º DAT elevou a CE determinada para $1,5 \text{ dS m}^{-1}$ e aos 21º DAT foram elevadas para $1,7 \text{ dS m}^{-1}$, valor que permaneceu até a colheita. Para manter o pH entre 6,0 e 6,5, foi utilizado ácido sulfúrico (25%) quando pH estava acima de 6,5, e hidróxido de sódio (25%) quando o pH ficou abaixo de 6,0. A reposição dos fertilizantes para aumentar a condutividade elétrica e ajuste no pH da solução nutritiva constam nas Figuras 69A, 69B, 69C, 69D, 69E, 69F, 69G e 69H.

Figura 69 – Correção do pH e reposição da condutividade elétrica (CE) em sistema hidropônico NFT, com cultivo de alface americana (cultivar Angelina), no tratamento controle (A), inoculado com *A. brasilense* (B), *B. subtilis* (C), *P. fluorescens* (D), *A. brasilense* + *B. subtilis* (E), *A. brasilense* + *P. fluorescens* (F), *B. subtilis* + *P. fluorescens* (G) e *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* (H) durante o período do experimento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2.3 Avaliações biométricas

As avaliações foram realizadas aos 10, 17, 24 e 31 DAT das mudas de alface, no momento da colheita de cada avaliação foi realizada a colheita da matéria fresca do sistema radicular e da parte aérea, quantificou-se o comprimento da parte aérea e das raízes, e o índice de clorofila foliar, utilizando-se o clorofilog Falker CFL-1030 (FALKER, 2008). Em seguida, o material foi enviado para secagem em estufa de ventilação forçada a 60 °C por 72 horas, para a obtenção da matéria seca do sistema radicular, da parte aérea. A produtividade da cultura foi baseada na população de plantas de 19,5 plantas m⁻², conforme a equação XXV:

$$\text{XXV. } Prod = MFF * PP$$

Prod: produtividade (kg m⁻²)

MFF: massa fresca das folhas (kg planta⁻¹)

PP: população de plantas (plantas m⁻²)

6.2.4 Avaliações nutricionais

Após secagem, pesagem e moagem dos materiais vegetais em moinho tipo Wiley, foram determinados segundo a metodologia de Malavolta *et al.* (1997), as concentrações de N, P, K, S, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, B e Zn na parte aérea da alface em todas as avaliações, nas raízes a quantificação de nutrientes foi realizado apenas na avaliação final (31 dias após o transplântio). Na avaliação final, foi determinada a concentração de nitrato e amônio nas folhas e raízes, que foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Silva (2009). O acúmulo de nutrientes na parte aérea e nas raízes das plantas foi calculado com base nas respectivas produtividades de massa seca e concentração de nutrientes nas plantas conforme a equação XXVI:

$$\text{XXVI. } AC = PMS * PP$$

AC: acúmulo de nutrientes (g ou mg m⁻²)

PMS: produtividade de massa seca (kg m⁻²)

CN: concentração de nutrientes (g ou mg kg⁻¹)

6.2.5 Avaliações trocas gasosas e estado hídrico da folha

A avaliação de trocas gasosas foi realizada em pelo menos oito plantas por tratamento, aos 17 e 31 dias após o transplântio das mudas, no período

entre as 9 h e as 11 h da manhã, em folhas totalmente expandidas localizada na parte mediana da planta, para tanto, utilizará um analisador de gás infravermelho (Infra Red Gas Analyser - CIRAS-3, modelo CRS300), sendo as condições inicialmente impostas de $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), 380 ppm de CO_2 e temperatura da câmara em 28°C . Na ocasião foram mensuradas a concentração interna de carbono (Ci - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s -mol de $\text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E -mmol de $\text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e taxa de fotossíntese líquida (A - $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a eficiência do uso da água (EUA - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$).

Na avaliação final foi determinado o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas celulares (IIM). O estado da água das plantas foia determinado pelo conteúdo de água relativo da folha (CRA). O CRA foi calculado de acordo com a equação XXVII:

$$\text{XXVII. CRA (\%)} = \left[\frac{(\text{MF} - \text{MS})}{(\text{MT} - \text{MS})} \right] * 100$$

Dez discos de folhas de 25 mm de diâmetro foram coletados às 8 h da manhã (ao amanhecer) de quatro folhas de cada planta, e em seguida, pesado imediatamente para a determinação de massa fresca (MF). Para a medição de massa túrgida (MT), discos de folhas foram submersos por 12 h em água destilada em 25°C ; depois disso, foram secados suavemente em uma toalha de papel e pesados. As amostras foram então secas em estufa a 75°C por 24 horas e pesadas para determinar a massa seca (MS).

O índice de estabilidade da membrana da folha (IIM), de acordo com Lutts *et al.* (1996), utilizando-se dez discos foliares (25 mm de diâmetro) de quatro folhas da planta, foram lavadas em água destilada, colocadas em tubos contendo 50 mL de água deionizada, e mantida a 25°C em banho-maria por 6 h. A condutividade elétrica da solução foi analisada com medidor de CE (C1). Posteriormente, as amostras foram colocadas em banho-maria (100°C) por 1 h, e a condutividade elétrica (C2) foi avaliada após equilíbrio a 25°C . O índice de estabilidade de membranas celulares foi estimado de acordo com a seguinte equação XXVIII:

$$\text{XXVIII. IIM} = \left[1 - \left(\frac{\text{C1}}{\text{C2}} \right) \right] * 100$$

6.2.6 Avaliações enzimáticas, clorofila, aminoácidos e carboidratos

A atividade da enzima nitrato redutase (NR) *in vivo* foi determinada de acordo com a metodologia de Radin (1974). Foram coletadas a 2ª e 3ª folha completamente expandidas a partir do ápice entre as 9 e 10 h da manhã para evitar grandes interferências da intensidade luminosa sobre a atividade da enzima e de clorofila foliar. Amostras de tecido foliar fresco foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório em gelo, e lavadas com água deionizada. Em seguida, 100 mg de tecido fresco cortado em discos foram transferidos para tubos de ensaio contendo 3 mL de solução tampão fosfato pH 7,4 (50 mmol L⁻¹ + 200 mmol L⁻¹ KNO₃).

Estas amostras foram infiltradas a vácuo durante 2 min para aumentar a penetração da solução nos tecidos. Em seguida, os tubos de ensaio foram incubados em banho-maria a 33 °C por 30 minutos envoltos em papel alumínio contra a luz. A reação foi interrompida pela adição de 1 mL de sulfanilamida a 1% em solução de HCl 2 mol L⁻¹ e, em seguida, 1 mL de solução de naftilenodiamina a 0,05%. O nitrito (NO₂⁻) produzido foi medido em espectrofotômetro a 540 nm, utilizando-se uma curva de calibração padrão de nitrito. A atividade da enzima esteve diretamente relacionada com a quantidade de NO₂⁻ e os resultados foram expressos em µmol NO₂⁻ g⁻¹ h⁻¹ de massa fresca (MF).

Os teores de clorofila a (Clo a), b (Clo b), total (Col t) e carotenóides (CAR) foram determinados usando-se o agente extrator DMSO. O peso fresco do tecido foliar (50 mg) foi cortado em fragmentos de 1 mm e incubado em 7 mL de DMSO no escuro em banho-maria a 65 °C por 30 min (HISCOX; ISRAELSTAM, 1979). Após as leituras no espectrofotômetro, os teores dos pigmentos fotossintéticos foram calculados e expressos em mg g⁻¹ MF. Conforme as equações XXIX, XXX, XXXI e XXXII:

$$\text{XXIX. } Clo\ a = (12.70 * ABS_{663}) - (2.69 * ABS_{645})$$

$$\text{XXX. } Clo\ a = (22.90 * ABS_{645}) - (4.68 * ABS_{663})$$

$$\text{XXXI. } Clo\ t = (20.20 * ABS_{663}) + (8.02 * ABS_{663})$$

$$\text{XXXII. } CAR = ((1000 * ABS_{470}) - (1.29 * Clo\ a - 53.38 * Clo\ b) \div 198)$$

Os aminoácidos totais foram quantificados com o método da ninidrina ácida (YEMM *et al.*, 1955). Foram utilizados 100 µL do extrato solúvel em água com 900 µL de H₂O, 500 µL de tampão citrato, 200 µL de ninidrina a 5% em

metilglicol e 1 mL de solução de KCN 0,0002 M. As amostras foram aquecidas em banho-maria a 100 °C por 20 min e colocadas para resfriar em temperatura ambiente para posterior inclusão de 1 mL de etanol 60%. A determinação foi realizada em espectrofotômetro a $\lambda = 570$ nm com os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

Os carboidratos totais foram determinados de acordo com o método da enthrone descrito por Yemm e Willis (1954). 1 mL do extrato solúvel em água foi adicionado a um tubo de ensaio com 1 mL de solução de anthrona (0,2% em ácido sulfúrico), seguido de agitação e posterior incubação em banho-maria por 10 min e resfriamento em temperatura ambiente. Em seguida, a determinação foi realizada em espectrofotômetro em $\lambda = 620$ nm. A concentração de carboidratos totais foi medida por meio da curva padrão da solução de glicose e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

6.2.7 Análise econômica

A análise econômica foi realizada por meio da estrutura baseada no Custo Operacional Total (COT) de produção, utilizada pelo Instituto de Economia Agrícola (IEA), segundo Matsunaga *et al.* (1976), que consiste na soma dos custos de despesas: operações, insumos (fertilizantes, sementes, agroquímicos, etc.), mão de obra, maquinários e sistema de irrigação, denominado Custo Operacional Efetivo (COE). Além disto o COT, considerou outras despesas e taxas de juros, representando 5,0% do COE (MATSUNAGA *et al.*, 1976), resultando no custo operacional total (COT), que foi extrapolado para um hectare.

6.2.8 Análise estatística

Como os dados de todas as variáveis apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas (Shapiro Wilk-Test), foram submetidos à análise de variância. A significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância foi testada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. As médias relativas as inoculações foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Usando o pacote corrplot para avaliar a correlação os componentes produtivos, fisiológicos e nutricionais usando o software R (R Core Team 2015).

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Componentes produtivos em resposta as inoculações

Verificou-se efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações sobre o comprimento da parte aérea e das raízes de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT (Tabela 55).

Tabela 55 – Análise de variância dos valores de F calculado para o comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR) de alface americana (cultivar Angelina), aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT.

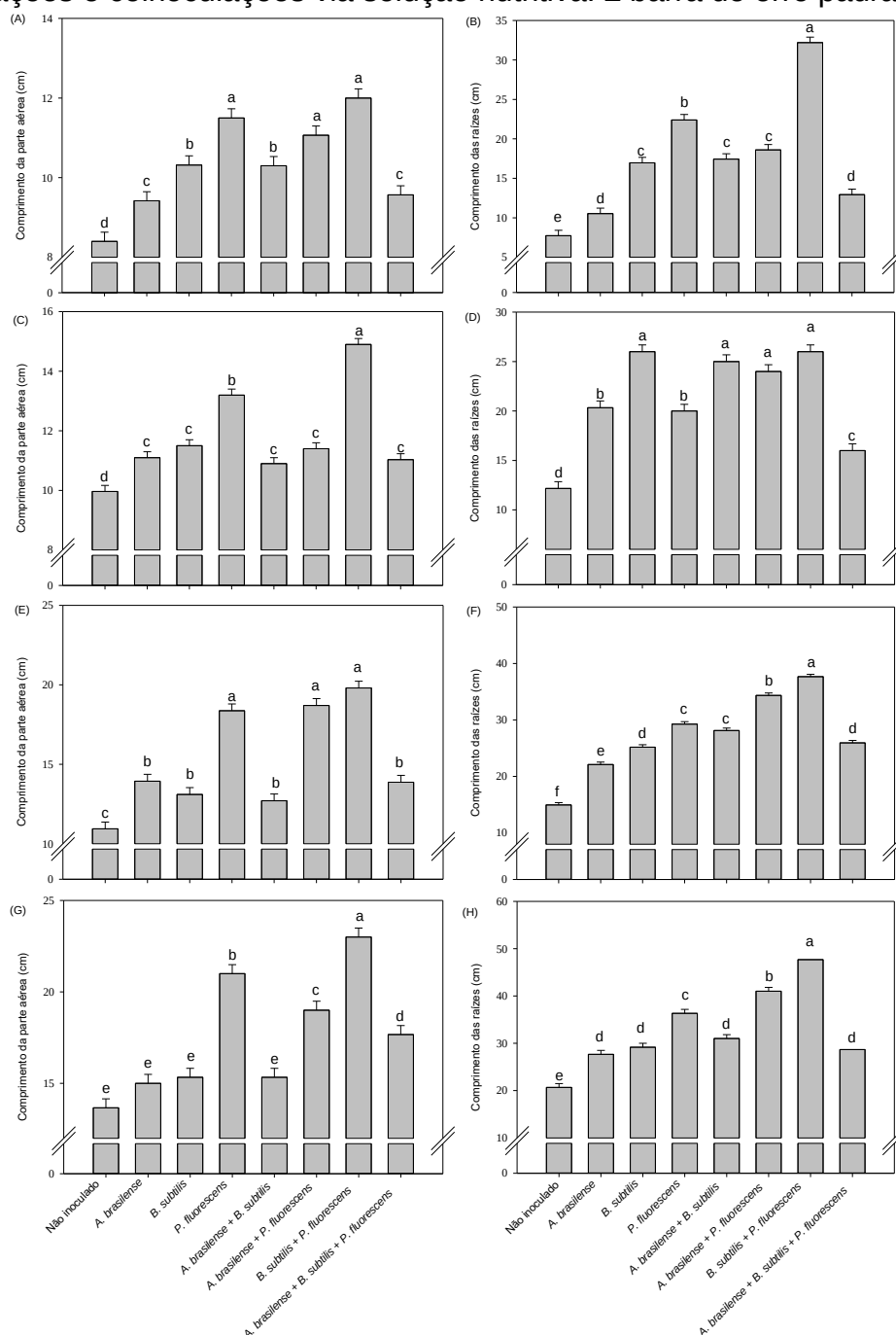
F.V.	CPA	CR	CPA	CR	CPA	CR	CPA	CR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,62ns	5,73*	0,76ns	0,38ns	0,57ns	0,35ns	4,20*	0,37ns
Inoculações	25,72**	54,12**	56,33**	124,69**	56,91**	81,76**	43,26**	149,11**
CV (%)	3,92	5,62	3,07	6,81	4,97	5,82	4,93	4,51
Média (cm)	10,32	17,35	11,75	21,19	15,18	27,19	17,50	32,77

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os maiores comprimentos da parte aérea foram observados sob as inoculações *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação aos demais tratamentos, aos 10 e 24 DAT (Figuras 70A e 70E). Por outro lado, a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* proporcionou maior comprimento da parte aérea da alface em relação aos demais tratamentos aos 17 e 31 DAT (Figura 70C e 70G). Como o maior crescimento das raízes foram observados sob a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* em relação aos demais, aos 10, 24 e 31 DAT (Figuras 70B, 70F e 70H). Todas as inoculações proporcionaram maior crescimento radicular em relação ao controle, com destaque para *B. subtilis*, *A. brasilense* + *B. subtilis*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* aos 17 DAT (Figura 70D).

Figura 70 – Comprimento da parte aérea a os 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o comprimento das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina), em sistema hidropônico NFT em resposta às inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo das inoculações sobre a massa fresca da parte aérea e das raízes das plantas de alface americana aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT (Tabela 56).

Tabela 56 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (MFR) aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT, considerando inoculações e coinoculações via solução nutritiva.

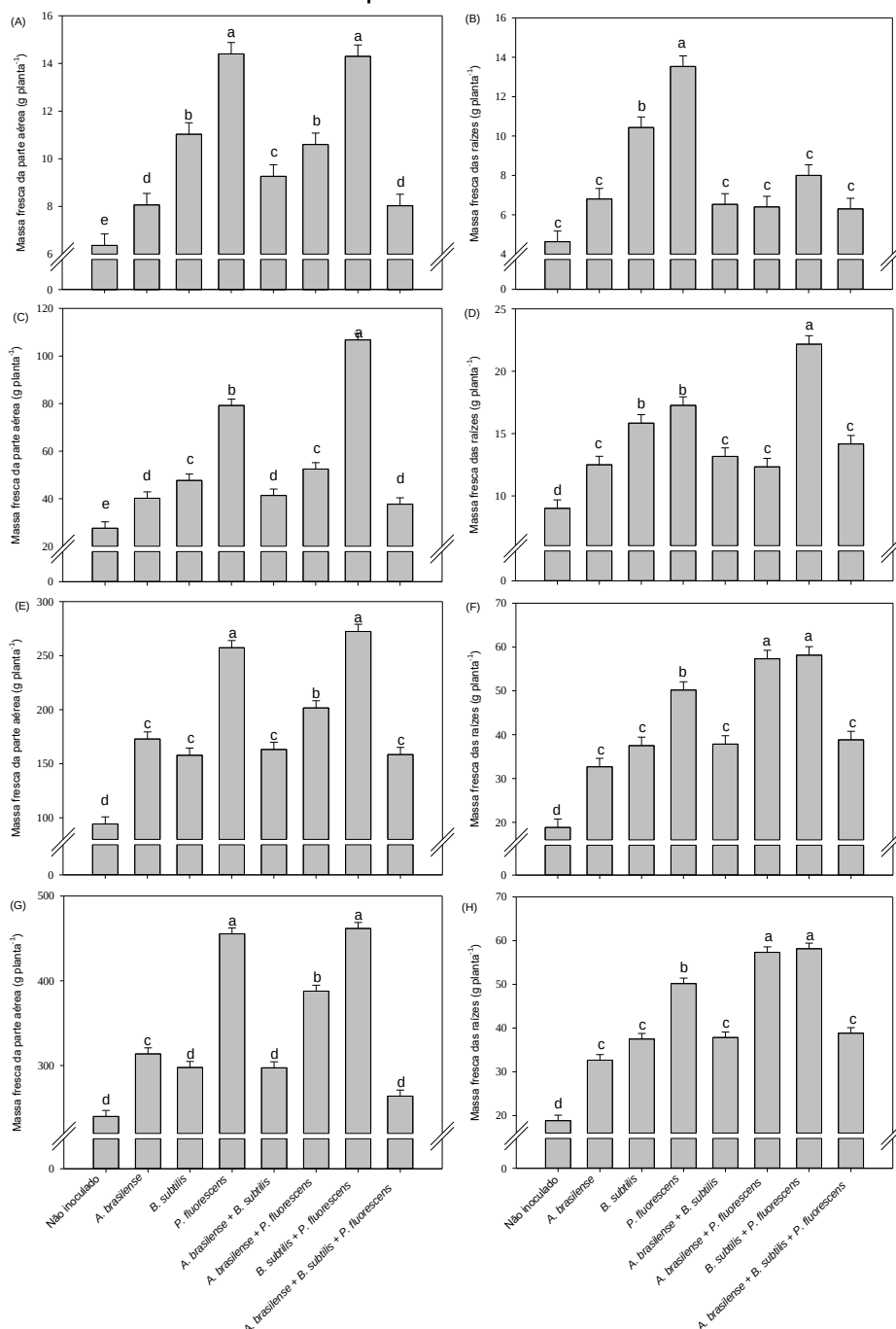
F.V.	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,31ns	2,58ns	0,63ns	0,50ns	1,88ns	1,28ns	0,95ns	2,32ns
Inoculações	36,56**	28,09**	94,62**	33,13**	75,47**	46,88**	135,39**	194,88**
CV (%)	8,18	11,88	8,59	8,16	6,25	8,10	3,86	4,05
Média (g planta ⁻¹)	10,26	7,83	54,15	14,55	184,73	41,42	339,68	54,07

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A inoculação com *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram as maiores massas frescas da parte aérea das plantas de alface em relação aos demais tratamentos aos 10, 17, 24 e 31 DAT (Figuras 71A, 71C, 71E e 71G). A maior massa fresca das raízes foi observada sob a inoculação de *P. fluorescens* em relação aos demais aos 10 DAT (Figura 71B); e sob a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* aos 17 DAT (Figura 71D). Porém, as coinoculações de *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram maiores massas frescas das raízes nas plantas de alface americana aos 24 e 31 DAT (Figuras 71F e 71H).

Figura 71 – Massa fresca da parte aérea aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa fresca das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta às inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Reportou-se efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações sobre a massa seca da parte aérea e das raízes de alface americana cultivada em sistema hidropônico aos 10, 17, 24 e 31 DAT (Tabela 57).

Tabela 57 – Análise de variância dos valores de F calculado para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR) aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT.

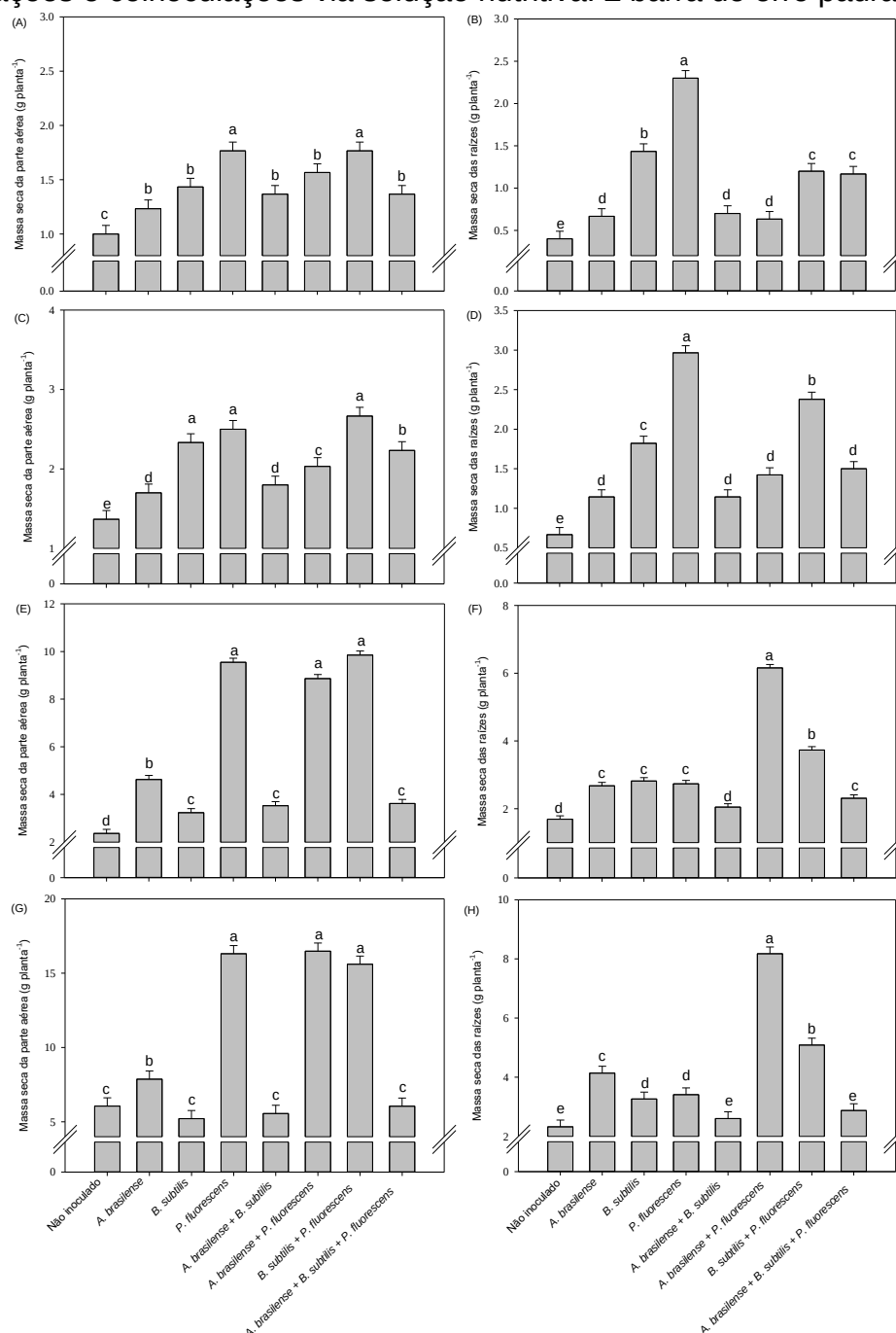
F.V.	MSPA	MSR	MSPA	MSR	MSPA	MSR	MSPA	MSR
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,19ns	1,33ns	0,19ns	2,62ns	0,15ns	3,28ns	0,68ns	0,35ns
Inoculações	10,24**	38,27**	13,94**	273,92**	338,03**	180,72**	90,42**	64,89**
CV (%)	9,82	16,09	9,77	4,06	5,20	6,00	9,63	10,32
Média (g planta ⁻¹)	1,44	1,06	2,08	1,39	5,70	3,02	9,89	3,98

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A maior massa seca da parte aérea foi observado sob a inoculação com *P. fluorescens* e a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação as demais inoculações aos 10 DAT (Figura 72A); aos 17 DAT a inoculação com *B. subtilis*, *P. fluorescens* e a coinoculação com *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram maiores massas secas da parte aérea das plantas de alface em relação aos demais tratamentos (Figura 72C). Por outro lado, aos 24 e 31 DAT a maior massa seca da parte aérea foi observado sob a inoculação com *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* (Figuras 72E e 72G). A maior massa seca das raízes foi observado sob inoculação com *P. fluorescens* em relação aos demais aos 10 e 17 DAT (Figuras 72B e 72D); a coinoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* proporcionou maior acúmulo de massa seca das raízes das plantas de alface em relação as outras inoculações aos 24 e 31 DAT (Figuras 72F e 72H).

Figura 72 – Massa seca da parte aérea aos 10 dias após transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e a massa seca das raízes aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface americana (cultivar Angelina) em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Notou-se efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações sobre a produtividade de folhas fresca e número de folhas de alface americana cultivada em sistema hidropônico (Tabela 58).

Tabela 58 – Análise de variância dos valores de F calculado para a produtividade de folhas e número de folhas por planta de alface aos 31 dias após o transplântio - DAT.

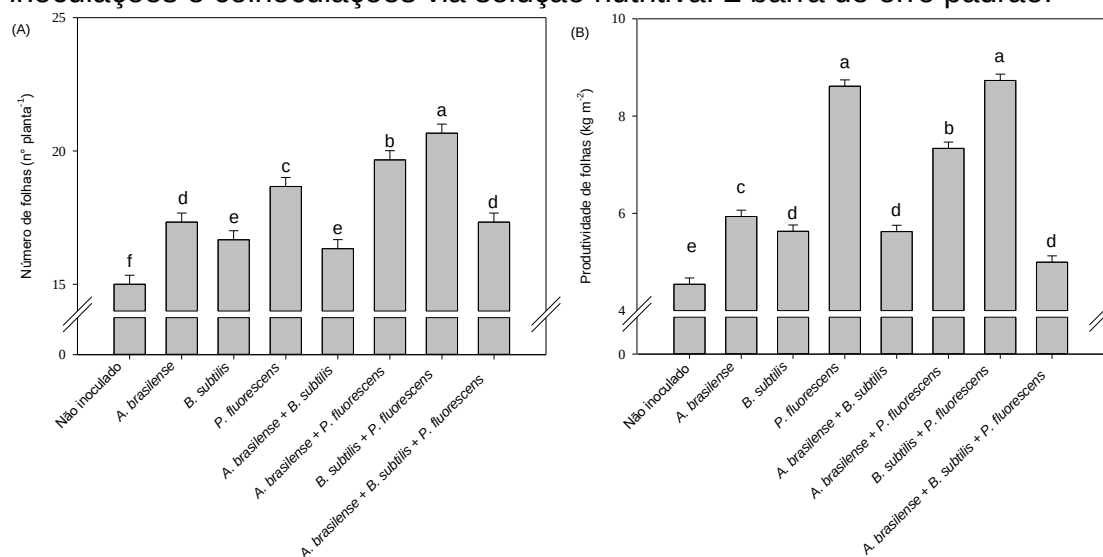
F.V.	Produtividade de folhas	Número de folhas
	31 DAT	
Bloco	4,78*	2,18ns
Inoculações	143,74**	28,44**
CV (%)	3,87	3,40
Média	6,42 (kg m ²)	17,71 (n° planta ⁻¹)

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O maior número de folhas de alface foi observado sob a coinoculação com *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação aos demais tratamentos (Figura 73A); por outro lado, a inoculação isolada com *P. fluorescens* e a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram as maiores produtividades de massa fresca de folhas de alface americana cultivada em hidroponia em relação aos demais tratamentos (Figura 73B).

Figura 73 – Número de folhas (A) e produtividade de massa fresca de folhas (B) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta às inoculações e coinoculações via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações e coinoculações sobre o índice de clorofila foliar (ICF) de alface americana cultivada em sistema hidropônico aos 10, 17, 24 e 31 DAT (Tabela 59).

Tabela 59 – Análise de variância dos valores de F calculado para o índice de clorofila foliar aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio (DAT).

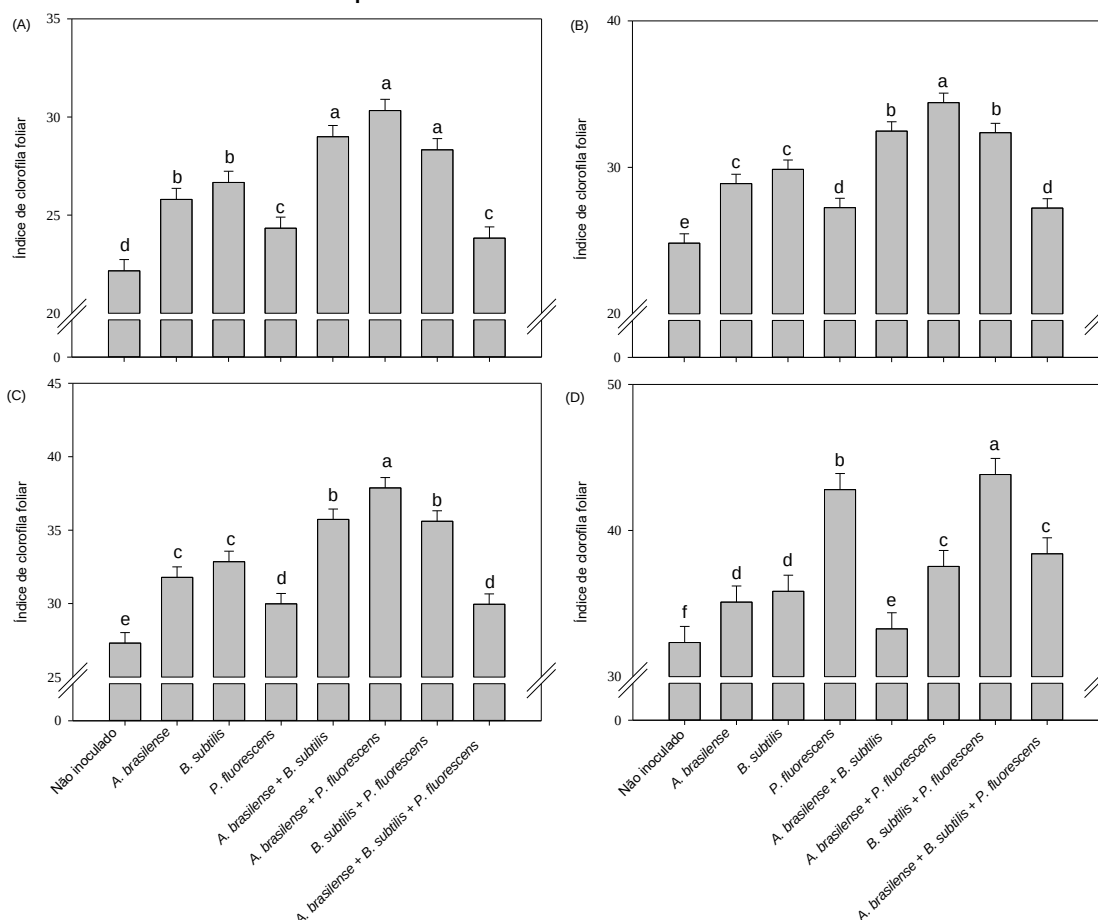
F.V.	Índice de clorofila foliar			
	10 DAT	17 DAT	24 DAT	31 DAT
Bloco	1,60ns	1,90ns	1,90ns	2,97ns
Inoculações	23,85**	24,97**	24,98**	14,31**
CV (%)	3,78	3,79	3,99	5,11
Média	26,31	29,67	32,64	37,39

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As coinoculações de *A. brasilense* + *B. subtilis*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram maiores índices de clorofila foliar aos 10 DAT (Figura 74A). Contudo, aos 17, 24 e 31 DAT, o maior índice de clorofila foliar foi observado sob a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação às outras inoculações (Figuras 74B, 74C e 74D).

Figura 74 – Índice de clorofila foliar aos 10 dias após o transplântio - DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6.3.2 Acúmulo de nutrientes na parte aérea em resposta às inoculações

Os acúmulos de N e P na parte aérea das plantas de alface foram influenciados significativamente ($p < 0,01$) pelas inoculações e coinoculações aos 10, 17, 24 e 31 DAT (Tabela 60).

Tabela 60 – Análise de variância dos valores de F calculado para o acúmulo de N e de P na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 dias após transplântio (DAT).

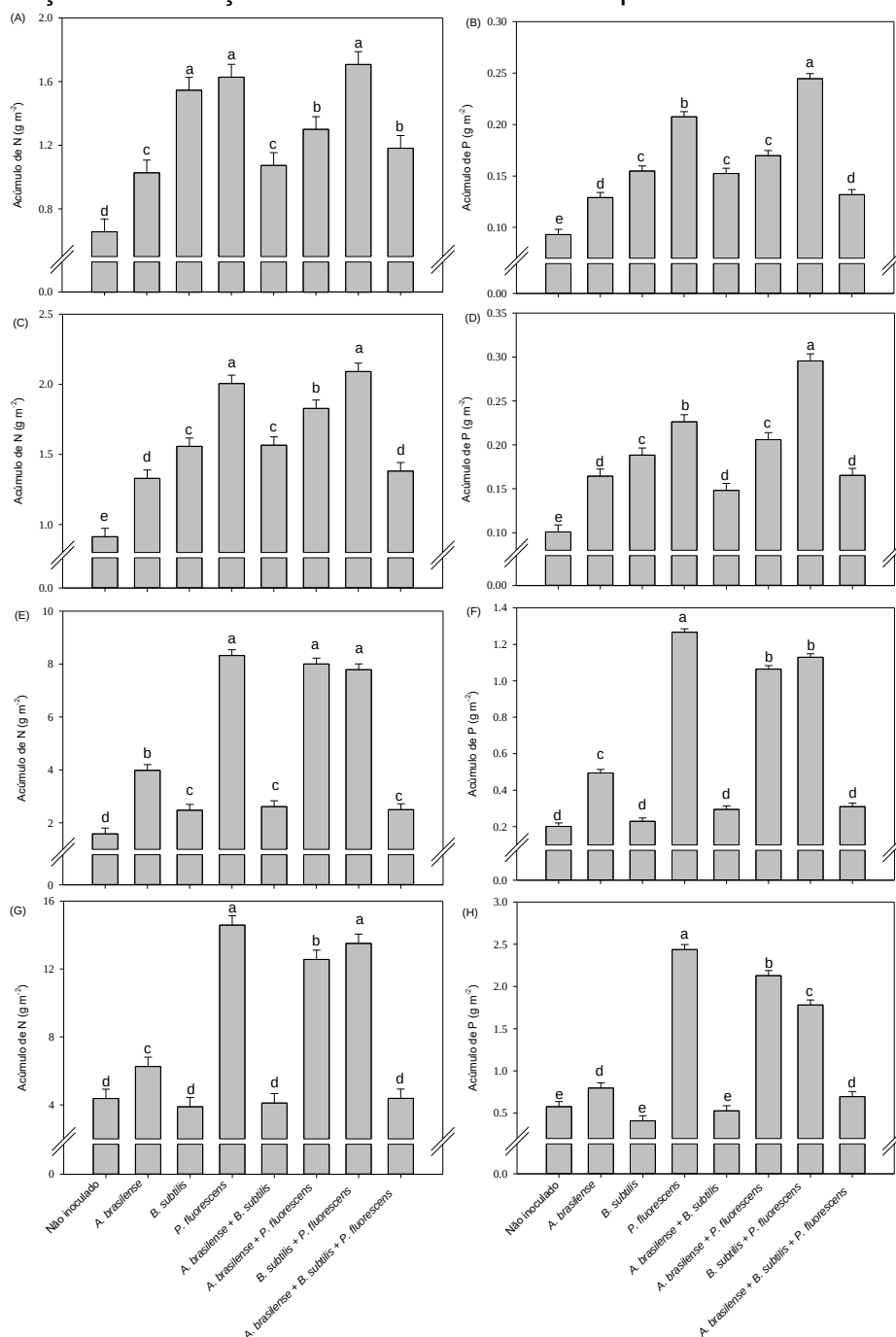
F.V.	N	P	N	P	N	P	N	P
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,98ns	0,81ns	0,40ns	0,20ns	0,66ns	0,67ns	1,45ns	1,70ns
Inoculações	17,18**	17,81**	36,71**	41,84**	165,39**	528,41**	71,42**	149,72**
CV (%)	11,17	12,14	7,02	8,24	8,33	5,47	12,14	9,81
Média (g m ⁻²)	1,27	0,16	1,58	0,19	4,66	0,62	7,96	1,17

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As inoculações isoladas de *B. subtilis* e *P. fluorescens* e a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* propiciaram os maiores acúmulos de N na parte aérea das plantas de alface aos 10 DAT em relação às demais inoculações (Figura 75A). Aos 17 e 31 DAT, os maiores acúmulos de N foram verificados sob a inoculação de *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em comparação aos outros tratamentos (Figuras 75C e 75G); por outro lado, aos 24 DAT, a inoculação com *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram maiores acúmulos de N na parte aérea (Figura 75E). O maior acúmulo de P na parte aérea das plantas de alface foi observado com a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* aos 10 e 17 DAT (Figuras 75B e 75D); porém, a inoculação isolada de *P. fluorescens* propiciou maior acúmulo de P na parte aérea das plantas de alface aos 24 e 31 DAT em relação aos demais tratamentos (Figuras 75F e 75H).

Figura 75– Acúmulo de nitrogênio na parte aérea aos 10 dias após transplântio - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de fósforo na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve efeito significativo ($P < 0,01$) das inoculações e coinoculações para os acúmulos de K e S na parte aérea da alface americana cultivada em sistema hidropônico (Tabela 61).

Tabela 61 – Análise de variância dos valores de F calculado para o acúmulo de K e de S na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT.

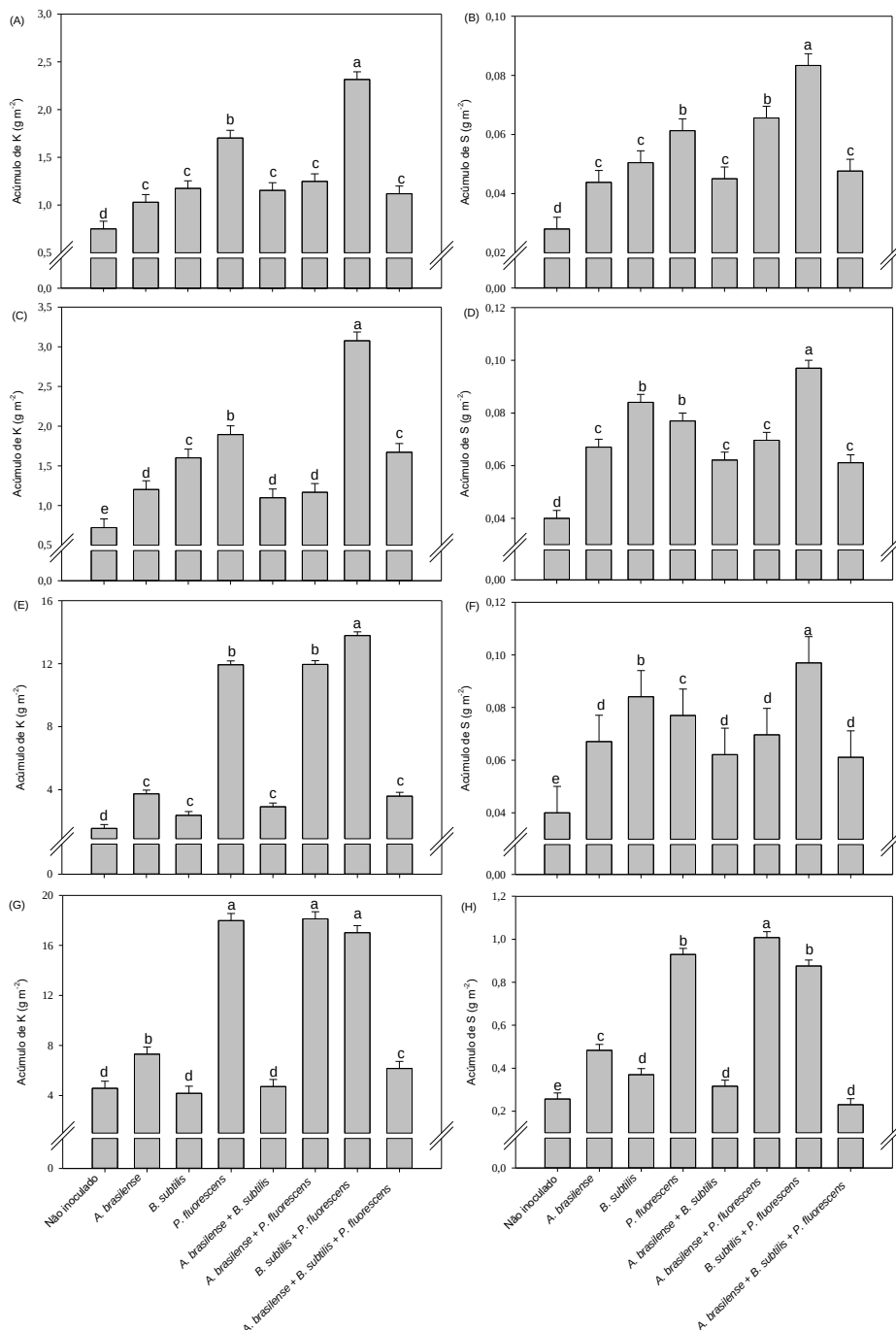
F.V.	K	S	K	S	K	S	K	S
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,81ns	0,55ns	0,15ns	0,09ns	0,72ns	1,73ns	0,45ns	0,48ns
Inoculações	36,39**	15,46**	42,17**	18,58**	449,29**	220,80**	127,48**	130,18**
CV (%)	10,60	13,65	12,35	9,91	6,44	7,23	9,90	8,83
Média (g m ⁻²)	1,31	0,05	1,55	0,07	6,49	0,29	10,01	0,56

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* propiciou maiores acúmulos de K e S na parte aérea em relação às outras inoculações aos 10, 17 e 24 DAT (Figuras 76A, 76B, 76C, 76C, 76E e 76F), porém, aos 31 DAT o maior acúmulo de S foi observado sob a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* em relação aos demais (Figura 76H); e os maiores acúmulos de K foram verificados sob as inoculações *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* aos 31 DAT em comparação aos demais tratamentos (Figura 76G).

Figura 76 – Acúmulo de potássio na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de enxofre na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os acúmulos de Ca e Mg na parte aérea da alface americana foi influenciado ($p < 0,01$) pelas inoculações e coinoculações via solução nutritiva em sistema hidropônico (Tabela 62).

Tabela 62 – Análise de variância dos valores de F calculado para o acúmulo de Ca e de Mg na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.

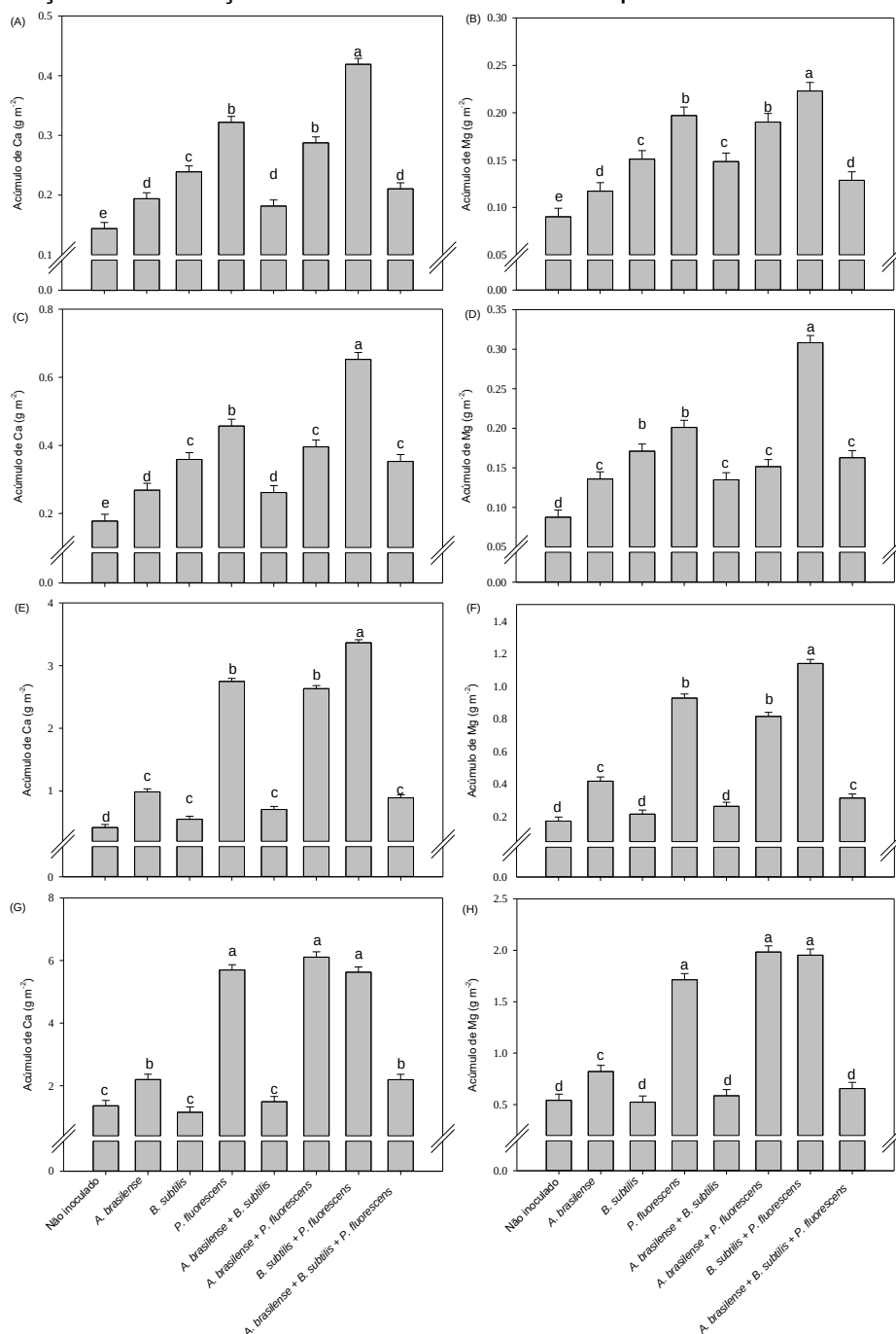
F.V.	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	1,02ns	1,05ns	0,20ns	0,27ns	0,10ns	0,02ns	0,15ns	1,27ns
Inoculações	28,15**	21,45**	48,68**	43,64**	576,80**	209,56**	158,01**	111,23**
CV (%)	11,78	10,98	9,90	10,04	5,50	8,30	9,29	9,92
Média (g m ⁻²)	0,25	0,16	0,37	0,17	1,54	0,53	3,23	1,10

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os maiores acúmulos de Ca e Mg na parte aérea das plantas de alface foram obtidos sob a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* aos 10, 17 e 24 DAT em relação às outras inoculações (Figuras 77A, 77B, 77C, 77D, 77E e 77F); por outro lado, os maiores acúmulos de Ca e Mg aos 31 DAT foram verificados com as inoculações de *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em comparação aos demais tratamentos (Figuras 77G e 77H).

Figura 77 – Acúmulo de cálcio na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de magnésio na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações e coinoculações para os acúmulos de B e Cu na parte aérea de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT (Tabela 63).

Tabela 63 – Análise de variância dos valores de F calculado para o acúmulo de B e de Cu na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplântio - DAT.

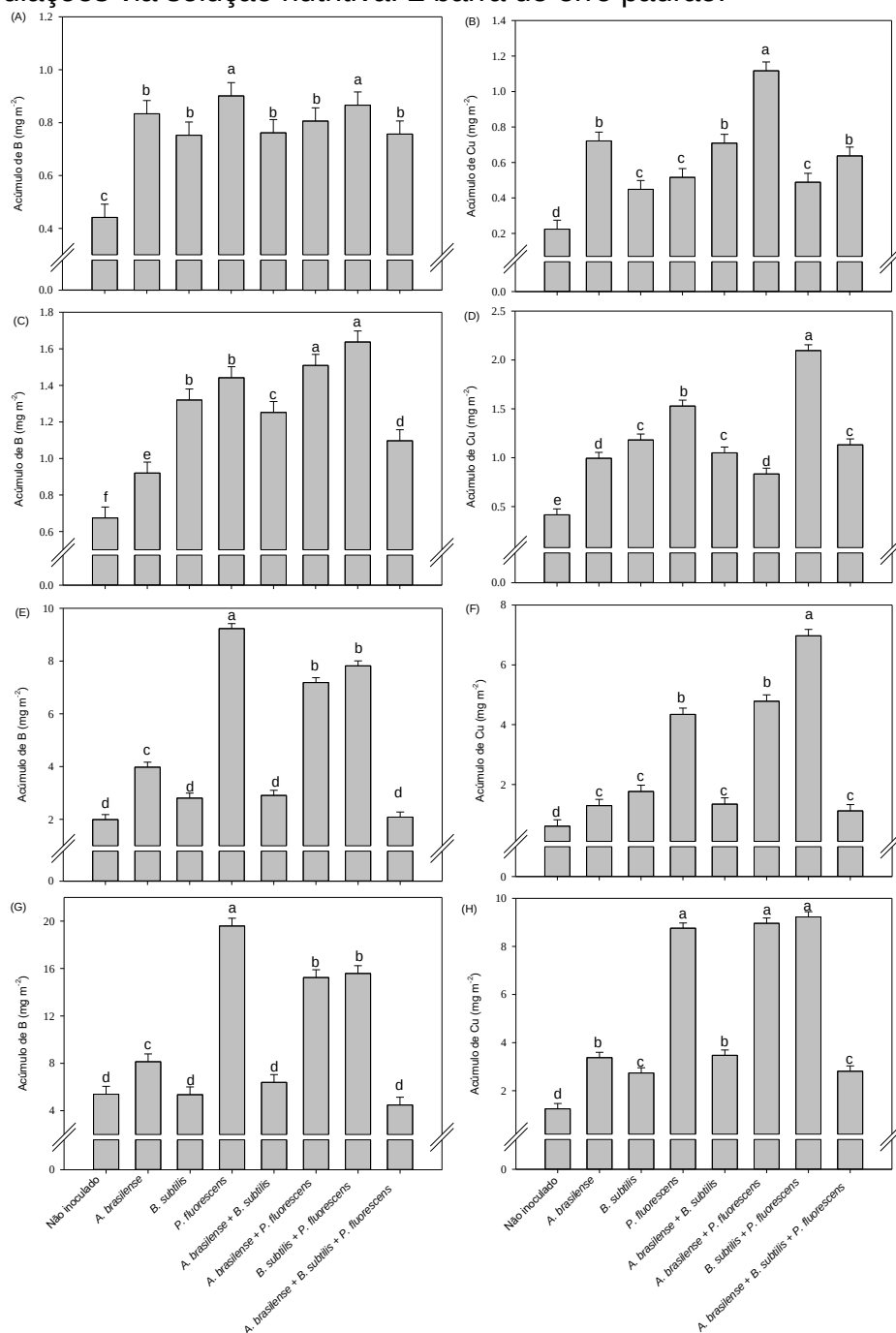
F.V.	B	Cu	B	Cu	B	Cu	B	Cu
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,77ns	0,65ns	0,67ns	0,29ns	0,44ns	1,80ns	0,38ns	0,24ns
Inoculações	7,24**	23,28**	27,89**	52,59**	209,26**	117,62**	77,06**	220,34**
CV (%)	11,88	15,48	8,53	10,24	7,25	13,17	11,53	7,60
Média (mg m ⁻²)	0,76	0,61	1,23	1,15	4,75	2,78	10,02	5,07

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Aos 10 DAT, os maiores acúmulos de B foram observados sob a inoculação de *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em comparação aos demais (Figura 78A); os maiores acúmulos de B aos 17 DAT foram verificados sob as coinoculações de *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* (Figura 78C). Por outro lado, aos 24 e 31 DAT o maior acúmulo de B foi observado sob a inoculação de *P. fluorescens* em relação aos demais tratamentos (Figuras 78E e 78G). O maior acúmulo de Cu na parte aérea da alface americana ocorreu sobre a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* em comparação aos outros tratamentos aos 10 DAT (Figura 78B); porém, aos 17 e 24 DAT este efeito foi observado sob a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* (Figuras 78D e 78F). A inoculação de *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* propiciaram maiores acúmulos de Cu na parte aérea das plantas de alface americana cultivadas em sistema hidropônico (Figura 78H).

Figura 78 – Acúmulo de boro na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e acúmulo de cobre na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Constatou-se efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações e coinoculações via solução nutritiva para os acúmulos de Fe e Zn na parte aérea das plantas de alface hidropônica aos 10, 17, 24 e 31 DAT (Tabela 64).

Tabela 64 – Análise de variância dos valores de F calculado para o acúmulo de Fe e de Zn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 dias após o transplantio - DAT.

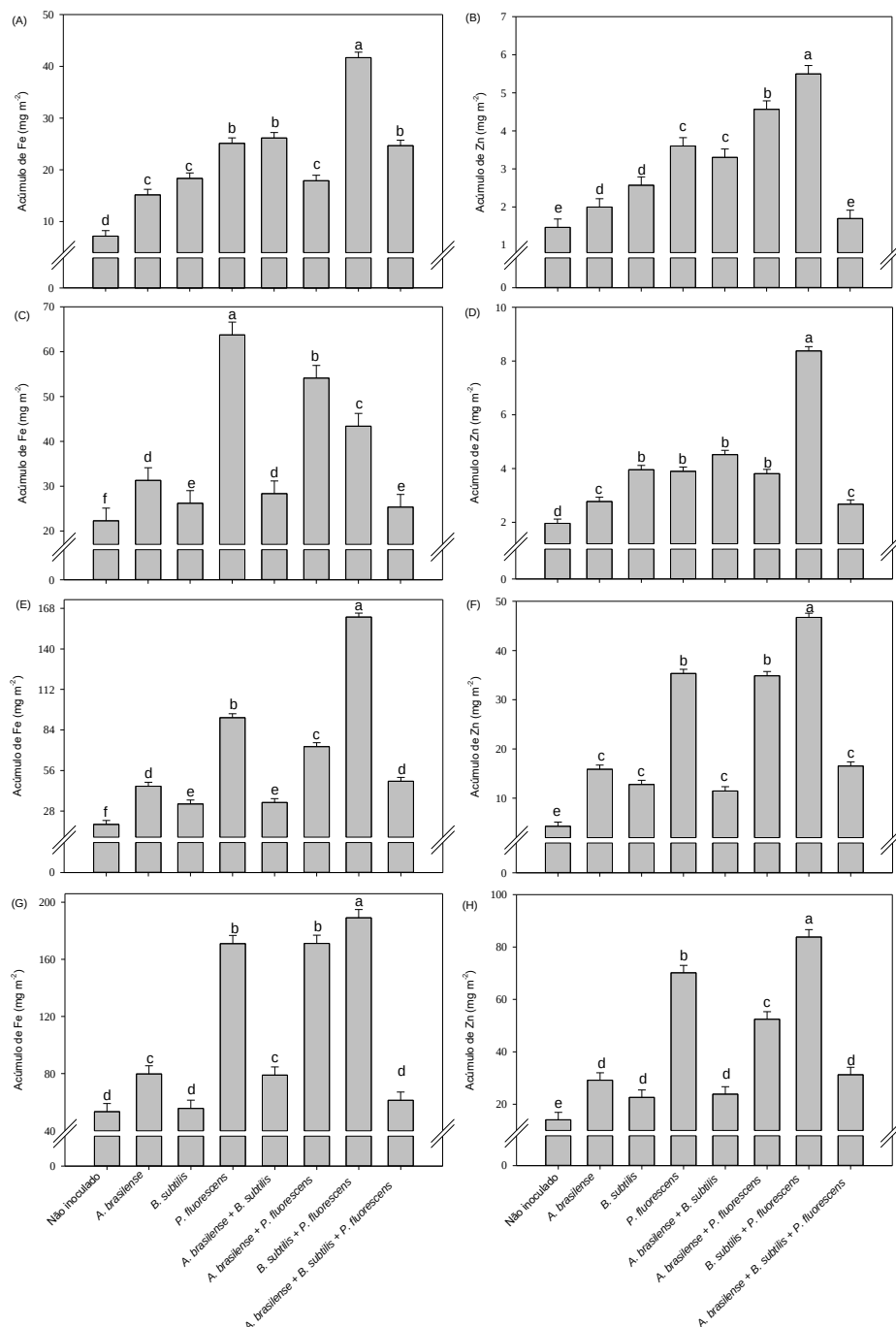
F.V.	Fe	Zn	Fe	Zn	Fe	Zn	Fe	Zn
	10 DAT		17 DAT		24 DAT		31 DAT	
Bloco	0,88ns	1,30ns	0,65ns	0,62ns	0,22ns	0,28ns	1,00ns	0,55ns
Inoculações	28,84**	39,91**	91,01**	146,82**	290,09**	302,38**	104,11**	77,29**
CV (%)	13,35	12,72	8,34	7,01	7,44	6,63	9,26	12,08
Média (mg m ⁻²)	22,03	3,09	36,83	4,00	63,27	22,25	107,55	40,91

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os maiores acúmulos de Fe e Zn na parte aérea das plantas de alface foram verificados sob a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* em comparação aos outros tratamentos aos 10, 24 e 31 DAT (Figuras 79A, 79B, 79E, 79F, 79G e 79H). Porém, aos 17 DAT, a inoculação com *P. fluorescens* propiciou maior acúmulo de Fe na parte aérea em relação aos demais (Figura 79C); e a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionou maior acúmulo de Zn na parte aérea das plantas de alface cultivada em sistema hidropônico aos 17 DAT (Figura 79D).

Figura 79 – Acúmulo de ferro na parte aérea aos 10 DAT (A), 17 DAT (C), 24 DAT (E) e 31 DAT (G), e o acúmulo de zinco na parte aérea aos 10 DAT (B), 17 DAT (D), 24 DAT (F) e 31 DAT (H) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As inoculações e coinoculações influenciaram ($p < 0,01$) o acúmulo de Mn na parte aérea das plantas de alface americana cultivadas em hidroponia (Tabela 65).

Tabela 65 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acumulo de Mn na parte aérea das plantas de alface aos 10, 17, 24 e 31 DAT.

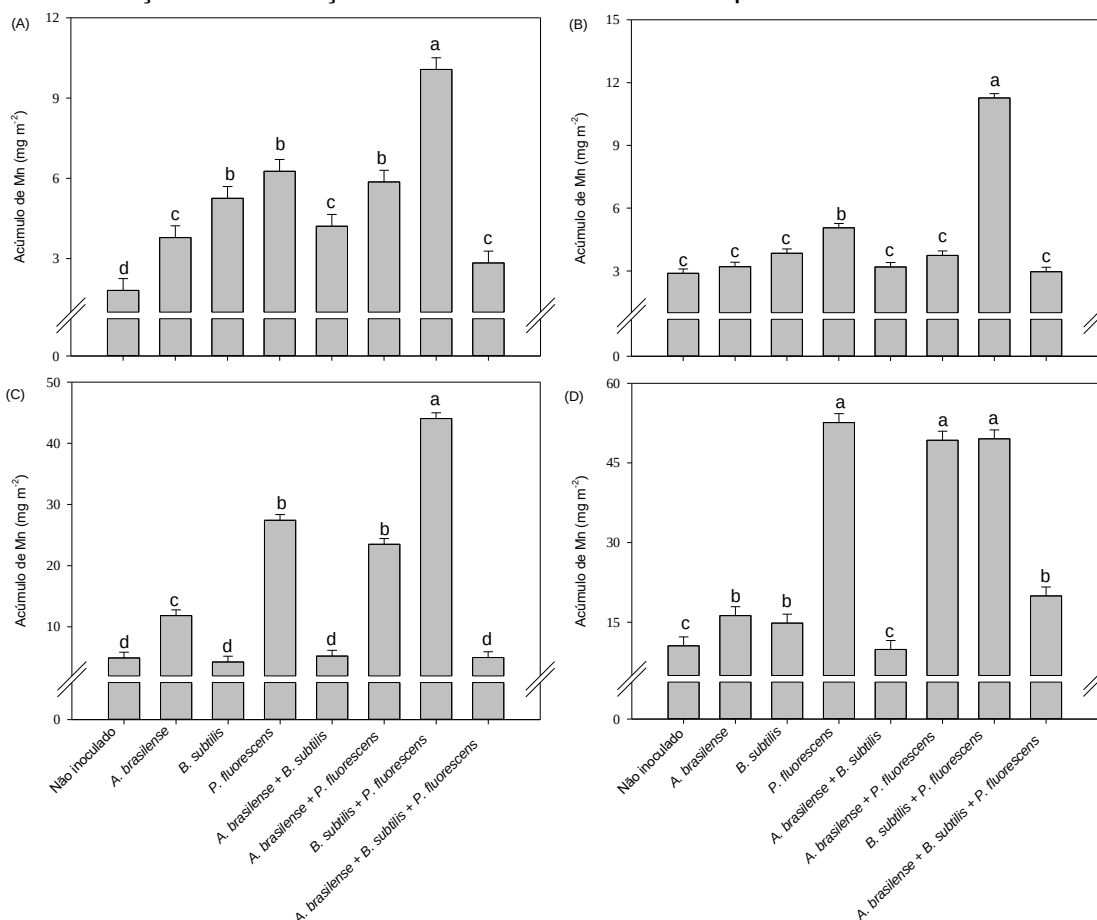
F.V.	Acúmulo de Mn na parte aérea			
	10 DAT	17 DAT	24 DAT	31 DAT
Bloco	1,19ns	0,50ns	0,69ns	1,26ns
Inoculações	28,39**	190,35**	237,19**	126,39**
CV (%)	14,93	8,61	10,39	10,51
Média (mg m ⁻²)	4,15	5,32	15,78	27,86

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Aos 10, 17 e 24 DAT, a coinoculação com *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionou maior acúmulo de Mn na parte aérea da alface em comparação às demais inoculações (Figuras 80A, 80B e 80C); contudo, aos 31 DAT, os maiores acúmulos de Mn na parte aérea foram verificados sob a inoculação de *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação aos demais tratamentos (Figura 80D).

Figura 80 – Acúmulo de manganês na parte aérea aos 10 dias após o transplante - DAT (A), 17 DAT (B), 24 DAT (C) e 31 DAT (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. ± barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6.3.3 Acúmulo de nutrientes nas raízes em resposta às inoculações

Houve efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações e coinoculações sobre os acúmulos de N, P, K, S, Ca e Mg nas raízes das plantas de alface americana hidropônicas (Tabela 66).

Tabela 66 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de N, de P, de K, de S, de Ca e de Mg nas raízes das plantas de alface aos 31 dias após o transplântio - DAT.

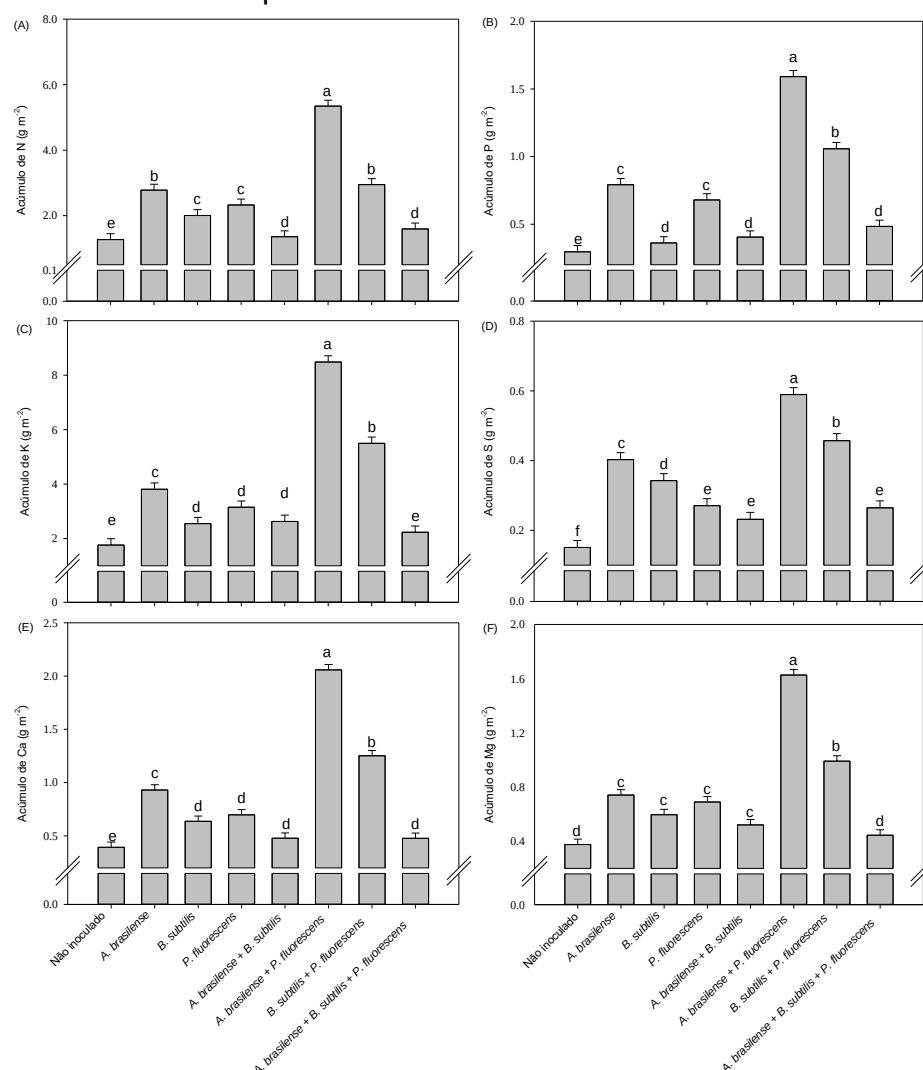
F.V.	N	P	K	S	Ca	Mg
	31 DAT					
Bloco	0,20ns	0,67ns	0,25ns	0,76ns	0,21ns	0,27ns
Inoculações	50,84**	87,79**	97,26**	39,32**	128,58**	82,01**
CV (%)	13,11	11,45	10,39	11,51	9,85	10,35
Média (g m ⁻²)	2,45	0,71	3,76	0,34	0,86	0,75

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A coinoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* propiciou maiores acúmulos de N, P, K, S, Ca e Mg nas raízes de alface em relação às demais inoculações (Figuras 81A, 81B, 81C, 81D, 81E e 81F).

Figura 81 – Acúmulo de nitrogênio nas raízes (A), fósforo (B), potássio (C), enxofre(D), cálcio (E) e magnésio (F) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As inoculações e coinoculações influenciaram significativamente ($p < 0,01$) os acúmulos de B, Cu, Fe, Mn e Zn nas raízes de alface americana cultivada em sistema hidropônico (Tabela 67).

Tabela 67 – Análise de variância dos valores de F calculado para a acúmulo de B, de Cu, de Fe, de Mn e de Zn nas raízes das plantas de alface na 31 dias após o transplantio - DAT.

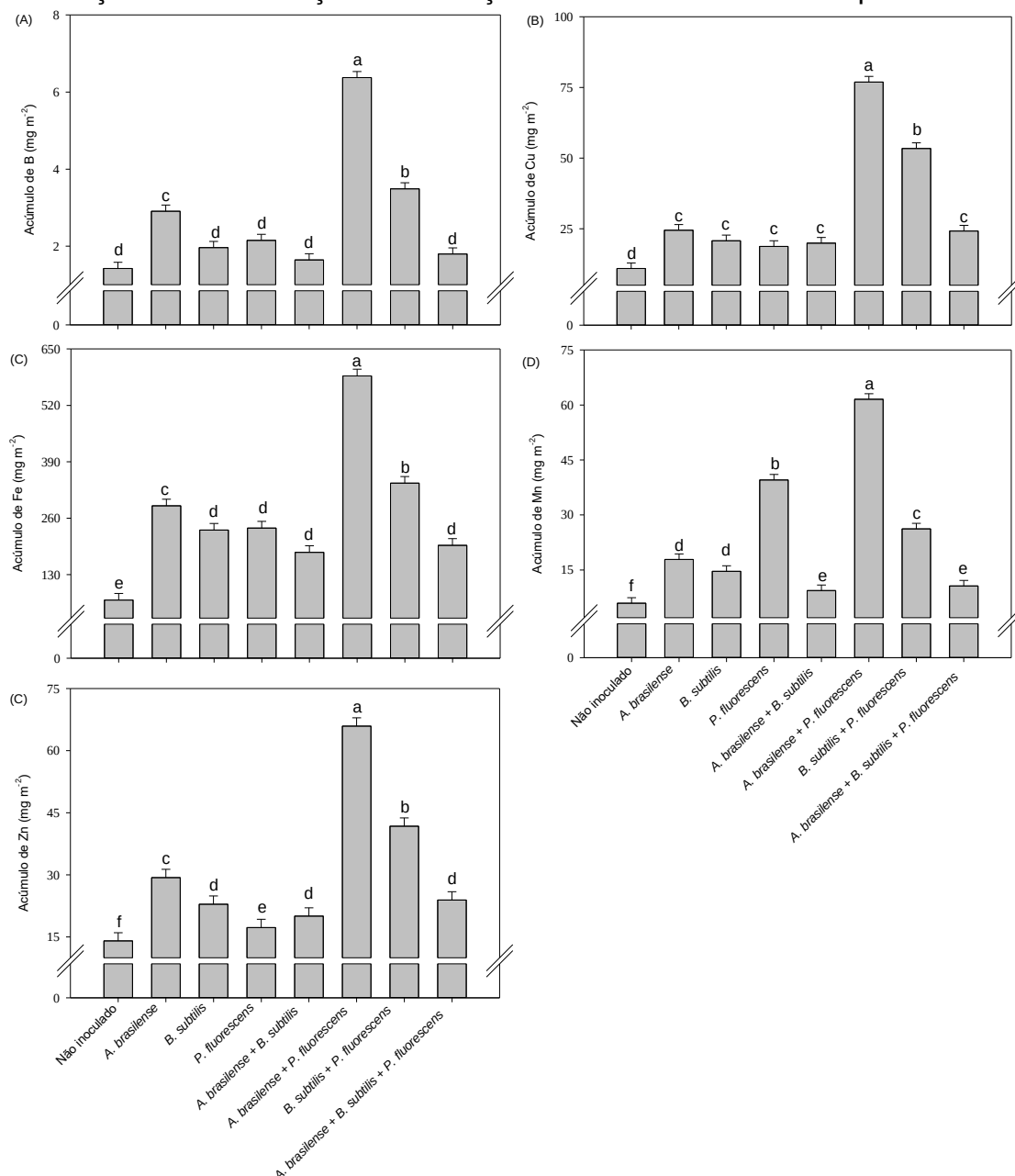
F.V.	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	31 DAT				
Bloco	0,10ns	0,47ns	0,14ns	0,19ns	0,53ns
Inoculações	105,37**	126,08**	99,03**	155,65**	71,63**
CV (%)	10,11	11,04	9,89	11,29	11,85
Média (mg m ⁻²)	2,72	31,17	267,20	23,23	29,40

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os maiores acúmulos de B, Cu, Fe, Mn e Zn nas raízes de alface americana foram obtidos com a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* em comparação as demais inoculações (Figuras 82A, 82B, 82C, 82D e 82E).

Figura 82 – Acúmulo de boro nas raízes (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e zinco (E) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6.3.4 Efeito das inoculações sobre as trocas gasosas e clorofila foliar

Notou-se efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações e coinoculações sobre as concentrações de clorofila a, de clorofila b, de clorofila t e de carotenóides nas folhas de alface americana hidropônica (Tabela 68).

Tabela 68 – Análise de variância dos valores de F calculado para a concentração de clorofila a (Clo a), de clorofila b (Clo b), de clorofila total (Clo t) e de carotenóides (Car) nas folhas das plantas de alface aos 31 dias após o transplântio - DAT.

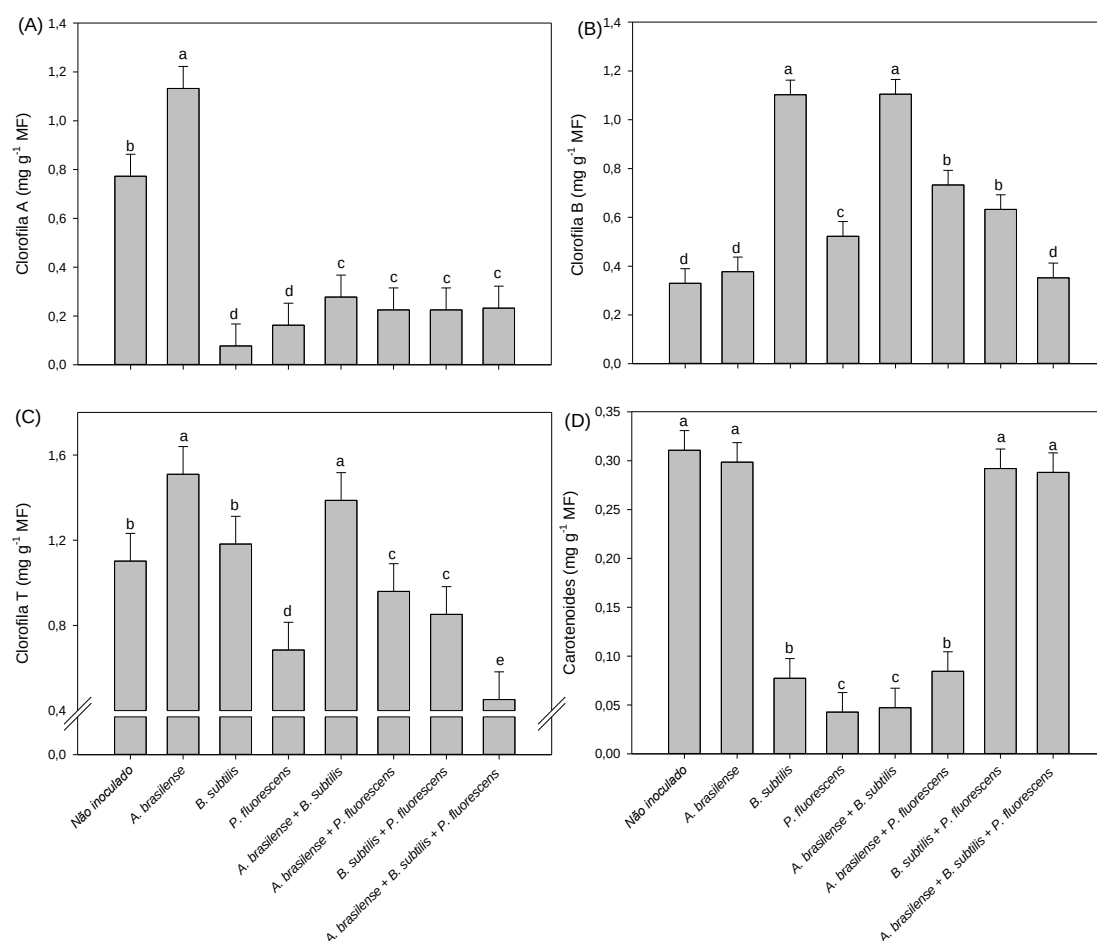
F.V.	Clo a	Clo b	Clo t	Car
	31 DAT			
Bloco	0,93ns	2,40ns	1,39ns	0,56ns
Inoculações	15,43**	23,13**	7,28**	16,36**
CV (%)	48,04	20,41	25,76	34,63
Média (mg g ⁻¹ MF ⁻¹)	0,38	0,64	1,02	0,18

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A maior concentração de clorofila A foliar foi observado sob a inoculação com *A. brasilense* em relação às demais inoculações (Figura 83A); porém, a inoculação com *B. subtilis* e *A. brasilense* + *B. subtilis* propiciaram maior concentração de clorofila B em relação aos demais tratamentos (Figura 83B). A inoculação com *A. brasilense* e *A. brasilense* + *B. subtilis* proporcionaram maior concentração de clorofila total em relação às demais inoculações (Figura 83C); por outro lado, as maiores concentrações de carotenóides foi obtida no tratamento não inoculado, e inoculado com *A. brasilense*, *B. subtilis* + *P. fluorescens* e *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* (Figura 83D).

Figura 83 – Concentração foliar de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) aos 31 dias após o transplântio das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações e coinoculações sobre a concentração interna de carbono (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A) da alface aos 17 e 31 DAT (Tabela 69).

Tabela 69 – Análise de variância dos valores de F calculado para concentração interna de carbono (Ci- $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (gs- $\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E- $\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e taxa de fotossíntese líquida (A- $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol H}_2\text{O}^{-1}$) nas folhas das plantas de alface aos 17 e 31 dias após o transplântio - DAT.

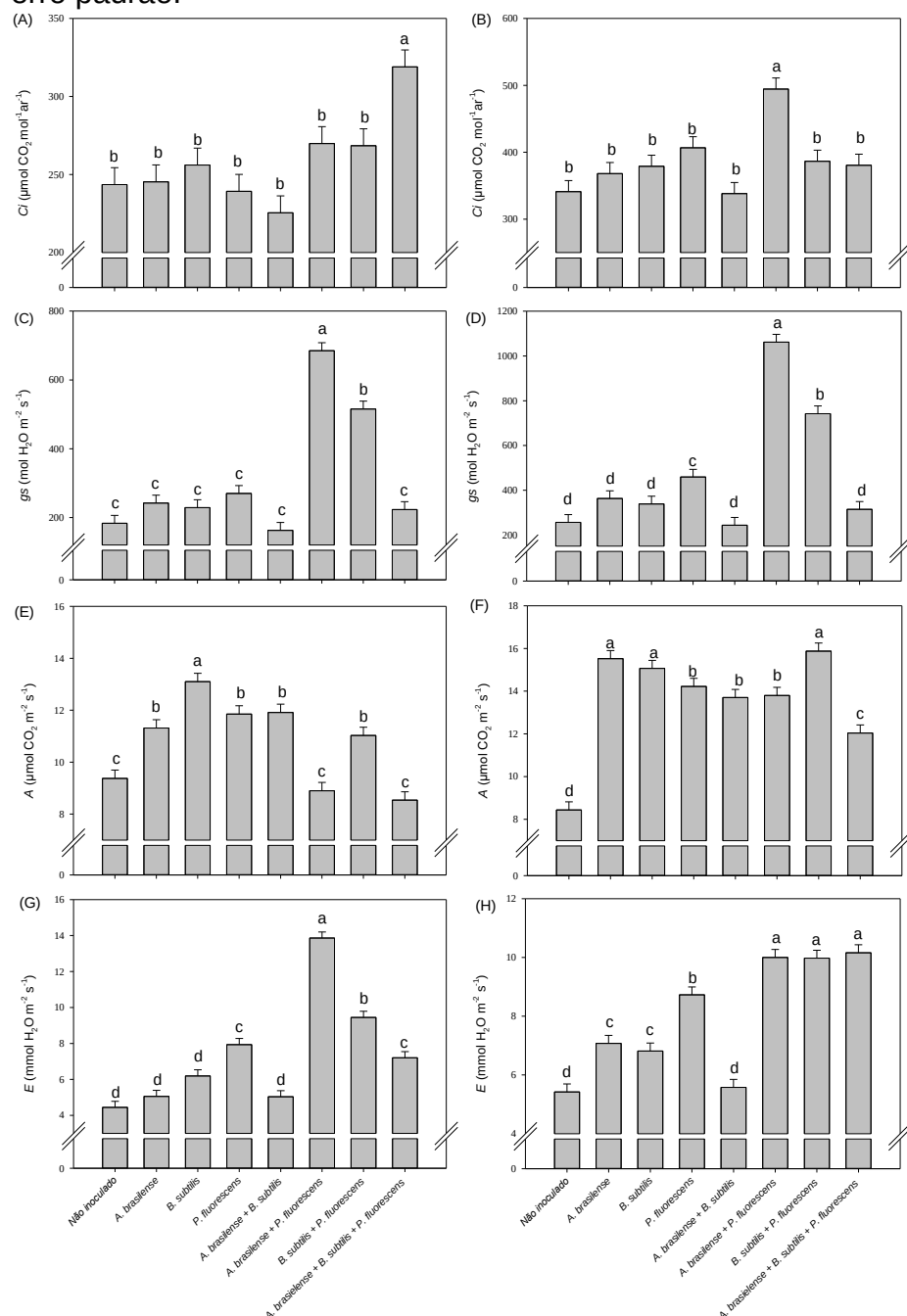
F.V.	Ci	gs	A	E	Ci	gs	A	E
	17 DAT		17 DAT		31 DAT		31 DAT	
Bloco	1,08ns	0,44ns	0,87ns	0,28ns	1,15ns	0,41ns	0,71ns	1,81ns
Inoculações	6,99**	65,03**	25,22**	79,57**	8,78**	68,27**	38,28**	52,20**
CV (%)	8,39	14,66	6,05	9,42	8,57	14,67	5,73	6,93
Média	258,41	313,78	10,75	7,39	386,85	472,46	13,58	7,97

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A coinoculação de *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* propiciaram maior Ci foliar em relação aos demais tratamentos aos 17 DAT (Figura 84A); por outro lado, aos 31 DAT a maior Ci e gs foliar foram observadas sob com a coinoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* em comparação às outras inoculações (Figuras 84B e 84D). A maior gs e E foliar aos 31 DAT foi verificada sob coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* em comparação aos demais tratamentos (Figuras 84C e 84G); porém, o maior A foliar foi constatada sob a inoculação de *A. brasilense* em relação aos demais tratamentos aos 17 DAT (Figura 84E); e aos 31 DAT o maior A foliar foram obtidas com a inoculação de *A. brasilense*, *B. subtilis* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação às outras inoculações (Figura 84F). As coinoculações com *A. brasilense* + *P. fluorescens*, *B. subtilis* + *P. fluorescens* e *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* propiciaram maiores E foliar aos 31 DAT em relação aos demais tratamentos (Figura 84H).

Figura 84 – Trocas gasosas foliares aos 17 dias após o transplântio - DAT (A) e aos 31 DAT (E), condutância estomática (gs) aos 17 DAT (B) e aos 31 DAT (F), taxa de fotossíntese líquida (A) aos 17 DAT (C) e aos 31 DAT (G), transpiração (E) aos 17 DAT (D) e aos 31 DAT (H) plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve o efeito significativo ($p < 0,01$) das inoculações e coinoculações sobre a eficiência do uso da água (EUA) aos 17 e 31 dias após o transplântio - DAT, conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas das folhas (IIM) de alface aos 31 DAT (Tabela 70).

Tabela 70 – Análise de variância dos valores de F calculado para eficiência do uso da água (EUA) nas folhas das plantas de alface aos 17 e 31 dias após o transplântio - DAT e para o conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas (IIM) nas folhas das plantas de alface aos 31 DAT.

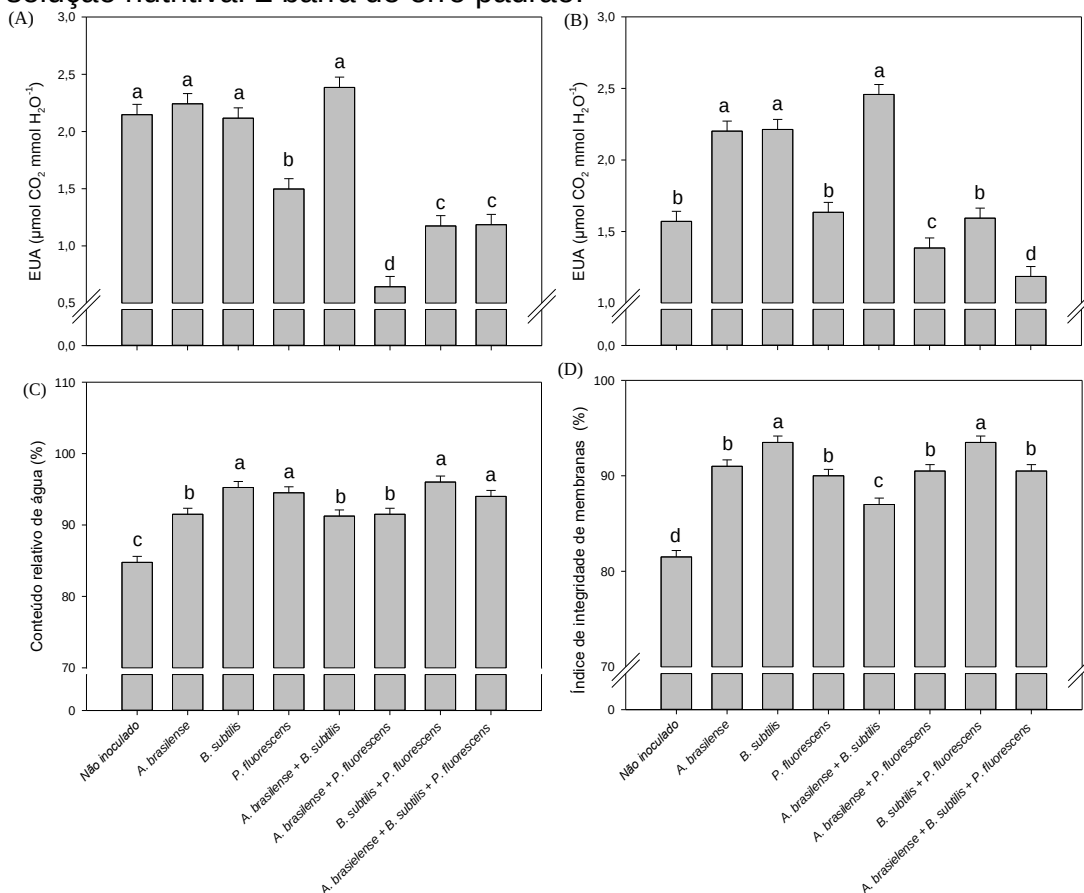
Integridade de membranas (nm) nas folhas das plantas de milho aos 31 DAT:				
F.V.	EUA	EUA	CRA	IIM
	-----($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$)-----		-----(%)-----	
	17 DAT	-----31 DAT-----		
Bloco	1,21ns	0,65ns	0,92ns	1,69ns
Inoculações	42,74**	39,74**	18,08**	33,73**
CV (%)	11,62	8,07	1,82	1,50
Média	1,67	1,78	92,34	89,69

ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As maiores EUA foram observadas sob o tratamento não inoculado, inoculado com *A. brasilense*, *B. subtilis* e *A. brasilense* + *B. subtilis* em relação às demais inoculações aos 17 DAT (Figura 85A); por outro lado, aos 31 DAT as superiores EUA foram verificadas com as inoculações *A. brasilense*, *B. subtilis* e *A. brasilense* + *B. subtilis* em comparação com os outros tratamentos (Figura 85B). As plantas de alface inoculadas com *B. subtilis*, *P. fluorescens*, *B. subtilis* + *P. fluorescens* e *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* tiveram maior CRA foliar em relação às demais inoculações (Figura 85C); porém, os maiores IIM foram verificados sob as inoculações de *B. subtilis* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em comparação às outras inoculações (Figura 85D).

Figura 85 – Trocas gasosas foliares aos 17 dias após o transplante - DAT (A) e aos 31 DAT (B), e do estado hídrico das folhas no conteúdo relativo de água das folhas (C) e o índice de integridade de membranas celulares das folhas (D) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6.3.5 Efeito das inoculações sobre a atividade da enzima nitrato redutase e acúmulo de nitrato

Os acúmulos de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) na parte aérea e nas raízes, aminoácidos totais (AT), carboidratos totais (CT) e a atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas de alface americana foram influenciados significativamente ($p < 0,01$) pelas inoculações e coinoculações aos 31 DAT (Tabela 71).

Tabela 71 – Análise de variância dos valores de F calculado o acúmulo de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) na parte aérea e nas raízes, concentração de aminoácidos totais (AT), carboidratos totais (CT) e na atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas das plantas de alface aos 31 DAT.

F.V.	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+	AT	CT	NR
	(mg m ⁻²)				$\mu\text{mol g}^{-1}$		$\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$
	— Parte aérea —		— Raízes —		— Foliar —		
Bloco	1,08ns	0,28ns	0,19ns	0,50ns	0,05ns	0,58ns	0,08ns
Inoculações	165,54**	219,42**	114,16**	79,83**	31,56**	21,48**	28,91**
CV (%)	11,07	8,35	14,26	9,79	8,21	7,06	6,84
Média	453,50	83,35	255,77	37,72	9,48	1,70	718,78

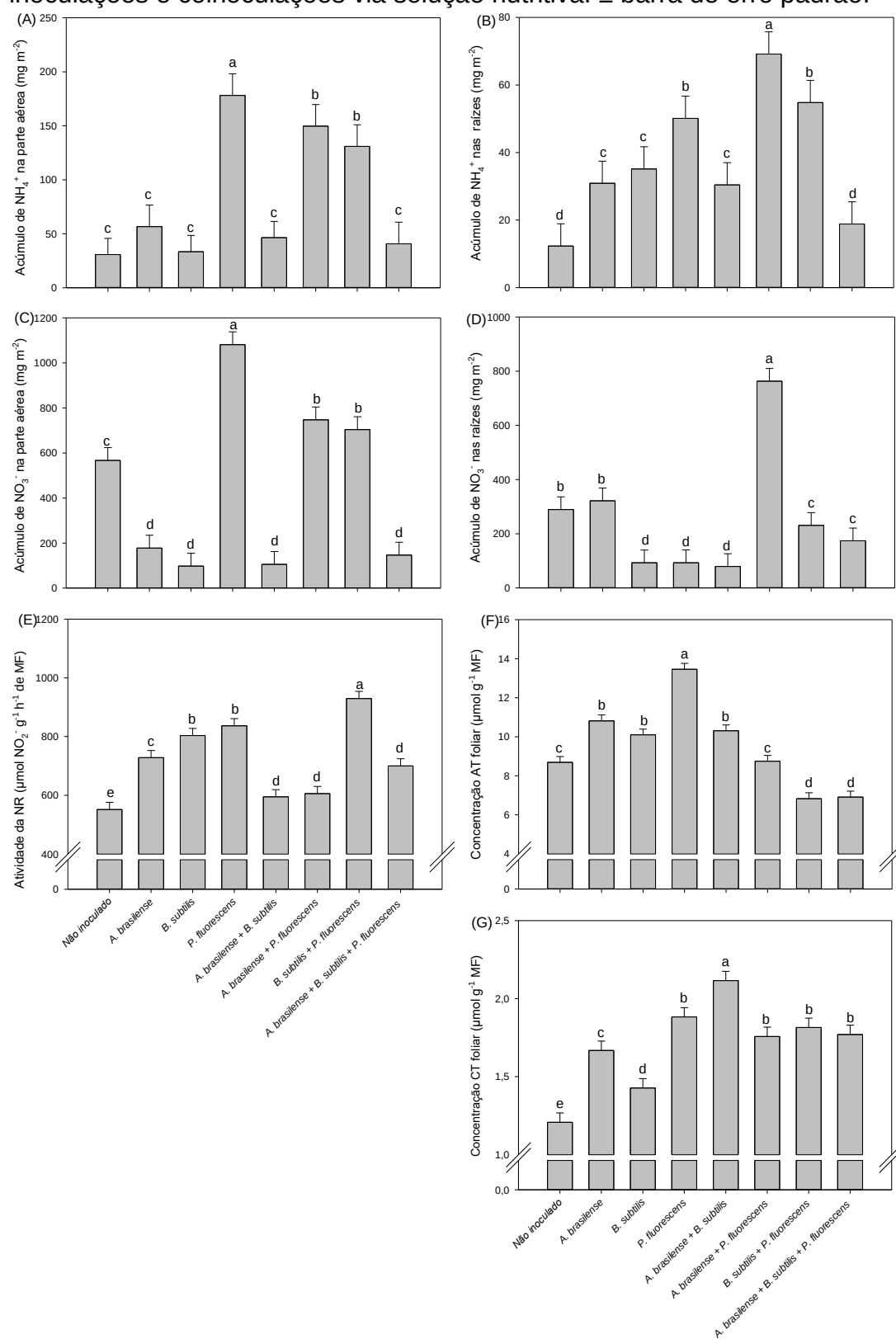
ns – não significativo, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os maiores acúmulos de NO_3^- e NH_4^+ na parte aérea das plantas de alface ocorreu sob a inoculação isolada de *P. fluorescens* (Figuras 86A e 86C); e os maiores acúmulos de NO_3^- e NH_4^+ nas raízes das plantas de alface foram observados sob a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* quando comparado às outras inoculações (Figuras 86B e 86D). A coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* propiciou maior atividade da NR nas folhas de alface americana hidropônica em comparação aos demais tratamentos (Figura 86E). A maior concentração de AT foliar foi verificado sob a inoculação com *P. fluorescens* em relação às demais inoculações (Figura 86F); porém, a coinoculação de *A. brasilense* + *B. subtilis* propiciou maior concentração de CT nas folhas de alface americana hidropônica em relação às outras inoculações (Figura 86G).

Figura 86 – Acúmulo de amônio na parte aérea (A), nas raízes (C), acúmulo de nitrato na parte aérea (B), nas raízes (D), concentração de aminoácidos totais (E), carboidratos totais (F) e atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas

folhas (G) das plantas de alface em sistema hidropônico NFT em resposta as inoculações e coinoculações via solução nutritiva. $\pm$ barra de erro padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6.3.6 Análise econômica

O tratamento controle (sem inoculação) teve o menor custo operacional total (COT) de R\$ 21,89, enquanto o maior COT foi observado na coinoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* (R\$ 23,26); porém, a maior lucratividade (R\$ 23,42 m⁻²) foi ao utilizar inoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* na solução nutritiva, por outro lado sem a inoculação obteve-se lucratividade de R\$ 2,04 m⁻². A inoculação isolada de *P. fluorescens* proporcionou a segunda maior lucratividade de R\$ 23,02 m⁻², graças a maior produtividade e associado ao menor consumo de inoculante (Tabela 72).

Tabela 72 - Custo operacional total (COT, R\$ m⁻²) e rentabilidade (R\$ m⁻²) modelo de estrutura de alface americana em hidroponia sob as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.

Tratamento			Não inoculado			A. <i>brasiliense</i>			B. <i>subtilis</i>			P. <i>fluorescens</i>	
Descrição	Uni.	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)
A. Operações													
Mão-de-obra	hr	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94
Irrigação (energia elétrica)	kw h ⁻¹	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69
Consumo de água	L	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13
Subtotal A.				14,76			14,76			14,76			14,76
B. Insumos hidroponia													
Inoculante	L	0	80	0,00	0,044	80	0,49	0,032	80	0,35	0,029	80	0,32
Inseticida (Evidence)	kg	0,05	300	2,08	0,05	300	2,08	0,05	300	2,08	0,05	300	2,08
Fungicida	L	0,01	680,00	0,94	0,01	680,00	0,94	0,01	680,00	0,94	0,01	680,00	0,94
Mudas	muda	19,5	0,1	1,95	19,5	0,1	1,95	19,5	0,1	1,95	19,5	0,1	1,95
Hidrogood Fert	kg	0,513	7	0,50	0,545	7	0,53	0,544	7	0,53	0,576	7	0,56
Ferro EDDHA 6%	kg	0,023 7	70	0,23	0,025	70	0,24	0,025	70	0,24	0,0265	70	0,26
Nitrato de Cálcio	kg	0,258	2,2	0,08	0,274	2,2	0,08	0,274	2,2	0,08	0,29	2,2	0,09
Cloreto de Potássio	kg	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04
Ácido Sulfúrico 25%	L	0,15	5	0,10	0,178	5	0,12	0,172	5	0,12	0,164	5	0,11
Hidróxido de Sódio 50%	L	0,12	10	0,17	0,12	10	0,17	0,06	10	0,09	0,14	10	0,19
Subtotal B.				6,09			6,64			6,42			6,54
Custo operacional efetivo				20,85			21,40			21,18			21,30
Outras despesas				0,00			0,00			0,00			0,00
Custo de Juros				1,04			1,07			1,06			1,06
Custo operacional Total				21,89			22,47			22,24			22,36
Receita													
Produtividade	kg	4,54	5,27	23,93	5,93	5,27	31,25	5,63	5,27	29,67	8,61	5,27	45,38
Lucratividade				2,04			8,78			7,43			23,02

(Continuação...) Tabela 72 - Custo operacional total (COT, R\$ m⁻²) e rentabilidade (R\$ m⁻²) modelo de estrutura de alface americana em hidroponia sob as inoculações e coinoculações via solução nutritiva.

Tratamento		<i>A. brasiliense</i> + <i>B. subtilis</i>			<i>A. brasiliense</i> + <i>P. fluorescens</i>			<i>B. subtilis</i> + <i>P. fluorescens</i>			<i>A. brasiliense</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. fluorescens</i>		
Descrição	Uni.	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)	Qnt.	Custo un. (R\$)	Custo tot. (R\$)
A. Operações													
Mão-de-obra	hr	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94	40	12,50	6,94
Irrigação (energia elétrica)	kw h ⁻¹	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69	123	0,45	7,69
Consumo de água	L	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13	450	0,002	0,13
Subtotal A.				14,76			14,76			14,76			14,76
B. Insumos hidroponia													
Inoculante	L	0,076	80,00	0,84	0,073	80,00	0,81	0,061	80,00	0,68	0,105	80,00	1,17
Inseticida (Evidence)	kg	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08	0,05	300,00	2,08
Fungicida	L	0,01	680,00	0,94	0,01	680,00	0,94	0,01	680,00	0,94	0,01	680,00	0,94
Mudas	muda	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95	19,5	0,10	1,95
Hidrogood Fert	kg	0,513	7,00	0,50	0,545	7,00	0,53	0,544	7,00	0,53	0,576	7,00	0,56
Ferro EDDHA 6%	kg	0,0237	70,00	0,23	0,025	70,00	0,24	0,025	70,00	0,24	0,0265	70,00	0,26
Nitrato de Cálcio	kg	0,258	2,20	0,08	0,274	2,20	0,08	0,274	2,20	0,08	0,29	2,20	0,09
Cloreto de Potássio	kg	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04	0,06	5,08	0,04
Ácido Sulfúrico 25%	L	0,15	5,00	0,10	0,17	5,00	0,12	0,17	5,00	0,12	0,16	5,00	0,11
Hidróxido de Sódio 50%	L	0,12	10,00	0,17	0,12	10,00	0,17	0,06	10,00	0,09	0,14	10,00	0,19
Subtotal B.				6,94			6,96			6,75			7,39
Custo operacional efetivo				21,70			21,72			21,51			22,15
Outras despesas				0,00			0,00			0,00			0,00
Custo de Juros				1,08			1,08			1,08			1,11
Custo operacional Total				22,78			22,80			22,59			23,26
Receita													
Produtividade	kg	5,62	5,27	29,62	7,33	5,27	38,63	8,73	5,27	46,01	4,99	5,27	26,30
Lucratividade				6,83			15,83			23,42			3,04

6.4 DISCUSSÃO

O aumento do acúmulo de massa nas raízes é um dos efeitos observados da inoculação com *P. fluorescens*, *A. brasilense* e *B. subtilis* em diversas culturas em sistema utilizando solo (ANDRADE *et al.*, 2019; CHU *et al.*, 2020; AKHTYAMOVA *et al.*, 2021; LI *et al.*, 2022; FONSECA *et al.*, 2022;). Estudos indicam existir resultados promissores ao inocular *A. brasilense* via foliar em alface e rúcula hidropônico (MOREIRA *et al.*, 2022; OLIVEIRA *et al.*, 2022; GATO *et al.*, 2023); porém, não há relatos do sucesso das inoculações isoladas e combinadas via solução nutritiva com estas bactérias, ou seja, a capacidade de colonizar as raízes das plantas sem presença de solo não foi observado antes.

A coinoculações com *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionou aumento de 196 e 208% da massa fresca das raízes em relação ao não inoculado, respectivamente (Figura 71H). Por outro lado, a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* favoreceu aumento de 252% na massa seca das raízes em relação ao não inoculado aos 31DAT (Figuras 72G e 72H). Estes resultados ocorrem principalmente pela capacidade de *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *B. subtilis* de colonizar o sistema radicular e produzir hormônios vegetais que promovem o crescimento das raízes e da parte aérea (ADESEMOYE *et al.*, 2008; PRASAD; BABU, 2017; MEKONNEN; KIBRET, 2021). Com maior comprimento das raízes, ocorre uma maior absorção de nutrientes pelas plantas, principalmente pela maior área de contato das raízes e os íons da solução nutritiva (MOREIRA *et al.*, 2022; GATO *et al.*, 2023). O maior comprimento das raízes e da parte aérea ocorreu sob a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens*, sendo 248 e 68% maior que o tratamento não inoculado, respectivamente, aos 31 DAT (Figuras 70G e 70H).

Além disso, a maior absorção de nutrientes e água proporcionou maior acúmulo de massa da parte aérea, sob a inoculação com *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* houve um incremento de 89 e 92% da massa fresca da parte aérea em comparação com o não inoculado, respectivamente (Figura 71G), assim como da produtividade de folhas em 90 e 92%, respectivamente (Figura 73B). Observou um aumento de 37% no número de folhas com a coinoculação com *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação ao não inoculado (Figura 73A). Estas características relacionadas a massa fresca e ao número

de folhas das plantas de alface são as mais importantes para a comercialização, cujo aumento destas características proporciona aumento da lucratividade do horticultor. Foi observado maiores lucratividades sob a inoculação de *P. fluorescens* (R\$ 23,02 m⁻²) e a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* (R\$ 23,42 m⁻²) (Tabela 72).

Em razão de a alface ser comercializada in natura, a maior massa fresca favorece o uso de um menor número de plantas por unidade comercializável, já que o aumento do número de plantas para formar um pacote comercializável reduz a lucratividade (DALASTRA *et al.*, 2020). A inoculação com *P. fluorescens* favorece o aumento do acúmulo de massa fresca e seca da parte aérea das plantas, pelo aumento da eficiência fotossintética, assimilação de carbono e aquisição de nutrientes pelas raízes (SANDINI *et al.*, 2019; CARDOSO *et al.*, 2019). Sob a inoculação com *B. subtilis*, o aumento do acúmulo de massa fresca e seca da parte aérea das plantas ocorre principalmente pelo aumento da eficiência fotossintética, assimilação de carbono e aquisição de nutrientes pelas raízes (FONSECA *et al.*, 2022). A associação destas duas bactérias foi anteriormente relatada como promissora, principalmente por aumentar a produtividade de raízes de cenoura, e da massa fresca da parte aérea das plantas de cenoura no mesmo estudo (FRANÇA *et al.*, 2020).

O maior acúmulo de massa nos tecidos foliares da alface, estão associadas ao aumento da atividade fotossintética das folhas, que é evidenciada através do maior índice de clorofila foliar em 35% sob coinoculação com *B. subtilis* + *P. fluorescens* em comparação ao tratamento não inoculado (Figura 74D); resultado que se repetiu na análise de fotossíntese líquida foliar, sendo 88% superior com coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação ao não inoculado (Figura 84E). Por outro lado, o aumento da concentração interna de CO₂ e a condutância estomática foram 44 e 313% maior sob a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* em comparação ao não inoculado (Figuras 84B e 84D). São informações consideradas primordiais para definir os efeitos benéficos das inoculações e coinoculações sobre as trocas gasosas foliares, e possíveis alterações do ciclo do carbono e seu acúmulo durante os processos fotossintéticos (MARQUES *et al.*, 2021).

Além disso, as trocas gasosas estão intimamente associadas com o aumento da eficiência do uso da água, que aumentou em 40, 40 e 56% sob as inoculações isoladas e associadas de *A. brasilense* e *B. subtilis*, respectivamente (Figura 85B), que possivelmente é reflexo do aumento em 12, 11 e 13% o conteúdo relativo de água sob as inoculações de *B. subtilis*, *A. brasilense*, *B. subtilis* + *P. fluorescens* (Figura 85C); superior em 14 e 14% do índice de integridade de membranas celulares das folhas sob a inoculação de *B. subtilis* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* (Figura 85D). A manutenção adequada do estado hídrico das folhas das plantas reduz a degradação das suas células, que contribuem para o aumento da concentração de clorofilas, pela presença dos cloroplastos dentro das células das folhas. A redução da degradação das membranas celulares e o aumento do conteúdo relativo de água e do índice de clorofila foliar foi anteriormente relatado um efeito benéfico da inoculação com *A. brasilense* em soja sob estresse hídrico (SILVA *et al.*, 2019).

A maior absorção de K pelas plantas melhora o balanço hídrico das plantas, proporcionando maior conteúdo relativo de água e índice de integridade de membranas celulares das folhas, fatores determinantes para reduzir efeitos nocivos de estresse abiótico (STEINER *et al.*, 2022). As inoculações com *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram aumento, respectivamente, de 292, 296 e 271% do acúmulo de K na parte aérea das plantas de alface em relação ao não inoculado (Figura 76H), o que explica, em parte, os resultados obtidos com relação ao estado hídrico das plantas de alface como relatado anteriormente. O fornecimento adequado de K proporciona o aumento da qualidade dos produtos, como tamanho da fruta, aparência, cor, sólidos solúveis, acidez, teor de vitaminas. Essas propriedades são influenciadas pela fotossíntese, translocação da fotossíntese, síntese de proteínas, regulação dos estômatos, ativação de enzimas e muitos outros processos (GANESHAMURTHY *et al.*, 2011). Além disso, o potássio na solução nutritiva hidropônica tem uma função importante no balanço iônico da solução, que proporciona maior absorção de outros nutrientes catiônicos como Ca^{2+} e Mg^{2+} , e o N na forma de NH_4^+ que pode participar em até 15% do N total da solução nutritiva (ÇALIŞKAN; ÇALIŞKAN, 2017).

Houve aumento do acúmulo de Ca em 319, 349 e 314% com as inoculações com *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em comparação com o não inoculado, respectivamente. Também, foi observado aumento de 216, 266 e 260% no acúmulo de Mg sob as inoculações com *P. fluorescens*, *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* em relação ao não inoculado, respectivamente (Figuras 77G e 77H). O Ca tem papel primordial na formação e crescimento dos tecidos das plantas, na senescência foliar e na fertilidade das flores (REN *et al.*, 2021). O Mg é o componente fundamental dos pigmentos de clorofila no complexo captador de luz dos cloroplastos e, portanto, está envolvido na assimilação fotossintética de CO₂ (GERENDÁS; FÜHRS, 2013). Entre 15 a 35% do Mg absorvido pelas plantas é fixado em pigmentos fotossintéticos, com a porção restante (entre 65 a 85%) depositada nos vacúolos ou utilizada para a síntese de proteínas e outros processos biológicos relacionados (MARSCHNER, 2012). O Mg também atua como cofator de numerosas enzimas (mais de 300) envolvidas na biossíntese de clorofilas e na fixação fotossintética de CO₂ (BILLARD *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2018). Outros nutrientes como o P e o N estão associados ao aumento da atividade fotossintética como obtido em nossos resultados do presente estudo.

O P participa de processos metabólicos e fisiológicos da planta, compondo principalmente a ATP, NADPH, ácidos nucleicos, fosfatos de açúcar e fosfolipídios, todos os quais desempenham papéis importantes na fotossíntese (CARSTENSEN *et al.*, 2018); além disso, a deficiência de P afeta a assimilação de CO₂ pelas folhas, por reduzir a regeneração dependente da ATP da ribulose-1,5-bifosfato no ciclo de Calvin (YAN *et al.*, 2015). O aumento do acúmulo de P na parte aérea observado foi de 322% sob a inoculação com *P. fluorescens* em relação à não inoculação; por outro lado, as inoculações com *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* proporcionaram aumento de 233 e 208% no acúmulo de N na parte aérea das plantas de alface em comparação com o não inoculado, respectivamente (Figuras 75G e 75H). O maior acúmulo de P e N pode ser atribuído ao maior comprimento das raízes, que aumentou a capacidade das raízes de absorver uma maior quantidade de nutrientes, além de aumentar o índice de clorofila foliar, possibilitando maior aquisição de fotoassimilados, por sua vez, transformados em acúmulo de

massa nos tecidos (MOREIRA *et al.*, 2022). Além disso, a maior aquisição de N pode ser atrelada à capacidade que as estirpes de *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* tem de fixar N atmosférico na região da rizosfera (PANKIEVICZ *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2017; YOUSUF *et al.*, 2017). O maior acúmulo de N pode ser prejudicial para a qualidade das folhas de alface produzidas, principalmente pelo maior acúmulo de NO_3^- nas folhas, que é prejudicial à saúde humana e, ainda, aumenta o amargor das folhas.

Foi observado um aumento de 479 e 90% nos acúmulos de NO_3^- e NH_4^+ na parte aérea das plantas de alface sob a inoculação com *P. fluorescens* em comparação com o tratamento não inoculado, respectivamente (Figuras 86A e 86C), assim como observado no maior acúmulo de N; porém, outro fator determinante para este resultado foi o maior acúmulo de massa seca da parte aérea, sendo superior em 169% sob inoculação de *P. fluorescens* em relação ao não inoculado (Figura 72G). Contudo, foi verificado redução de 69, 83, 82 e 75% no acúmulo de NO_3^- na parte aérea sob as inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis*, *A. brasilense* + *B. subtilis* e *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* em comparação ao não inoculado, respectivamente. Este efeito pode ser resposta ao aumento da atividade da enzima nitrato redutase nas folhas das plantas, que anteriormente foi relato ocorrer sob a inoculação de *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* (BREDA *et al.*, 2019; BLAKE *et al.*, 2021; KALANTARI *et al.*, 2022). Como nos resultados obtidos neste estudo em que sob as inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis*, *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* observou-se aumentos de 32, 45, 51 e 68% na atividade da enzima nitrato redutase nas folhas de alface americana hidropônica em comparação ao não inoculado, respectivamente (Figura 86E).

Existe um efeito benéfico da maior redução do nitrato a nitrito no citosol pelas atividades da enzima nitrato redutase, que nos plastídios ou cloroplastos é reduzido à amônia que pode ser fixada via glutamato sintase ou glutamina sintase em aminoácidos (YONEYAMA; SUZUKI, 2019). Concordando com os resultados obtidos neste estudo, pois foi verificado um aumento de 54% na concentração total de aminoácidos e de 75% de carboidratos totais com a inoculação de *A. brasilense* + *B. subtilis* e de *A. brasilense* em comparação ao não inoculado respectivamente (Figura 86F e 86G). A inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* aumentou a afinidade para assimilação de amônio, além

disso, aumenta a biossíntese de glutamato, na reação que liga o metabolismo do carbono ao metabolismo do N, que é controlado pela glutamato desidrogenase, que melhora o metabolismo da glutamina e do glutamato (SCHNABEL; SATTELY, 2021). As reações do metabolismo do N favorecem o aumento das concentrações de carboidratos e aminoácidos nas folhas, que estão relacionadas ao aumento da assimilação de CO₂ e do teor de pigmento fotossintético (DORMEYER *et al.*, 2019).

Todos os componentes produtivos, os acúmulos de nutrientes na parte aérea e nas raízes e a atividade da enzima nitrato redutase tiveram correlação positivas e significativas entre si; que demonstram o efeito benéfico da absorção de nutrientes sobre o crescimento e a produção de massa das plantas de alface cultivadas em hidroponia sob inoculações e coinoculações (Figura 87). Todas as inoculações isoladas e as coinoculações entre duas bactérias proporcionaram aumento nos componentes produtivos e no acúmulo de nutrientes, com destaque para as inoculações com *P. fluorescens* e *B. subtilis* + *P. fluorescens* para os componentes produtivos e acúmulos de N, K, Ca, Mg, Cu e Mn. Ainda, as inoculações com *A. brasilense*, *B. subtilis* e *A. brasilense* + *B. subtilis* com relação aos pigmentos fotossintéticos, eficiência do uso da água, conteúdo relativo de água e na concentração de carboidratos e aminoácidos nos tecidos foliares; além disso, houve um menor acúmulo de nitrato, o que melhora a qualidade das folhas de alface.

De maneira geral, os diversos estudos (experimentos) realizados evidenciam uma nova perspectiva do uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas em cultivo sem uso de solo. Além disso, possibilitou perceber o aumento do crescimento, acúmulo de nutrientes e lucratividade da alface hidropônica sob as inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* isoladas e/ou combinadas. Estudos futuros devem ser realizado com a redução das concentrações de nutrientes na solução nutritiva como possível forma de redução dos custos com insumos que em sua maioria é importado, o que pode aumentar a sustentabilidade do cultivo hidropônico de alface americana.

6.5 CONCLUSÕES

A inoculação via solução nutritiva em sistema hidropônico no cultivo de alface americana foi benéfica para aumentar o crescimento, a produtividade, o acúmulo de nutrientes e os pigmentos fotossintéticos.

A inoculação isolada de *P. fluorescens* e a coinoculação de *B. subtilis* + *P. fluorescens* são as mais indicadas para cultivo de alface hidropônico, por proporcionar a maior produtividade, lucratividade e acúmulos de N, K, Ca, Mg, Cu e Mn.

As inoculações isoladas e combinada de *A. brasilense* e *B. subtilis* proporcionaram aumento dos pigmentos fotossintéticos, eficiência do uso da água, conteúdo relativo de água e concentração de carboidratos das folhas de alface americana.

As inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis*, *A. brasilense* + *B. subtilis* e *A. brasilense* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* favoreceram redução do acúmulo de NO_3^- na parte aérea das plantas de alface americana o aumento da atividade da enzima nitrato redutase.

REFERÊNCIAS

- ADESEMOYE, A. O.; OBINI, M.; UGOJI, E. O. Comparison of plant growth-promotion with *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in three vegetables. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.39, n.3, p.423-426, 2008.
- AINI, N.; YAMIKA, W. S. D.; ULUM, B. Effect of nutrient concentration, PGPR and AMF on plant growth, yield and nutrient uptake of hydroponic lettuce. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v.21, p.175–183, 2019.
- AKHTYAMOVA, Z.; ARKHIPOVA, T.; MARTYNENKO, E.; NUZHNYAYA, T.; KUZMINA, L.; KUDYAROVA, G.; VESELOV, D. Growth-Promoting effect of rhizobacterium (*Bacillus subtilis* IB22) in salt-stressed barley depends on abscisic acid accumulation in the roots. **International Journal of Molecular Science**, Basel, v.22, n.19, a.10680, 2021.
- ANDRADE, A. F.; ZOZ, T.; ZOZ, A.; OLIVEIRA, C. E. S.; WITT, T. W. *Azospirillum brasilense* inoculation methods in corn and sorghum. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.49, e53027, 2019.
- ANGELINA, E.; PAPTAEODOROU, E. M.; DEMIRTZOGLU, T.; MONOKROUSOS, N. Effects of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* Inoculation on Attributes of the Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Soil Rhizosphere Microbial Community: The Role of the Management System. **Agronomy**, Basel, v.10, a.1428, 2020.
- ARTÉS, F.; ALLENDE, A. Minimal Fresh Processing of Vegetables, Fruits and Juices. In: **Emerging Technologies for Food Processing**; Elsevier: London, UK, p.583–597, 2014.
- BILLARD, V.; MAILLARD, A.; COQUET, L.; JOUENNE, T.; CRUZ, F.; GARCIA-MINA, J. M. Mg deficiency affects leaf Mg remobilization and the proteome in *Brassica napus*. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.107, p.337–343, 2016.
- BLAKE, C.; CHRISTENSEN, M. N.; KOVÁCS, A. T. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v.34, n.1, p.15–25, 2021.
- BREDA, F. A. F.; DA SILVA, T. F. R.; DOS SANTOS, S. G.; ALVES, G. C.; REIS, V. M. Modulation of nitrogen metabolism of maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae*. **Archives of Microbiology**, Berlin, v.201, p.547–558, 2019.
- CARDOSO, A. L.; RÊGO, M. C. F.; MATOS, G. S. B.; BATISTA, T. F. V.; SILVA, G. B. Physiology and nutritional contents of lettuce (*Lactuca sativa* L.)

plants induced by *Pseudomonas fluorescens*. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v.5, n.9, p.15538-15556, 2019.

CARSTENSEN, A.; HERDEAN, A.; SCHMIDT, S. B.; SHARMA, A.; SPETEA, C.; PRIBIL, M.; HUSTED, S. The Impacts of Phosphorus Deficiency on the Photosynthetic Electron Transport Chain. **Plant Physiology**, Bethesda, v.177, n.1, p.271–284, 2018.

CHEN, Z. C.; PENG, W. T.; LI, J.; LIAO, H. Functional dissection and transport mechanism of magnesium in plants. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, London, v.74, p.142–152, 2018.

CHU, T. N.; BUI, L. V.; HOANG, M. *Pseudomonas* PS01 isolated from maize rhizosphere alters root system architecture and promotes plant growth. **Microorganisms**, Basel, v.8, n.4, a.471, 2020.

ÇALIŞKAN, B.; ÇALIŞKAN, A. C. Potassium Nutrition in Plants and Its Interactions with Other Nutrients in Hydroponic Culture. In ASADUZZAMAN, M.; ASAO, T. (Eds.), **Potassium - Improvement of Quality in Fruits and Vegetables Through Hydroponic Nutrient Management**. London: IntechOpen. 2017.

DALASTRA, C. **Nutrição e produção de alface americana em função da vazão, periodicidade de exposição e condutividade elétrica da solução nutritiva em sistema hidropônico**. 98f. 2017. Tese (doutorado em agronomia) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Pós-graduação em sistema de produção, 2017.

DALASTRA, C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; VARGAS, P. F. Periodicity of exposure of hydroponic lettuce plants to nutrient solution. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.33, p.81-89, 2020.

DORMEYER, M.; LENTES, S.; RICHTS, B.; HEERMANN, R.; ISCHEBECK, T.; COMMICHAU, F.M. Variants of the *Bacillus subtilis* LysR-Type Regulator GltC with altered activator and repressor Function. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v.10, a.2321, 2019.

FALKER Automação Agrícola Ltda. Manual do medidor eletrônico de teor clorofla (ClorofLOG / CFL 1030). Porto Alegre: **Falker**, 2008. 33 p.

FAOSTAT—Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division. **Food Production and Trade**. disponível online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FO> (acesso in 4 Setembro 2022).

FONSECA, M. D. C. D.; BOSSOLANI, J. W.; DE OLIVEIRA, S. L.; MORETTI, L. G.; PORTUGAL, J. R.; SCUDELETTI, D.; DE OLIVEIRA, E. F.; CRUSCIOL, C. A. C. *Bacillus subtilis* Inoculation improves nutrient uptake and physiological activity in sugarcane under drought stress. **Microorganisms**, Basel, v.10, a.809, 2022.

FRANÇA, A. R. S.; BORCIONI, E.; PAIXÃO, C. A.; ARAUJO, R. S.; CAMPOS, R. V.; CRUZ, S. P. Growth and yield of carrot inoculated with *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, Tunja, v.14, n.3, p.385-392, 2020.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, Heidelberg, v.8, a.73, 2018.

GANESHAMURTHY, A. N.; SATISHA, G. C.; PATIL, P. Potassium nutrition on yield and quality of fruit crops with special emphasis on banana and grapes. **Karnataka The Journal of Agricultural Science**, Roma, v.24, n.1, p.29-38, 2021.

GATO, I. M. B.; OLIVEIRA, C.E.S.; OLIVEIRA, T. J. S. S.; JALAL, A.; MOREIRA, V. A.; GIOLO, V. M.; VITORIA, L. S.; LIMA, B. H.; VARGAS, P. F.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Nutrition and yield of hydroponic arugula under inoculation of beneficial microorganisms. **Horticulture Environmental and Biotechnology**, Suwon, v.63, p.1-12, 2023.

GERENDÁS, J.; FÜHRS, H. The significance of magnesium for crop quality. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.368, p.101–128, 2013.

HISCOX, J.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.57, p.1332-1334. 1979.

JALAL, A.; GALINDO, F. S.; BOLETA, E. H. M.; OLIVEIRA, C. E. S.; REIS, A. R.; NOGUEIRA, T. A. R.; MORETTI NETO, M. J.; MORTINHO, E. S.; FERNANDES, G.C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Common Bean Yield and Zinc Use Efficiency in Association with Diazotrophic Bacteria Co-Inoculations. **Agronomy**, Basel, v.11, a.959, 2021.

KALANTARI, A.; ALIASGHARZAD, N.; NAJAFI, N. Nitrate Reductase Activity, Iron and Nitrate Concentrations in Spinach Inoculated with Two Species of *Pseudomonas* under Different Nitrogen Levels. **Water and Soil Science**, Tabriz, v.32, n.2, p.25-41, 2022.

KANG, S. M.; HAMAYUN, M.; KHAN, M. A.; IQBAL, A.; LEE, I. J. *Pseudomonas fluorescens* JW1 enhances plant growth and nutrient uptake of Chinese cabbage through gibberellins secretion. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, Gottingen, v.92, p.172-178, 2019.

KAPPEL, N.; BOROS, I. F.; RAVELOMBOLA, F. S.; SIPOS, L. EC Sensitivity of Hydroponically Grown Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Types in Terms of Nitrate Accumulation. **Agriculture**, Basel, v.11, a.315, 2021.

LI, Q.; LI, H.; YANG, Z.; CHENG, X.; ZHAO, Y.; QIN, L.; BISSELING, T.; CAO, Q.; WILLEMSSEN, V. Plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* sp. CM11 specifically induces lateral roots. **New Phytologist**, Cambridge, v.235, p.1575–1588, 2022.

LI, H. B.; SINGH, R. K.; SINGH, P.; SONG, Q. Q.; XING, Y. X.; YANG, L. T.; LI, Y. R. Genetic diversity of nitrogen-fixing and plant growth promoting *Pseudomonas* species isolated from sugarcane rhizosphere. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v.14, n.8, a.1268, 2017.

LOPES, M. J. S.; DIAS-FILHO, M. B.; GURGEL, E. S. C. Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Lausanne, v.5, a.606454, 2021.

LUTTS, S.; KINET, J. M.; BOUHARMONT, J. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance, **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v.19, p.207,1996.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MARQUES, D. M.; MAGALHÃES, P. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES JÚNIOR, C. C.; SILVA, A. B.; SOUZA, T. C. Gas Exchange, Root Morphology and Nutrients in Maize. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.64, e21190580, 2021.

MARSCHNER, H. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**, Vol. 89. San Diego, CA: Academic Press. 2012. 651 p.

MATSUNAGA, M.; BEMELMANS, P. F.; TOLEDO, P. E. N.; DULLEY, R.D.; OKAWA, H.; PEDROSO, I.A. Metodologia de custo de produção utilizada pelo IEA. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v.23, n.1, p.123-139, 1976.

MEKONNEN, H.; KIBRET, M. The roles of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable vegetable production in Ethiopia. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, Hong Kong, v.8, n.15, p.1-11, 2021.

MOREIRA, V. A.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; GATO, I. M. B.; OLIVEIRA, T. J. S. S.; BOLETA, G. H. M.; GIOLO, V. M.; VITÓRIA, L. S.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* increases nutrition and yield of hydroponic lettuce. **Archives of Microbiology**, Berlin, v.204, n.440, p.1-12, 2022.

MORTINHO, E. S.; JALAL, A.; OLIVEIRA, C. E. S.; FERNANDES, G. C.; PEREIRA, N. C. M.; ROSA, P. A. L.; DO NASCIMENTO, V.; DE SÁ, M. E.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Co-inoculations with plant growth-promoting bacteria in the common bean to increase efficiency of NPK Fertilization. **Agronomy**, Basel, v.12, a.1325, 2022.

OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; OLIVEIRA, J. R.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Foliar inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Trichoderma harzianum* in hydroponic arugula improves the productive components and

plant nutrition and reduces foliar nitrate. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.52, e72755, 2022.

OLIVEIRA, L. B. G.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; GALINDO, F. S.; NOGUEIRA, T. A. R.; BARCO NETO, M.; BUZETTI, S. Forms and types of coinoculation in the soybean crop in Cerrado region. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v.42, n.4, p.924-932, 2019.

OPATOVSKY, I.; ELBAZ, M.; DORI, I.; AVRAHAM, L.; MORDECHAI-LEBIUSH, S.; DOMBROVSKY, A.; TSROR (LAHKIM), L., Control of lettuce big-vein disease by application of fungicides and crop covers. **Plant Pathology**, Oxford, v.68, p.790-795, 2019.

PANKIEVICZ, V. C. S.; AMARAL, F. P.; SANTOS, K. F. D. N.; AGTUCA, B.; XU, Y.; SCHUELLER, M. J.; ARISI, A. C. M.; STEFFENS, M. B. R.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; STACEY, G.; FERRIERI, R. A. Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. **The Plant Journal**, Oxford, v.81, p.907-919, 2015.

PRASAD, A. A.; BABU, S. Compatibility of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* in growth promotion of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.89, n.2, p.1027-1040, 2017.

REN, H.; ZHAO, X.; LI, W.; HUSSAIN, J.; QI, G.; LIU, S. Calcium Signaling in Plant Programmed Cell Death. **Cells**, Basel, v.10, a.1089, 2021.

R CORE TEAM **R: a language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna <https://www.R-project.org/2015>.

RADIN, J. W. Distribution and development of nitrate reductase activity in germinating cotton seedlings. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.53, 458-463, 1974.

ROSA, P. A. L.; MORTINHO, E. S.; JALAL, A.; GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; FERNANDES, G. C.; BARCO NETO, M.; PAVINATO, P. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v.8, a.32, p.1-18, 2020.

SÁ, G. C. R.; CARVALHO, C. L. M.; MOREIRA, A.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C. V. Biomass yield, nitrogen accumulation and nutritive value of mavuno grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.50, n.15, p.1931-1942, 2019.

SANDINI, I. E.; PACENTCHUK, F.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; CRUZ, S. P. D.; NAKATANI, A. S.; ARAUJO, R. S. Seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* promotes growth, yield and reduces nitrogen

application in maize. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v.22, p.1369–1375, 2019.

SAKATA. Informações técnicas da cultivar de alface americana Angelina. **Disponível em:** <https://www.sakata.com.br/hortalicas/folhosas/alface/americana-de-verao/angelina>. Acesso em 02 de janeiro de 2022.

SCHNABEL, T.; SATTELY, E. Engineering posttranslational regulation of glutamine synthetase for controllable ammonia production in the plant symbiont *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.87, n.14, e00582-21, 2021.

SILVA, F. C. **Manual de análise química de solo, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2009.

SILVA, E. R.; ZOZ, J.; OLIVEIRA, C. E. S.; ZUFFO, A. M.; STEINER, F.; ZOZ, T.; VENDRUSCOLO, E. P. Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)? **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 201, p. 325-335, 2019.

STEINER, F.; ZUFFO, A. M.; OLIVEIRA, C. E. S.; ARDON, H. J. V.; SOUSA, T. O.; AGUILERA, J. G. Can potassium fertilization alleviate the adverse effects of drought stress on soybean plants?. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v.15, n.3, e8240, 2022.

YAN, N.; ZHANG, Y. L.; XUE, H. M.; ZHANG, X. H.; WANG, Z. D., SHI, L. Y.; GUO, D. P. Changes in plant growth and photosynthetic performance of *Zizania latifolia* exposed to different phosphorus concentrations under hydroponic condition. **Photosynthetica**, Prague, v.53, p.630–635, 2015.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, Notre Dame, v. 80, n.948, p.209-214, 1955.

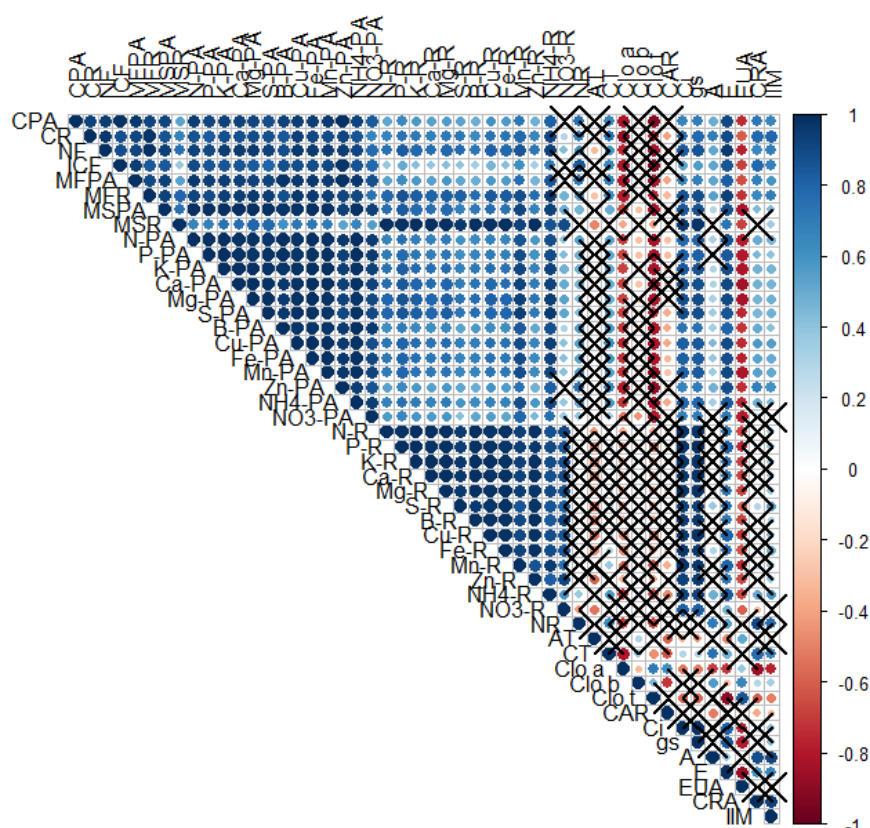
YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, London, v.57, n.3, p.508-514, 1954.

YONEYAMA, T.; SUZUKI, A. Exploration of nitrate-to-glutamate assimilation in non-photosynthetic roots of higher plants by studies of ¹⁵N-tracing, enzymes involved, reductant supply, and nitrate signaling: A review and synthesis. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.136, p.245-254, 2019.

YOUSUF, J.; THAJUDEEN, J.; RAHIMAN, M.; KRISHNANKUTTY, S.; ALIKUNJ A. P.; ABDULLA, M. H. A. Nitrogen fixing potential of various heterotrophic *Bacillus* strains from a tropical estuary and adjacent coastal regions. **Journal of Basic Microbiology**, Weinheim, v. 57, p. 922-932, 2017.

APÊNDICE D – Mapa de calor de correlações

Figura 87 – Mapa de calor dos coeficientes de correlação de Pearson obtidos das variáveis analisadas em alface americana (cultivar (Angelina) em resposta às inoculações e coinoculações via solução nutritiva. “X” indica correlação não significativa ($P > 0,05$). Comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), matéria fresca da parte aérea (MFPA), matéria fresca da raiz (MFR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), índice de clorofila foliar (ICF), teor de clorofila a (Clo a), clorofila b (Clo b), clorofila total (Clo t), carotenóides (CAR), concentração de carboidratos totais (CT) e de aminoácidos totais (AT), atividade da enzima nitrato redutase (NR), acúmulo de nutrientes na parte aérea em nitrogênio (N-PA), fósforo (P-PA), potássio (K-PA), cálcio (Ca-PA), magnésio (Mg-PA), enxofre (S-PA), boro (B-PA), cobre (Cu-PA), ferro (Fe-PA), manganês (Mn-PA), zinco (Zn-PA), amônio (NH_4^+ -PA), nitrato (NO_3^- -PA), acúmulo de nutrientes no sistema radícula em nitrogênio (N-R), fósforo (P-R), potássio (K-R), cálcio (Ca-R), magnésio (Mg-R), enxofre (S-R), boro (B-R), cobre (Cu-R), ferro (Fe-R), manganês (Mn-R), zinco (Zn-R), amônio (NH_4^+ -R), nitrato (NO_3^- -R), concentração substomática de CO_2 (Ci), condutância estomática (gs), taxa de fotossíntese líquida (A), transpiração foliar (E), eficiência do uso da água (EUA), conteúdo relativo de água (CRA) e índice de integridade de membranas foliares (IIM).



Fonte: Elaborado pelo autor.