


FABRICIO ALVES DE OLIVEIRA

The coat of arms of Rio Branco, Acre, is centered in the background. It features a golden crown at the top, a shield divided into four quadrants with the letters 'U', 'E', 'A', and 'C' in gold, and a red star at the bottom. The shield is flanked by two chains.

**CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DA ALFACE EM RESPOSTA À  
APLICAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* E *Pseudomonas fluorescens***

RIO BRANCO - AC

2021

FABRICIO ALVES DE OLIVEIRA

**CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DA ALFACE EM RESPOSTA À  
APLICAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* E *Pseudomonas fluorescens***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza da Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Ferreira Kusdra

RIO BRANCO - AC

2021

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

---

O481c Oliveira, Fabrício Alves de, 1980-  
Crescimento e produção da alface em resposta à aplicação de *Azospirillum  
brasiliense* e *Pseudomonas fluorescens* / Fabrício Alves de Oliveira; orientador: Prof.  
Dr. Jorge Ferreira Kusdra. -- 2021.  
46f. : il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Acre. Centro de Ciências Biológicas  
e da Natureza. Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Produção Vegetal. Rio Branco,  
Acre, 2021.

Inclui referências e apêndice.

1. *Lactuca sativa* 2. RPCPs 3. Biologia do solo 4. Inoculantes biológicos I. Kusdra,  
Jorge Ferreira (orientador) II. Título

CDD: 338


**FABRICIO ALVES DE OLIVEIRA**

**CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DA ALFACE EM RESPOSTA À APLICAÇÃO DE  
*Azospirillum brasilense* E *Pseudomonas fluorescens***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

APROVADA em 14 de maio de 2021.

**BANCA EXAMINADORA**

  
**Dr. Jorge Ferreira Kusdra**  
Presidente

  
**Dra. Angelita Aparecida Coutinho Picazevicz**

Membro

  
**Dra. Andréia de Lima Moreno**

Membro

RIO BRANCO - AC

2021

*A minha esposa, Michelle Frauzino e meu filho Pedro de Paiva*

*Minha família*

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

A minha esposa Michelle de Paiva Frauzino Pereira e meu filho Pedro de Paiva Frauzino Alves que são os pilares da minha vida.

A minha mãe Aurenice Alves de Oliveira e meu pai Antônio Evangelista Batista da Silva, pelo apoio prestado durante minha vida.

Ao meu orientador Dr. Jorge Ferreira Kusdra pela orientação, dedicação e sabedoria.

A Dra. Andreia Moreno e Dra. Angelita Coutinho por aceitarem o convite para banca examinadora dedicando tempo e conhecimento para avaliar este trabalho.

A Universidade Federal do Acre (UFAC) e ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal.

Aos professores do mestrado, pelas aulas ministradas e seus conhecimentos transmitidos.

Aos colegas da Secretaria Municipal de Meio Ambiente de Rio Branco-AC (SEMEIA), pela ajuda prestada durante o curso.

E para todos aqueles que não foram citados aqui, mas que contribuíram de forma direta ou indireta na conclusão dessa pós-graduação.

*“Tornamos nosso mundo significativo pela  
coragem de nossas perguntas e pela  
profundidade de nossas respostas”*

*CARL SAGAN*

## RESUMO

A utilização de insumos biológicos como os inoculantes à base de rizobactérias tem se constituído em alternativa para melhorar o crescimento e o desempenho produtivo de culturas de interesse agrônômico. Na alfaceicultura a aplicação de diferentes espécies de microrganismos pode contribuir para otimizar o cultivo das plantas seja incrementando seu crescimento pela síntese de fitohormônios, aumentando a disponibilidade de nutrientes presentes naturalmente no substrato e/ou adicionados via fertilização ou promovendo controle de fitopatógenos via exclusão competitiva. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito isolado e combinado de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, aplicadas nos substratos de cultivo, no crescimento e produção da alface cultivar Vera. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação no delineamento inteiramente casualizado, dispostos em esquema fatorial 2 x 2, com oito repetições, considerando-se como tratamentos a aplicação ou não de inoculantes à base de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* em substrato comercial (experimento 1) e no solo (experimento 2). As unidades experimentais utilizadas foram vasos preparados a partir de tubos de policloreto de vinila com diâmetro e altura de 14,5 cm e capacidade volumétrica de 2,4 L. As variáveis avaliadas em ambos os experimentos foram número de folhas comercial e total, massas frescas e secas da parte aérea comercial e total e as massas secas da raiz e total da planta. No experimento com substrato comercial, verificou-se que a aplicação de *Azospirillum brasilense* na ausência de *Pseudomonas fluorescens* contribuiu para aumentar ( $p < 0,05$ ) as massas secas da parte aérea e total. Este mesmo efeito foi observado para *Pseudomonas fluorescens* aplicada na ausência de *Azospirillum brasilense*. Quando as rizobactérias foram aplicadas simultaneamente verificou-se que *Pseudomonas fluorescens* promoveu redução ( $p < 0,05$ ) das massas secas e *Azospirillum brasilense* não interferiu ( $p > 0,05$ ) nestas variáveis indicando, neste caso, efeito antagônico para as plantas em função de *Pseudomonas fluorescens* quando combinada com *Azospirillum brasilense*. No experimento considerando solo como substrato não foi verificado ( $p > 0,05$ ) efeito no crescimento e produção da alface cultivar Vera derivado da aplicação isolada ou combinada de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*.

Palavras-chave: *Lactuca sativa*; RPCPs; biologia do solo; inoculantes biológicos.



## ABSTRACT

The use of biological inputs such as rhizobacteria-based inoculants has been an alternative to improve the growth and productive performance of agronomic interest crops. In lettuce crops, the application of different species of microorganisms can contribute to optimize the cultivation of plants, either by increasing their growth through the synthesis of phytohormones, increasing the availability of nutrients naturally present in the substrate and/or added via fertilization or promoting control of phytopathogens via competitive exclusion. The objective of this study was to assess isolated and combined effect of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*, applied on cultivation substrates, on growth and production of 'Vera' lettuce cultivar. Two experiments were carried out in a greenhouse in a completely randomized design, using a 2 x 2 factorial arrangement, with eight repetitions, considering as treatments the application or not of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*-based inoculants in commercial substrate (experiment 1) and on the soil (experiment 2). The experimental units used were pots made of polyvinyl chloride pipes with a diameter and height of 14.5 cm and a volumetric capacity of 2.4 L. The variables assessed in both experiments were number of commercial and total leaves, fresh and dry commercial and total shoot weight and dry root and total plant weight. In the experiment with commercial substrate, *Azospirillum brasilense* application in the absence of *Pseudomonas fluorescens* increased ( $p < 0.05$ ) shoot and total lettuce dry weight. This same effect was observed for *Pseudomonas fluorescens* applied in the absence of *Azospirillum brasilense*. When rhizobacteria were simultaneously applied, *Pseudomonas fluorescens* reduced ( $p < 0.05$ ) the lettuce dry weight variables and *Azospirillum brasilense* did not interfere ( $p > 0.05$ ) in these, indicating, in this case, an antagonistic effect for the plants due to *Pseudomonas fluorescens* when combined with *Azospirillum brasilense*. In the experiment considering soil as substrate, no effect ( $p > 0.05$ ) was verified on the growth and production of 'Vera' lettuce cultivar derived from the isolated or combined application of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*.

Keywords: *Lactuca sativa*; PGPR; soil biology; bio-inoculants.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Caracterização química do solo utilizado como substrato para o cultivo da alface cultivar Vera em experimento realizado em casa de vegetação localizada na Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, 2020/2021 ..... 23
- Tabela 2 - Massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera em função da interação entre *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* ..... 24
- Tabela 3 - Comparação por contrastes ortogonais entre a aplicação ou não das rizobactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no substrato comercial, sobre o número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massas frescas da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT), massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT), da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera ..... 26
- Tabela 4 - Comparação por contrastes ortogonais entre a aplicação ou não das rizobactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no solo, sobre o número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massas frescas da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT), massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera ..... 27

## LISTA DE APÊNDICES

- APÊNDICE A – Normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste de Cochran) das variáveis número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massa fresca da parte aérea total (MFPAT) e parte aérea comercial (MFPAC), massa seca da parte aérea total (MSPAT), da parte aérea comercial (MSPAC), da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1 ..... 39
- APÊNDICE B – Normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste de Cochran) das variáveis número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massa fresca da parte aérea total (MFPAT) e parte aérea comercial (MFPAC), massa seca da parte aérea total (MSPAT), da parte aérea comercial (MSPAC), da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2 ..... 40
- APÊNDICE C – Análise de variância das variáveis número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1 ... 40
- APÊNDICE D – Análise de variância das variáveis massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1 ..... 41
- APÊNDICE E – Análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC) e da parte aérea total (MSPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1 ..... 41
- APÊNDICE F – Análise de variância das variáveis massa seca da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1..... 42
- APÊNDICE G – Desdobramento da análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera, avaliadas no experimento 1, considerando a interação entre *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* ..... 42
- APÊNDICE H – Análise de variância do contraste ortogonal referente à comparação entre a aplicação ou não de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no substrato comercial, sobre o número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massas frescas da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1 ..... 43
- APÊNDICE I – Análise de variância do contraste ortogonal referente à comparação entre a aplicação ou não de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no substrato comercial, sobre as massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT), da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1 ..... 43

APÊNDICE J – Análise de variância das variáveis número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2	43
APÊNDICE K – Análise de variância das variáveis massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2 .....	44
APÊNDICE L – Análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2 .....	44
APÊNDICE M – Análise de variância do contraste ortogonal referente à comparação entre a aplicação ou não de <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Pseudomonas fluorescens</i> , de forma isolada ou combinada no solo, sobre o número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massas frescas da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2 .....	45
APÊNDICE N – Análise de variância do contraste ortogonal referente à comparação entre a aplicação ou não de <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Pseudomonas fluorescens</i> , de forma isolada ou combinada no solo, sobre as massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2 .....	45

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
2.1 ALFACE .....	14
2.1.1 Sistemas de produção .....	15
2.1.2 Demanda nutricional .....	16
2.2 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS .....	17
2.2.1 <i>Azospirillum brasilense</i> .....	18
2.2.2 <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	19
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	20
3.1 EXPERIMENTO 1 .....	20
3.2 EXPERIMENTO 2 .....	22
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	24
4.1 EXPERIMENTO 1 .....	24
4.2 EXPERIMENTO 2 .....	27
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	29
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	30
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	31
<b>APÊNDICES</b> .....	38

## 1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é uma hortaliça folhosa de grande importância social e econômica. A planta apresenta alta demanda comercial ao longo de todo o ano e, em função disso, seu cultivo constitui-se como alternativa de renda e geração de emprego especialmente para os pequenos produtores. Entre as décadas de 80 e 90, os principais tipos varietais de alface cultivados e consumidos no Brasil eram as de folhas lisas, havendo posteriormente transição para o padrão crespa que se apresenta até hoje como preferência do mercado produtor e consumidor brasileiro. No Acre o cultivo de alface do tipo crespa impulsionou a produção e melhorou a qualidade comercial das plantas uma vez que estas apresentam maior resistência ao pendoamento prematuro induzido por condições de temperaturas mais elevadas (LÉDO et al., 2000; SALA; COSTA, 2012).

A principal fonte de macro e micronutrientes utilizada nos sistemas de produção convencional e orgânico da alface são os fertilizantes químicos e os adubos orgânicos, respectivamente. A aplicação destes insumos é uma prática necessária, uma vez que as condições de fertilidade da maioria dos solos brasileiros não estão adequadas para atender a demanda nutricional da cultura ao longo de seu ciclo produtivo. Todavia, problemas relacionados às perdas de nutrientes por volatilização e/ou lixiviação são comuns, tanto em fontes químicas quanto orgânicas, e podem resultar no baixo aproveitamento destes pelas plantas comprometendo seu crescimento e produção. Neste sentido, rizobactérias promotoras do crescimento plantas (RPCPs) estão sendo utilizadas visando melhorar o aproveitamento dos insumos aplicados nos substratos de cultivo para diferentes culturas de interesse agrônômico (DIAZ, 2018; FREITAS; VILDOSO, 2004; LANA et al., 2012; MEIRELLES et al., 2017).

Em hortaliças como a alface, cujo principal componente de interesse comercial são as folhas, a utilização de fontes biológicas que apresentem potencialidade para incrementar o crescimento da parte aérea deve ser considerada. Neste aspecto os microrganismos apresentam potencial para melhorar o aproveitamento de nutrientes presentes naturalmente no substrato de cultivo e/ou disponibilizados via fertilizantes sintéticos ou adubos orgânicos. Além disso, podem produzir efeitos benéficos adicionais mediante a síntese de diferentes substâncias que contribuem para estimular o máximo potencial de desenvolvimento vegetativo da cultura.

As rizobactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, aplicadas de forma isolada ou combinada, tem se constituído em alternativa para melhorar o desempenho agrônômico da alface. Efeitos positivos derivados da aplicação de *Azospirillum brasilense* em alface foram observados tanto no incremento da massa da parte aérea fresca (GARBI et al., 2016) quanto seca (LIMA et al., 2017). No caso de *Pseudomonas fluorescens* esta aumentou a eficiência fotossintética e incrementou as massas frescas comercial e total, bem como os teores de nitrogênio, fósforo e potássio nas plantas de alface (CARDOSO et al., 2019). Embora não se tenham relatos do efeito da aplicação conjunta destas duas espécies, em particular, no crescimento e produção de alface, Aponte et al. (2017) observaram benefícios para as plantas derivados do uso de isolados de *Azospirillum sp.* e *Pseudomonas fluorescens*.

As rizobactérias normalmente colonizam a região radicular e por meio de múltiplos mecanismos de ação como produção de fitohormônios e sideróforos, fixação biológica de nitrogênio, solubilização de nutrientes e controle de fitopatógenos, contribuem para ampliar respostas de crescimento e produção vegetal. Florentino et al. (2017) verificaram que o ácido indol-3-acético (AIA) produzido por *Azospirillum brasilense* proporcionou aumentos na taxa de germinação e incrementos na massa seca da parte aérea e comprimento radicular em mudas de alface. Vantagens no crescimento inicial da alface também foram observadas por Someya et al. (2008) derivados da síntese de AIA e sideróforos por *Pseudomonas fluorescens*. Os efeitos sinérgicos promovidos pela aplicação combinada de isolados de *Azospirillum sp.* e *Pseudomonas fluorescens* no crescimento de alface observados por Aponte et al. (2017) foram atribuídos à fixação biológica do nitrogênio, solubilização de fósforo e síntese de AIA pelos microrganismos.

A disponibilidade de produtos à base de rizobactérias no mercado brasileiro de inoculantes possibilita que a aplicação dos mesmos seja considerada como prática agrícola visando melhorar as características de crescimento e produção das plantas. Os produtos biológicos destinados a agricultura são certificados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e recomendados para o cultivo de leguminosas e poáceas. Todavia, sua utilização em espécies de outras famílias pode contribuir tanto para diversificar o uso destes insumos quanto constituir-se em estratégia para ampliar os benefícios de outros sistemas de manejo já adotados para o cultivo das mesmas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos isolados e combinados derivados da aplicação de inoculantes biológicos à base de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* sobre o crescimento e produção da alface cultivar Vera.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A alface é uma olerícola folhosa de interesse agrônômico que desempenha importante papel no agronegócio brasileiro, sendo produzida anualmente em todas as regiões do Brasil e amplamente utilizada para a alimentação humana em preparos de salada (SALA; COSTA, 2012). Devido sua perecibilidade e curto tempo de vida de prateleira, o cultivo das plantas é normalmente realizado em áreas próximas aos locais de distribuição e comercialização (HENZ; SUINAGA, 2009). O período médio de produção é de 45 a 60 dias após o transplante e, em função disso, a demanda nutricional das plantas deve ser adequadamente atendida para possibilitar a produção e garantir a qualidade comercial destas (MALDONADE et al., 2014; YURI et al., 2016). A utilização de RPCPs associadas ou não a outras práticas de manejo já adotadas para o cultivo da alface, tem produzido respostas positivas para esta cultura especialmente com resultados evidenciando que diferentes espécies microbianas têm se mostrado eficientes em estimular o crescimento e produção das plantas (CIPRIANO et al., 2016; GARBI et al., 2016; KOZUSNY-ANDREANI; ANDREANI JUNIOR, 2014; MEIRELLES et al., 2017).

### 2.1 ALFACE

A espécie (*Lactuca sativa* L.) é uma hortaliça pertencente à família Asteraceae, ordem Asterales e classe Magnoliopsida. Consiste numa dicotiledônea, herbácea, com caule reduzido e ereto, que sustenta as folhas (em forma de roseta) que podem ser crespas ou lisas, formar ou não cabeça. Dependendo da variedade podem apresentar coloração verde claro ou escuro, roxa ou avermelhada. São plantas hermafroditas autógamas e suas flores são agrupadas numa inflorescência em forma de capítulo contendo de 10 a 25 floretes amarelos. Suas raízes são pivotantes, ramificadas e superficiais distribuindo-se nos primeiros 20 cm de profundidade do substrato de cultivo, podendo atingir até 60 cm de comprimento quando as plantas são cultivadas por semeadura direta à campo (FILGUEIRA, 2013; NICK; BORÉM, 2016).

O ciclo de vida desta olerícola divide-se em fases vegetativa e reprodutiva. A primeira se caracteriza pela germinação, emergência e formação de rosetas de folhas abertas (cultivares soltas) ou compactas (cultivares repolhudas), dependendo do grupo genético da planta. A segunda é caracterizada pela formação e alongamento



do pendão floral, florescimento, maturação fisiológica das sementes e produção excessiva de lactucina tornando as folhas amargas e rígidas tornando-as inviáveis para o consumo e comercialização. A duração das fases dependerá do genótipo das variedades, das condições climáticas do local de cultivo e dos tratos culturais aplicados as plantas (FILGUEIRA, 2013; SALA; COSTA, 2012; SUINAGA et al., 2013).

### 2.1.1 Sistemas de produção

O cultivo da alface inicia-se normalmente com a produção de mudas que são posteriormente transplantadas para o local de cultivo quando apresentam de quatro a seis folhas definitivas (MALDONADE et al., 2014). Em geral estas são produzidas em espumas fenólicas ou ainda em bandejas de poliestireno expandido ou polipropileno nos quais adiciona-se substratos que possibilitam tanto a germinação das sementes quanto a emergência e estabelecimento inicial das plântulas de modo a se obter mudas vigorosas e saudáveis, sem comprometer seu sistema radicular no momento do transplante. A utilização de sementeiras também é considerada, porém devido suas eventuais consequências negativas para as raízes e maior estresse para as plantas após o transplante, estas não são normalmente recomendadas (COUTO et al., 2015; FILGUEIRA, 2013; FREITAS et al., 2013; TRANI et al., 2004).

A alface pode ser produzida em sistema orgânico, convencional e hidropônico que se diferem quanto aos manejos empregados na cultura (HENZ; SUINAGA, 2009). O preparo intenso do solo e a utilização de fertilizantes e defensivos químicos visando aumento da produção e o controle de pragas e doenças das plantas, são característicos do cultivo convencional (COSTA JÚNIOR; LEMOS, 2016; VAZ et al., 2019). Em sistemas de hidroponia, esta olerícola apresenta alta produtividade resultante do melhor aproveitamento da água e fertilizantes disponíveis na solução nutritiva e por serem cultivadas em ambientes protegidos que reduzem a possibilidade de perdas de plantas devido a condições edafoclimáticas desfavoráveis (FURLANI, 1995; FURLANI et al., 1999). O uso de fontes orgânicas para o cultivo, normalmente oriundas do processo de compostagem de materiais disponíveis em grande quantidade, de fácil acesso, que apresentem potencial para suprir a demanda nutricional das plantas, tem se constituído em opção viável para a produção desta hortaliça (FERREIRA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014).

As condições ambientais são determinantes para se estabelecer o local onde a alface será cultivada. Como em geral são plantas adaptadas a faixas de temperaturas variando de 15 °C a 24 °C, seu cultivo à céu aberto deve ser uma opção em períodos de pouca precipitação e clima ameno. A utilização de ambientes protegidos, como as estufas com cobertura plástica, em regiões que apresentam temperaturas superiores a 25 °C, é considerada uma alternativa eficiente para minimizar o pendoamento precoce das plantas que se constitui como um dos principais problemas relacionados à produção desta hortaliça em regiões de clima quente. Além disso, danos ou perdas devido a condições climáticas adversas (chuvas intensas e geadas) e suscetibilidade a pragas e doenças observadas em plantas cultivadas em ambiente aberto tendem a reduzir quando o local de produção destas é coberto (REIS, 2005; RODRIGUES, 2015; SALA; COSTA, 2012).

#### 2.1.2 Demanda nutricional

As hortaliças possuem demandas nutricionais diferentes em relação ao padrão de absorção durante seu crescimento (KANO et al., 2011). A curva de acúmulo de nutrientes é parâmetro para recomendar a adubação e um indicativo da demanda nutricional em cada etapa de desenvolvimento da planta. A alface apresenta grande demanda nutricional, principalmente em nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio e sua absorção varia desde a emergência até a maturação. Por ser uma cultura de crescimento inicial lento esses elementos são requeridos em maior quantidade cerca de 30 dias após o transplante quando se inicia o pleno desenvolvimento das folhas (BENINNI et al., 2005; VAZ et al., 2019).

Por possuir alta demanda de mercado, combinada ao ciclo curto e crescimento vegetativo rápido, torna-se indispensável o fornecimento de nutrientes para garantir a produção da alface. A deficiência nutricional em qualquer fase de desenvolvimento desta cultura implica na redução da altura, da área foliar, perda das folhas, morte de brotos e raízes, sendo facilmente detectada mediante observação da coloração e formato anormal das folhas, perda da turgência e necrose do tecido vegetal (ALMEIDA et al., 2011).

O nitrogênio é requerido ao longo de todo o ciclo da cultura, sendo absorvido com maior intensidade na fase final do crescimento das plantas. Este elemento precisa ser adicionado regularmente ao solo por apresentar alta dinâmica, participando

de diversas transformações químicas e biológicas. O suprimento inadequado deste para a planta resulta em retardamento do crescimento, além da má formação foliar. Para evitar esta deficiência é importante aplicar, por ocasião do transplântio, fertilizantes nitrogenados na dose de 100 a 150 kg ha<sup>-1</sup> de N ou 10 a 40 t ha<sup>-1</sup> de adubos orgânicos ricos em N, como os esterco de aves e bovinos (ALMEIDA et al., 2011; KANO et al., 2011; MALAVOLTA, 2006; YURI et al., 2016).

O fósforo, assim como o nitrogênio, é mais requerido pelas plantas no final da fase vegetativa sendo fundamental para o adequado desenvolvimento da parte aérea e radicular da alface. No transplântio das mudas recomenda-se a aplicação de 50 a 400 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. O potássio desempenha importante papel na fisiologia e no aproveitamento de nutrientes pelas plantas sendo indicadas para o cultivo da alface doses variando de 10 a 60 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. O cálcio e o magnésio constituem-se como elementos essenciais para a alface podendo o suprimento inadequado dos mesmos provocar necrose nos pontos de crescimento de folhas novas (Ca) e comprometer a eficiência fotossintética e o metabolismo do fosfato (Mg). A calagem com calcário dolomítico para reduzir a acidez do solo é o principal método recomendado para corrigir a deficiência destes nutrientes no solo (KANO et al., 2010; LANA et al., 2004; LOPES et al., 2003; YURI et al., 2016).

## 2.2 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS

As rizobactérias promotoras do crescimento vegetal compreendem um grupo de microrganismos colonizadores da rizosfera normalmente utilizados para fins agrícolas em diferentes culturas e associadas a práticas que visam o conservacionismo e sustentabilidade na agricultura (ASHRAF et al., 2013). Devido ao grande volume de pesquisas realizadas e aos benefícios reportados para as plantas, os gêneros de RPCPs que se destacam são *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Serratia*, *Arthrobacter*, *Enterobacter* e *Azotobacter* (MELO, 1998; ZOPE et al., 2019).

Os benefícios produzidos para plantas em função do uso de rizobactérias são derivados de mecanismos de ação múltiplos e diversificados. Os comumente reconhecidos para a maioria referem-se à promoção do crescimento vegetal por meio da fixação biológica do nitrogênio, síntese de fitohormônios e solubilização de nutrientes. Como agentes de controle biológico atuam na produção de substâncias antagônicas

como antibióticos, sideróforos e enzimas hidrolíticas, além de induzir resistência sistêmica nas plantas. Além disso, por apresentarem alta habilidade competitiva e eficiência na colonização rizosférica, contribuem para impedir o estabelecimento de fitopatógenos nesta região (BHATTACHARYYA; JHA, 2012; SOUZA et al., 2015).

### 2.2.1 *Azospirillum brasilense*

A rizobactéria *Azospirillum brasilense* é um microrganismo diazotrófico de vida livre que ocorre naturalmente no solo podendo associar-se às raízes de diferentes espécies vegetais (MOREIRA et al., 2010). Esta espécie microbiana tem contribuído para melhorar o desempenho agrônômico das plantas, minimizar estresses ambientais nas mesmas e promover o controle biológico de organismos deletérios em culturas de interesse comercial como alface (BARASSI et al., 2006; FASCIGLIONE et al., 2012; GARBI et al., 2016; KOHLER et al., 2009; LIMA et al., 2017), tomateiro (LAMSAL et al., 2013; ROMERO et al., 2014) e pimenta (DEL AMOR et al., 2008; FLORES et al., 2010), apesar de ser usualmente recomendada para poáceas como milho, trigo, sorgo, arroz, cana de açúcar e plantas forrageiras (HUNGRIA, 2011).

A promoção do crescimento vegetal por *Azospirillum brasilense* ocorre tanto pela transferência de moléculas sintetizadas pela bactéria para a planta quanto pela melhoria na eficiência da absorção ou aumento da disponibilidade de alguns elementos nutricionais para as mesmas (BASHAN; BASHAN, 2010). A fixação biológica do nitrogênio atmosférico constitui-se como a principal atividade relacionada a esta rizobactéria, uma vez que a mesma pode aproveitar o elemento em sua forma molecular ( $N_2$ ) mediante a síntese da enzima nitrogenase, imobilizando-o em formas orgânicas a nível celular para atender às suas necessidades metabólicas e, após a lise das células, ser mineralizado ficando disponível para as plantas (REIS et al., 2006).

A produção de fitohormônios é uma das ações que confere ao *Azospirillum brasilense* o potencial de promoção do crescimento em diferentes espécies vegetais, uma vez que sua atividade diazotrófica parece estar mais relacionada com as plantas que podem se beneficiar deste processo, como por exemplo as poáceas, mediante associação de seu sistema radicular com este microrganismo (BURDMAN et al., 2000). A síntese de auxinas, citocininas, giberelinas e etileno por esta rizobactéria, estimula o alongamento das raízes e aumento do volume das mesmas que proporcionam melhorias na eficiência da absorção e no aproveitamento de nutrientes

disponíveis e/ou adicionados ao solo via fertilizantes, sendo estes efeitos, conseqüentemente, refletidos no crescimento global das plantas (CASTILLO et al., 2015; PERRIG et al., 2007; RIBAUDO et al., 2006).

### 2.2.2 *Pseudomonas fluorescens*

A rizobactéria *Pseudomonas fluorescens* é um microrganismo edáfico de vida livre mas também associativa que, neste caso, tem como habitat a região da rizosfera de espécies vegetais. A designação da espécie é derivada de um pigmento fluorescente produzido por estas denominado pioverdina. Entre os vários compostos sintetizados pelas mesmas alguns possuem efeito antagônico e deletério a outras espécies microbianas sendo caracterizadas, desta forma, como agentes de biocontrole. Em função da exclusão competitiva de fitopatógenos contribuem indiretamente também na promoção do crescimento vegetal (GROSS; LOPER, 2009; RAAIJMAKERS et al., 2002).

Entre as atividades desta rizobactéria estão a produção de sideróforos que atuam no sequestro de ferro tornando-o menos disponível a várias espécies de fitopatógenos atuando assim no controle destes minimizando seus prejuízos às plantas (SANTOYO et al., 2010). Estas ao serem aplicadas em cultivo de alface sintetizaram sideróforos e produziram o fitohormônio ácido indol-3-acético, compostos que desempenham papel importante no cultivo desta olerícola em condições de estresse gerado pelo acúmulo de ferro no solo (SOMEYA et al., 2008).

O potencial de utilizar compostos derivados do hospedeiro e sua resistência ao estresse oxidativo podem explicar como esta rizobactéria obtém sucesso em ambiente altamente competitivo como a rizosfera. Para tanto, sintetiza enzimas hidrolíticas extracelulares, incluindo lipases, proteases e quitinases, que degradam polímeros encontrados no solo e consegue catabolizar compostos complexos como os aromáticos e hidrocarbonetos de cadeia longa (PAULSEN et al., 2005).

Nas hortaliças cultivadas em sistema convencional são encontradas altas concentrações de metais pesados, destacando-se a alface crespa com 47% a mais de cádmio (Cd) quando comparada ao cultivo em sistema orgânico (CARVALHO et al., 2020). Neste aspecto *Pseudomonas fluorescens* proporcionou efeito protetor nas raízes de alface sob condições de estresse, causadas pelo cádmio e aumentou a matéria seca da parte aérea das plantas (KHOSRAVI et al., 2018). O uso desta espécie de rizobactéria também aumentou a taxa de germinação das sementes, mesmo em condições de alta concentração de NaCl (HUSSEIN; JOO, 2018).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos com a alface cultivar Vera, grupo comercial solta crespa, foram conduzidos em casa de vegetação, localizada na área experimental da Universidade Federal do Acre, em Rio Branco, Acre. No primeiro foi usado substrato comercial e o segundo com solo, foram instalados em 23 de dezembro de 2020 seguindo-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, fatorial 2 x 2, com 8 repetições, considerando-se como fatores a presença e ausência de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*. Para ambos, foram utilizadas como unidades experimentais tubos brancos de policloreto de vinila (PVC) com diâmetro e altura de 14,5 cm e capacidade volumétrica de 2,4 L. A avaliação dos experimentos 1 e 2 foi efetuada em 30 de janeiro e 6 de fevereiro de 2021, respectivamente.

#### 3.1 EXPERIMENTO 1

No presente experimento, o substrato comercial constituído por casca de pinus, vermiculita, carvão vegetal, espuma fenólica e fertilizante (NPK) foi utilizado para o cultivo da alface considerando a ausência e presença de aplicação de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* no mesmo. Efetuou-se coleta prévia de amostra deste material para submetê-lo à análise química seguindo-se a metodologia proposta na instrução normativa 17 do MAPA (2007). Os atributos apresentados por este no momento da instalação foram os seguintes: pH em água = 6,32; matéria orgânica = 55,39%; P = 0,44%; K = 0,98%; Ca = 1,11%; Mg = 1,34%; CTC = 445 mmol<sub>c</sub>.kg<sup>-1</sup>.

As fontes de *Azospirillum brasilense* (estirpes AbV5 e AbV6) e *Pseudomonas fluorescens* (estirpe CCTB03) foram inoculantes comerciais na forma líquida. Visando avaliar a qualidade dos produtos biológicos, procedeu-se a verificação da presença de células viáveis nos mesmos pelo método de diluição seriada e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) em placa de Petri (TORTORA et al., 2017). Assim, utilizou-se o meio NFB modificado, seletivo para *Azospirillum brasilense*, composto por ácido málico (5 g), fosfato dipotássico (0,5 g), sulfatos de ferro (0,5 g), de manganês (0,01 g) e de magnésio (0,2 g), cloretos de sódio (0,1 g) e de cálcio (0,02 g), molibdato de sódio (0,002 g), azul de bromotimol (0,002 g), ágar (20 g), hidróxido de potássio (5 g) e água destilada (1 L). Para *Pseudomonas fluorescens* o meio seletivo utilizado foi o B King constituído de peptona (20 g), fosfato de potássio (1,5 g), sulfato

de magnésio (1,5 g), glicerol (10 mL), ágar (20 g) e água destilada (1 L). O resultado das contagens indicou a presença de  $2,7 \times 10^9$  UFC.mL para *Azospirillum brasilense* e de  $4,8 \times 10^8$  UFC.mL para *Pseudomonas fluorescens*.

Procedeu-se o preparo das mudas em bandeja de poliestireno expandido com 200 células, preenchidas com substrato composto por areia e vermiculita na proporção 1:1, nas quais efetuou-se a semeadura de 3 sementes por célula, 10 dias antes da instalação do experimento. Decorrido este período, quando as plantas se apresentavam com um par de folhas definitivas, duas destas foram transplantadas para cada unidade experimental contendo substrato comercial.

A aplicação isolada e combinada de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* foi realizada no mesmo dia do transplântio. Adicionou-se diretamente no substrato comercial em sulcos com profundidade aproximada de 1 cm entre as mudas, a dose de 1 mL dos inoculantes para cada tratamento correspondente, com auxílio de uma pipeta de 1000 µL. Visando minimizar o comprometimento tanto do vigor das plantas quanto o estabelecimento das rizobactérias no substrato, ambos os procedimentos foram efetuados no final da tarde, ocasião em que temperatura ambiente estava amena.

Aos 10 dias após o transplântio foi realizado o desbaste, mantendo-se a planta considerada mais vigorosa em cada unidade experimental. As irrigações foram efetuadas manualmente, mantendo-se a umidade do solo em condição adequada para a alfaca. O controle de plantas espontâneas e insetos foi realizado também manualmente quando necessário. Para monitorar as condições ambientais na casa de vegetação foi instalado um datalogger, que durante o experimento registrou temperatura e umidade médias de 29,3 °C e 77,4%.

As avaliações foram realizadas quando pelo menos 50% das plantas apresentaram máximo desenvolvimento vegetativo sendo este momento correspondente ao período de 39 dias após o transplântio. Com o auxílio de um estilete as plantas foram cortadas ao nível do solo e a parte aérea foi submetida à verificação das massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC). Como critério para avaliação das variáveis comerciais, foi estabelecido que seriam desconsideradas as folhas senescidas, danificadas com manchas e/ou com integridade comprometida.

As raízes foram retiradas das unidades experimentais e previamente limpas mediante lavagem em água corrente. Posteriormente, estas foram acondicionadas em sacos plásticos contendo álcool 70% e ficaram reservadas até ser efetuada sua

limpeza completa para, a partir daí, serem submetidas à avaliação da massa seca. Para obtenção das massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), da raiz (MSR) e massa seca total (MST) das plantas, estas foram acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados e mantidos em estufa com circulação de ar a 65 °C, até apresentar massa constante sem variações no intervalo de 24 horas. A verificação das massas frescas e secas foi realizada com auxílio de balança digital. Mediante a soma das massas secas da parte aérea total (MSPAT) e das raízes (MSR) obteve-se o valor referente à total (MST).

Os resultados foram submetidos à verificação de dados discrepantes (GRUBBS, 1969), normalidade dos erros (SHAPIRO; WILK, 1965) e homogeneidade das variâncias (COCHRAN, 1941). Quando não se confirmou a normalidade dos erros e/ou homogeneidade das variâncias efetuou-se transformações dos dados (APÊNDICE A). A significância dos efeitos isolados e/ou combinados de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* nas variáveis avaliadas foi verificada pelo teste F (SNEDECOR; COCHRAN, 1948). Para as interações significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os fatores procedeu-se o seu desdobramento para avaliar o efeito de um dentro do nível do outro. Foi verificado, por contraste ortogonal (NOGUEIRA, 2004), o efeito sobre o crescimento e produção da alface em resposta a aplicação isolada e/ou combinada das rizobactérias no substrato comercial comparado ao tratamento no qual estas não foram introduzidas via inoculante a este material.

### 3.2 EXPERIMENTO 2

Este experimento foi instalado, conduzido e avaliado de forma similar ao 1. Todavia, neste, o substrato utilizado para o cultivo da alface foi o solo retirado da camada superior (0-20 cm) de uma área em pousio nas dependências da UFAC com a seguinte composição granulométrica: 22% de argila, 41,5% de silte e 36,3% de areia. Mediante avaliação de sua condição química inicial verificou-se a necessidade de correção do mesmo (Tabela 1). Desta forma, para adequar sua condição de fertilidade visando atender a demanda nutricional das plantas, efetuou-se a calagem com calcário dolomítico (PRNT 92,9%), em dose correspondente a  $4,5 \text{ t ha}^{-1}$ , para elevar a saturação de bases para a faixa de 70%, considerada adequada para o cultivo da alface (FILGUEIRA, 2013). No sentido de viabilizar a disponibilidade de P e K em função da



quantidade de solo presente nos tubos ser restrita, adicionou-se em cada unidade experimental 1,8 g de superfosfato simples (21%  $P_2O_5$ ) e 0,6 g de cloreto de potássio (52%  $K_2O$ ), correspondentes à dose de 100 mg  $kg^{-1}$  para ambos os elementos. Posteriormente, procedeu-se nova amostragem para análise dos seus respectivos atributos químicos (Tabela1).

Tabela 1 - Caracterização química do solo utilizado como substrato para o cultivo da alface cultivar Vera em experimento realizado em casa de vegetação localizada na Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, 2020/202<sup>(1,2,3)</sup>

Substrato	pH	Ca	Mg	K	Al	H+Al	CTC	P	MO	V	m
		..... cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> .....					mg.dm <sup>-3</sup>	g.dm <sup>-3</sup>	..... % .....		
Solo A1	5,0	1,4	0,7	0,2	1,7	6,4	8,7	7,0	30,0	27	42
Solo A2	4,9	3,4	0,8	0,6	0,1	4,2	9,1	26,0	34,0	54	2

Notas: 1 - Solo A1: antes de efetuar calagem; Solo A2: após efetuar calagem e aplicação de P e K;

2 - pH obtido em água.

3 - Metodologia de análise química do solo proposta por Silva (2009).

Na instalação do experimento a forma de aplicação das rizobactérias no solo foi similar a efetuada no substrato comercial. No entanto, aplicou-se adicionalmente neste a dose correspondente a 70  $kg.ha^{-1}$  de N já recomendada (YURI et al., 2016) para o cultivo da alface. A ureia, utilizada como fonte de N, foi adicionada em todas as unidades experimentais em profundidade padrão de 2 cm e incorporada manualmente ao solo momentos antes do transplântio das mudas e aplicação dos inoculantes.

Quando no mínimo 50% das plantas apresentavam máximo desenvolvimento vegetativo as avaliações foram realizadas, em período correspondente aos 46 dias após o transplântio. Da mesma forma que no primeiro, as condições ambientais de temperatura e umidade foram monitoradas pelo datalogger instalado na casa de vegetação e os valores médios observados foram 29,4 °C e 77,3%, respectivamente.

A forma de obtenção e avaliação das variáveis relacionadas ao crescimento e produção da alface seguiu a mesma metodologia utilizada no experimento anterior. A análise estatística dos resultados também foi efetuada de forma similar ao primeiro experimento. Porém, neste efetuou-se a aplicação do teste não paramétrico de Kruskal e Wallis (1952) para uma variável (MSR) pelo fato de não se obter para a mesma qualquer transformação de dados que permitisse normalizar os erros e/ou homogeneizar as variâncias conforme apresentado no APÊNDICE B.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* interferiu de forma diferenciada no crescimento e produção da alface cultivar Vera quando estas espécies de rizobactérias foram adicionadas, de forma isolada ou combinada, ao substrato comercial e ao solo nos experimentos 1 e 2, respectivamente.

### 4.1 EXPERIMENTO 1

Foi verificado neste experimento efeito da interação ( $p < 0,05$ ) entre *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* no crescimento e produção da alface. Todavia, aumentos nas variáveis avaliadas foram verificados quando apenas uma espécie de rizobactéria foi aplicada ao substrato comercial na ausência da outra.

Os incrementos nas massas secas da alface (MSPAC, MSPAT e MST) foram significativos quando *Azospirillum brasilense* foi aplicado no substrato comercial na ausência de *Pseudomonas fluorescens*. Este efeito também foi observado para estas mesmas variáveis considerando-se a presença de *Pseudomonas fluorescens* na ausência *Azospirillum brasilense*. Os resultados evidenciaram que a aplicação de cada uma das espécies de rizobactérias na ausência da outra contribuiu para o crescimento total das plantas sendo verificados aumentos relativos para MST de 41% na presença de *Azospirillum brasilense* e 28% para *Pseudomonas fluorescens* (Tabela 2).

Tabela 2 - Massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera em função da interação entre *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*<sup>(1, 2)</sup>

Variáveis	<i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>		CV (%)
		Ausência	Presença	
MSPAC (g)	Ausência	8,75Bb	11,21Aa	13,53
	Presença	12,34Aa	10,83Ba	
MSPAT (g)	Ausência	8,96Bb	11,54Aa	13,37
	Presença	12,90Aa	11,21Ba	
MST (g)	Ausência	9,89Bb	12,63Aa	17,33
	Presença	13,91Aa	12,14Ba	

Notas: 1 - Médias seguidas por mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F;

2 - Testes estatísticos nos APÊNDICES A, E, F e G.

Os aumentos observados nas MSPAC, MSPAT e MST (Tabela 2) derivados da aplicação das rizobactérias no substrato comercial podem ter sido resultado dos múltiplos mecanismos de ação desempenhados por *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* os quais incluem, segundo Ashraf et al. (2013), a síntese de hormônios vegetais e sideróforos, a solubilização de nutrientes, a fixação biológica do nitrogênio e o controle de organismos deletérios. Florentino et al. (2017) e Someya et al. (2008) verificaram que a produção de substâncias reguladoras, como a auxina ácido indol-3-acético (AIA), fitohormônio sintetizado pelas bactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* proporcionaram aumentos no crescimento inicial da alface. A utilização de biofilmes de *Pseudomonas fluorescens* contribuiu para o controle de oocistos de protozoários em sistemas de produção de alface por hidroponia (CARELI, 2009). Menezes (2019) ao avaliar o efeito isolado de *Azospirillum brasilense* observou aumentos massa fresca da parte aérea comercial e no número de folhas comerciais da alface, indicando que estes foram possivelmente resultado da produção de citocininas pela rizobactéria.

Na presença de *Azospirillum brasilense* a aplicação de *Pseudomonas fluorescens* promoveu reduções na MSPAC (12%), MSPAT (13%) e MST (13%) da alface (Tabela 2), indicando que houve algum possível efeito antagônico para a planta em função da combinação destas, provavelmente relacionado à competição por nutrientes entre os microrganismos e produção de compostos nocivos que comprometeram o incremento destas variáveis. Para as mesmas, quando *Azospirillum brasilense* foi aplicado na presença de *Pseudomonas fluorescens* não foram observadas diferenças significativas. Os resultados para as plantas obtidos no presente experimento em função da interação entre estas espécies de rizobactérias diferiram dos observados por Aponte et al. (2017) que verificaram efeito combinado de *Pseudomonas fluorescens* e *Azospirillum* sp. no aumento das massas secas da parte aérea, raiz e total da alface sendo este atribuído à fixação biológica do nitrogênio, solubilização de fósforo e síntese de AIA por estes microrganismos.

Não se verificou efeito significativo ( $p > 0,05$ ) das rizobactérias para NFT, NFC, MFPAC, MFPAT, MSR e MST (Tabela 3; APÊNDICES D e F). Resultado semelhante para o número de folhas foi obtido por Santos et al. (2019) ao observarem que *Pseudomonas fluorescens* também não produziu resposta diferenciada quando comparada à não aplicação desta. Da mesma forma, Souza et al. (2018) não obtiveram efeitos significativos resultantes da aplicação isolada de *Azospirillum brasilense* no incremento da massa fresca da parte aérea e no número de folhas em alface crespa.

Os resultados diversos e, algumas vezes até contraditórios, entre vários trabalhos com aplicação de rizobactérias em espécies vegetais indicam que, embora a expectativa com a utilização das mesmas seja a de que possam contribuir para promover respostas positivas e significativas para as plantas estas nem sempre atuarão neste sentido indicando, portanto, que seus mecanismos de ação não são previsíveis, mas sim fortemente influenciados por fatores bióticos e abióticos de cada ambiente de cultivo.

Tabela 3 - Comparação por contrastes ortogonais entre a aplicação ou não das rizobactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no substrato comercial, sobre o número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massas frescas da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT), massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT), da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera<sup>(1,2)</sup>

Variáveis	Rizobactérias		CV (%)
	Não aplicadas	Aplicadas	
NFT (unidade)	25,13a	25,33a	6,69
NFC (unidade)	22,88a	22,71a	10,80
MFPAC (g)	160,52a	159,06a	23,34
MFPAT (g)	164,08a	165,50a	16,03
MSPAC (g)	8,75b	11,46a	13,53
MSPAT (g)	8,96b	11,91a	13,37
MSR (g)	0,93a	0,98a	14,12
MST (g)	9,89b	12,89a	17,33

Notas: 1 - Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F;  
2 - Análise de variância no APÊNDICES H e I.

Pelo desdobramento dos graus de liberdade em contrastes ortogonais, comparando-se os tratamentos considerando a aplicação ou não das rizobactérias *Azospirillum brasilense* e/ou *Pseudomonas fluorescens*, verificou-se incrementos de 31% para MSPAC, 33% para MSPAT e de 30% para a MST da alface cultivar Vera quando as rizobactérias foram aplicadas ao substrato comercial (Tabela 3). A presença de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* no substrato de cultivo utilizado neste experimento possivelmente contribuiu para ampliar o aproveitamento dos nutrientes, tendo em vista que quando os microrganismos não

foram aplicados o incremento das massas secas não foi observado. Assim, mesmo as condições de fertilidade estando adequadas para o cultivo da alface, *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* contribuíram para melhorar a qualidade do substrato comercial, indicando que a produção benéficos para as plantas por estas RPCPs pode estar correlacionada à condição de fertilidade dos substratos.

#### 4.2 EXPERIMENTO 2

Não foram observados, mediante análise do arranjo fatorial, efeitos isolados ou combinados de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* aplicadas ao solo para nenhuma das variáveis avaliadas (APÊNDICES J, K e L). Confirmou-se ainda, por contrastes ortogonais, que a adição destas rizobactérias ao solo não produziram respostas diferenciadas para as plantas, uma vez que entre os tratamentos as médias obtidas para NFT, NFC, MFPAC, MFPAT, MSPAC, MSPAT e MST foram similares (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparação por contrastes ortogonais entre a aplicação ou não das rizobactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no solo, sobre o número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massas frescas da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT), massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera<sup>(1,2)</sup>

Variáveis	Rizobactérias		CV (%)
	Não aplicadas	Aplicadas	
NFT (unidade)	18,75a	17,71a	9,53
NFC (unidade)	16,88a	16,08a	9,87
MFPAC (g)	80,15a	71,89a	16,68
MFPAT (g)	82,75a	74,59a	18,22
MSPAC (g)	7,25a	6,40a	22,54
MSPAT (g)	7,63a	6,67a	22,38
MST (g)	8,34a	7,38a	21,71

Notas: 1 - Médias seguidas por mesma letra na linha não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F;  
2 - Análise de variância no APÊNDICE M e N.

Mesmo havendo a expectativa que ambas as rizobactérias pudessem, de forma isolada ou combinada, estimular o crescimento e produção da alface não foi possível

confirmar esta situação (Tabela 4). Portanto, embora em outras pesquisas tenham-se verificado efeitos positivos derivados do uso destas espécies microbianas para a alface (APONTE et al., 2017; FLORENTINO et al., 2017; ROSTAMINIA et al., 2020) é importante destacar que nem sempre estes serão obtidos ou constantes mesmo em trabalhos realizados sob condições similares, uma vez que há inúmeros fatores relacionados às interações biológicas tanto entre as rizobactérias quanto destas com as plantas, que interferem no resultado final em termos de aumento, redução ou não interferência no crescimento e produção da alface. Freitas et al. (2003), por exemplo, verificaram que *Pseudomonas* spp. do grupo fluorescente não promoveu as mesmas respostas de crescimento para alface quando aplicadas em diferentes substratos sob condições de fertilidade distintas.

Embora o solo utilizado apresentasse características de fertilidade que possibilitaram o cultivo das plantas, o teor moderado de matéria orgânica observado no mesmo (Tabela 1) pode não ter sido suficiente para permitir a adequada sobrevivência das rizobactérias introduzidas induzindo, assim, competição entre *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* no ambiente edáfico pelos sítios radiculares da alface restringindo, assim, a possibilidade de benefícios às plantas derivados da aplicação de ambas as espécies microbianas. Neste aspecto, para que sejam observadas respostas positivas para as plantas provenientes da aplicação de rizobactérias é essencial que estas tenham possibilidade plena de se estabelecer e multiplicar no ambiente edáfico e rizosférico não havendo, portanto, qualquer limitação nas condições que lhe são favoráveis. Além disso, no que se refere às interações entre espécies vegetais e microbianas não basta que a condição edáfica e ambiental seja adequada apenas a uma ou outra devendo necessariamente ser para todas estas.

Entre as possíveis causas normalmente apontadas nos estudos em que não são observados efeitos das rizobactérias ou estes são negativos incluem-se as condições ambientais, características físicas, químicas e biológicas do substrato de cultivo e o método de aplicação dos microrganismos que, assim, restringem a possibilidade de constatação de benefícios às plantas (CHANWAY et al., 2000; FREITAS et al., 2003; SOTTERO et al., 2006). No presente experimento, a combinação de uma ou mais destas certamente impossibilitou a obtenção de resultados promissores ao crescimento e produção da alface cultivar Vera em função do uso de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* confirmando-se, apenas, a não interferência dos mesmos nas variáveis avaliadas.

## 5 CONCLUSÕES

Em substrato comercial com características similares às do utilizado na presente pesquisa, a aplicação de *Azospirillum brasilense* na ausência de *Pseudomonas fluorescens* contribui para aumentar as massas secas da parte aérea e total da alface cultivar Vera. Resultado similar obtém-se mediante aplicação de *Pseudomonas fluorescens* na ausência de *Azospirillum brasilense*.

Quando aplicada simultaneamente com *Azospirillum brasilense* em substrato comercial, *Pseudomonas fluorescens* reduz as massas secas da alface e *Azospirillum brasilense* não interfere nestas variáveis.

A aplicação isolada ou combinada de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* em solo com características similares ao da presente pesquisa, não interfere no crescimento e produção da alface cultivar Vera.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos experimentos referentes à presente pesquisa, a aplicação em solo e em substrato comercial das rizobactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, resultou em efeito distinto nas variáveis avaliadas em ambos os trabalhos referentes ao crescimento e produção da alface cultivar Vera. Esta situação indica a variabilidade de resultados que pode haver ao alterar-se apenas o substrato de cultivo mantendo-se, portanto, constante todas as demais condições como temperatura e umidade relativa do ar, práticas de manejo das plantas e fontes e doses das rizobactérias. Neste aspecto, considerando que há diversas condições ambientais, várias espécies vegetais e microbianas e inúmeros tipos de solo e de substratos, sejam estes últimos comerciais ou preparados na propriedade, têm-se múltiplas possibilidades de combinações relativamente complexas entre componentes físicos, químicos e biológicos que interagem entre si e, definem, em última instância, se o efeito de uma certa espécie de rizobactéria será positivo, negativo ou neutro no crescimento e produção de determinada espécie vegetal.

O fato de ter-se aplicado, em ambos os trabalhos com alface, rizobactérias provenientes de inoculantes comerciais destinados comumente a fabáceas e poáceas, contribui para ampliar e diversificar as possibilidades de uso destes produtos biológicos atualmente disponíveis e comercializados mais em função de soja e milho. Além disso, estimula a realização de mais pesquisas, seja com cultivares de alface distintas da utilizada neste trabalho como, também, com outras espécies vegetais. É importante destacar que, além dos possíveis benefícios no crescimento e produção vegetal, a utilização de rizobactérias representa normalmente baixo custo econômico, ambiental e operacional.

A rizosfera é um ambiente que apresenta inúmeros microrganismos de diferentes espécies interligados em complexos sistemas ecológicos, na qual alterações antrópicas como a introdução de populações microbianas antes inexistentes ou em baixo número de indivíduos, podem interferir, de forma positiva ou negativa, no crescimento vegetal. Portanto, compete aos pesquisadores da área de biologia do solo identificar espécies microbianas isoladas e combinadas cuja introdução ou aumento populacional possam resultar em benefícios econômicos, ambientais e produtivos.



## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, T. B. F.; PRADO, R. M.; CORREIRA, M. A. R.; PUGA, A. P.; BARBOSA, J. C. Avaliação nutricional da alface cultivada em soluções nutritivas suprimidas de macronutrientes. **Biotemas**, Florianópolis, v. 24, n. 2, p. 27-36, jun. 2011.
- APONTE, A.; CASTILHO, O.; CABRERAS, G.; PERNIA, M.; HERNANDEZ, Y. Rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum* sp. association enhances growth of *Lactuca sativa* L. under tropical conditions. **Journal of Central European Agriculture**, Zagreb, v. 18, n. 2, p. 424-440, June 2017.
- ASHRAF, M. A.; ASIF, M.; ZAHEER, A.; MALIK, A.; ALI, Q.; RASOOL, M. Plant growth promoting rhizobacteria and sustainable agriculture: a review. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 7, n. 9, p. 704-709, Feb. 2013.
- BARASSI, C. A.; AYRAULT, G.; CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; SOBRERO, M. T. Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.109, n. 1, p. 8-14, Feb. 2006.
- BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. de. How the plant growth promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth: a critical assessment. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 108, n. 1, p. 77-136, Sept. 2010.
- BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 28, n. 4, p. 1327-1350, Apr. 2012.
- BENINNI, Y. E. R.; HIDEAKI, W. T.; CARMEN, V. J. N. Concentração e acúmulo de macronutrientes em alface cultivada em Sistema hidropônico e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 273-282, jul./set. 2005.
- BURDMAN, S.; OKON, Y.; JURKEVITCH, E. Surface characteristics of *Azospirillum brasilense* in relation to cell aggregation and attachment to plant roots. **Critical Reviews in Microbiology**, London, v. 26, n. 2, p. 91-110, Apr./June 2000.
- CARDOSO, A. F.; RÊGO, M. C. F.; BATISTA, T. F. V.; SILVA, G. B da. Physiology and nutritional contents of lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants induced by *Pseudomonas fluorescens*. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 5, n. 9, p. 5538-15556, set. 2019.
- CARELI, R. T. **Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. na cadeia produtiva de alface (*Lactuca sativa* L.), sua captura e retenção por biofilmes de *Pseudomonas fluorescens* e seu controle por surfactante**. 2009, 154 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.
- CARVALHO, G. A. D. de; PALMA, P. L. B.; SILVA, E. D. S. da; MELHADO K. Y. C.; SOUSA S. L. Q. de; RAICES, R. S. L. Cádmiu em hortaliças: comparando agricultura orgânica e convencional. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 35-60, jan. 2020.

CASTILLO, P.; MOLINA, R.; ANDRADE, A.; VIGLIOCCO, A.; ALEMANO, S.; CASSÁN, F. D. Phytohormones and other plant growth regulators produced by PGPR: the genus *Azospirillum*. In: OKON, Y.; CREUS C. M.; CASSÁN, F. D. **Handbook for *Azospirillum*: technical issues and protocols**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 115-138.

CHANWAY, C. P.; SHISHIDO, M.; NAIRN, J.; JUNGWIRTH, S.; MARKHAM, J.; XIAO, G.; HOLL; F. B. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 133, n. 1/2, p. 81-88, Aug. 2000.

CIPRIANO, M. A. P.; LUPATINI, M.; SANTOS, L. L.; SILVA, M. J. da; ROESCH, L. F. W.; DESTÉFANO, S. A. L.; FREITAS, S. S.; KURAMAE, E. E. Lettuce and rhizosphere microbiome responses to growth promoting *Pseudomonas* species under field conditions. **FEMS Microbiology Ecology**, Cambridge, v. 92, n. 12, p. 1-13, Dec. 2016

COCHRAN, W. G. Distribution of the largest of a set of estimated variances as a fraction of their total. **Annals of Human Genetics**, London, v. 11, n. 1, p. 47-52, Jan. 1941.

COSTA JÚNIOR, A. D.; LEMOS, S. A. Cultura das folhosas. In: MARTINEZ, L. P. G.; TAVARES, S. A. **Boas práticas agrícolas na produção de hortaliças folhosas**. Brasília: Emater-DF, 2016. p. 27-41.

COUTO, A. L.; MOREIRA, D. A.; ARAUJO JUNIOR, P. V. de. Produção de mudas de cultivares de alface utilizando espumas fenólicas em Altamira, Pará. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 10, n. 10, p. 201-207, jan./mar, 2015.

DEL AMOR, F. M.; SERRANO-MARTÍNEZ, A.; FORTEA, M. I.; LEGUA, P.; NÚÑEZ-DELICADO, E. The effect of plant-associative bacteria (*Azospirillum* and *Pantoea*) on the fruit quality of sweet pepper under limited nitrogen supply. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 117, n. 3, p. 191-196, July 2008.

DIAZ, P. A. E. **Bacillus spp. como promotores de crescimento na cultura do algodão**. 2018. 46 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2018.

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

FERREIRA, R. L. F.; ALVES, A. S. S. C.; ARAÚJO NETO, S. E.; KUSDRA, J. F.; REZENDE, M. I. F. L. Produção orgânica de alface em diferentes épocas de cultivo e sistemas de preparo e cobertura de solo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 1017-1023, jul./ago. 2014.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. rev. e ampl. Viçosa, MG: Editora UFV, 2013. 421 p.

FLORENTINO, L. A.; SILVA, A. B.; LENDGRAF, P. R. C.; SOUSA, F. R. C. Inoculação de bactérias produtoras de ácido 3-indol acético em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, Tunja, v. 11, n. 1, p. 89-96, jun. 2017.

FLORES, P.; FENOLL, J.; HELLIN, P.; APARICIO-TEJO, P. Isotopic evidence of significant assimilation of atmospheric-derived nitrogen fixed by *Azospirillum brasilense* co-inoculated with phosphate-solubilising *Pantoea dispersa* in pepper seedling. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 335-340, Nov. 2010.

FREITAS, G. A. de; SILVA, R. R. da; BARROS, H. B.; MELO, A. V. de; ABRAHÃO, W. A. P. Produção de mudas de alface em função de diferentes combinações de substratos. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 1, p. 159-166, jan./mar. 2013.

FREITAS, S. S.; MELLO, A. M. T.; DONZELI, V. P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, n. 1, p. 61-70, jan. 2003.

FREITAS, S. S.; VILDOSO, C. I. A. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 28, n. 6, p. 987-994, nov./dez. 2004.

FURLANI, P. R. **Cultivo de alface pela técnica de hidroponia - NFT**. Campinas: Instituto Agronômico, 1995. 18 p. (Documentos, 55).

FURLANI, P. R.; SILVEIRA, L. C. P.; BOLONHEZI, D.; FAQUIM, V. **Cultivo hidropônico de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1999. 52 p. (Boletim técnico, 180).

GARBI, M.; CARLETTI, S.; SILLON, C.; VITA, F. Respuesta de plántulas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* L.) a la inoculación con una formulación compuesta por tres cepas de *Azospirillum brasilense*. **Horticultura Argentina**, Buenos Aires, v. 35, n. 86, p. 20-28, ene./abr. 2016.

GROSS, H.; LOPER, J. E. Genomics of secondary metabolite production by *Pseudomonas* spp. **Natural Product Reports**, London, v. 26, n. 11, p. 1408-1446, June 2009.

GRUBBS, F. E. Procedures for detecting outlying observations in samples. **Technometrics**, Princeton, v. 11, n. 1, p. 1-21, Feb. 1969.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. **Tipos de alface cultivados no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. 7 p. (Comunicado técnico, 75).

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Documentos, 325).

HUSSEIN, K. A.; JOO, J. H. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Improved Salinity Tolerance of *Lactuca sativa* and *Raphanus sativus*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 28, n. 6, p. 938-945, Apr. 2018.

KANO, C.; CARDOSO, A. I. I.; VILLAS BÔAS, R. L. Acúmulo de nutrientes pela alface destinada a produção de sementes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 70-77, jan./mar. 2011.

KANO, C.; CARDOSO, A. I. I.; VILAS BÔAS, R. L. Influência de doses de potássio nos teores de macronutrientes em plantas e sementes de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 287-291, jul./set. 2010.

KHOSRAVI, A.; ZAREI, M.; RONAGHI, A. Effect of PGPR, Phosphate sources and vermicompost on growth and nutrients uptake by lettuce in a calcareous soil. **Journal of Plant Nutrition**, Shiraz, v.41, n. 1, p. 80-89. Jan. 2018.

KOHLER, J.; HERNÁNDEZ, J. A.; CARAVACA, F.; ROLDÁN, A. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 65, n. 2/3, p. 245-252, Mar. 2009.

KOZUSNY-ANDREANI, D. I.; ANDREANI JUNIOR, R. Colonização rizosférica e promoção do crescimento por rizóbios em mudas de alface. **Nucleus**, Ituverava, v. 11, n. 2, p. 443-452, out. 2014.

KRUSKAL, W. H.; WALLIS, W. A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of the American Statistical Association**, Alexandria, v. 47, n. 260, p. 583- 621, Dec. 1952.

LAMSAL, K.; KIM, S. W.; KIM, Y. S.; LEE, Y. S. Biocontrol of late blight and plant growth promotion in tomato using rhizobacterial isolates. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 23, n. 7, p. 897-904, July 2013.

LANA, M. do C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 59, n. 3, p. 399-405, maio/jun. 2012.

LANA, R. M. Q.; ZANÃO JÚNIOR, L. A.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, J. C. da. Produção da alface em função do uso de diferentes fontes de fósforo em solo de Cerrado. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 525-528, jul./set. 2004.

LÉDO, F. J. S.; SOUSA, J. A.; SILVA, M. R. Desempenho de cultivares de alface no Estado do Acre. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 225-228, nov. 2000.

LIMA, A. A.; VENTUROSO, L. dos R. V.; SILVA, B. A. Z.; GOMES, A. F.; SCHIMIDT, O. Eficiência da inoculação de *Azospirillum brasilense* associado com enraizador no crescimento e na produção de alface. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 12, n. 2, p. 233-240. abr./jun. 2017.

LOPES, M. C.; FREIER, M.; MATTE, J. D.; GÄRTNER, M.; FRANZENER, G.; CASIMIRO, E. L. N.; SEVIGNANI, A. Acúmulo de nutrientes por cultivares de alface em cultivo hidropônico no inverno. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 211-215, abr./jun. 2003.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 631 p.

MALDONADE, I. R.; MATTOS, L. M.; MORETTI, C. L. **Manual de boas práticas agrícolas na produção de alface**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2014. 44 p. (Documentos, 142).

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa DAS n. 17. Aprova os métodos analíticos oficiais para análise de substratos e condicionadores de solo. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, ano 144, n. 99, p. 8-9, 24 maio, 2007.

MEIRELLES, A. F. M.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Produtividade da alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta à aplicação de ácidos húmicos e bactérias diazotróficas, em condições de campo. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 64, n. 5, p. 553-556, set./out. 2017.

MELO, I. S. de. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. *In*: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. (ed.). **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1998. p. 86-116.

MENEZES, A. P. M. **Crescimento e produção de alface em resposta a rizobactérias e nitrogênio**. 2019. 69 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, 2019.

MOREIRA, F. M. de S.; SILVA, K. da; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. de. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Teresina, v. 1, n. 2, p. 74-99, jul./dez. 2010.

NICK, C.; BORÉM, A. **Melhoramento de hortaliças**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2016. 464 p.

NOGUEIRA, M. C. S. Orthogonal contrasts: definitions and concepts. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 1, p. 118-124, jan./fev. 2004.

OLIVEIRA, L. B. de; ACCIOLY, A. M. A.; SANTOS, C. L. R. dos; FLORES, R. A.; BARBOSA, F. S. Características químicas do solo e produção de biomassa de alface adubada com compostos orgânicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 2, p. 157-164, fev. 2014.

PAULSEN, I. T.; PRESS, C. M.; RAVEL, J.; KOBAYASHI, D. Y.; MYERS, G. S. A.; MAVRODID, V.; DEBOY, R. T.; SESHADRI, R.; REN, Q.; MADUPU, R.; DODSON, R. J.; DURKIN, A. S.; BRINKAC, L. M.; DAUGHERTY, S. C.; SULLIVAN, S. A.; ROISOVITZ, M. J.; GWINN, M. L.; ZHOU, L.; SCHNEIDER, D. J.; CARTINHO, S. W.; NELSON, W. C.; WEIDMAN, J.; WATKINS, K.; TRAN, K.; KHOURI, H.; PIERSON, E. A.; PIERSON, L. S.; THOMASHOW, L. S.; LOPER, J. E. Complete genome sequence of the plant commensal *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. **Nature Biotechnology**, New York, v. 23, n. 7, p. 873-878, July 2005.

PERRIG, D.; BOIERO, M. L.; MASCIARELLI, O. A.; PENNA, C.; RUIZ, O. A.; CASSÁN, F. D.; LUNA, M. V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 75, p. 1143-1150, July 2007.

RAAIJMAKERS, J. M.; VLAMI, M.; SOUZA, J. T. de. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 81, n. 1/4, p. 537-547, Oct./Dec. 2002.

REIS, N. V. B. dos. **Construção de estufas para produção de hortaliças nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005. 16 p. (Circular técnica, 38).

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. de M. de; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. *In*: FERNANDES, M. S. (ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 153-174.

RIBAUDO, C. M.; KRUMPHOLZ, E. M.; CASSÁN, F. D.; BOTTINI, R.; CANTORE, M. L.; CURÁ, J. A. *Azospirillum* sp. promotes root hair development in tomato plants through a mechanism that involves ethylene. **Journal of Plant Growth Regulation**, Verona, v. 25, n. 2, p. 175-185, June 2006.

RODRIGUES, P. Cooperação prevê avanços tecnológicos no cultivo protegido de hortaliças. **Hortaliças em Revista**, Brasília, v. 4, n. 17, p. 7-9, jul./set. 2015.

ROMERO, A. M.; VEGA, D.; CORREA, O. S. *Azospirillum brasilense* mitigates water stress imposed by a vascular disease by increasing xylem vessel area and stem hydraulic conductivity in tomato. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 82, n. 10, p. 38-43, Oct. 2014.

ROSTAMINIA, M.; HABIBI, D.; SHAHBZI, S.; SANI, B.; PAZOKI, A. Effect of three commercial bio-fertilizers prepared with *Pseudomonas* on yield and morphophysiological traits of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Iran Agricultural Research**, Shiraz, v. 39, n. 2, p. 1-9, Mar. 2020.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacecultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p.187-194, abr./jun. 2012.

SANTOS, A. H. S. dos; AZERÊDO, G. A.; MONTEIRO, S. S.; NERO, J. D. A. P. de; OLIVEIRA, F. L. N. de; MOREIRA, S. Produtividade da alface (*Lactuca sativa* L.) adubada com biofertilizante de torta de filtro mais bactéria promotora do crescimento em plantas. *In*: CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEIO AMBIENTE E SOCIEDADE, 1., 2019. **Resumos [...]** Campina Grande: Realize, 2019.

SANTOYO, G.; VALENCIA-CANTERO, E.; OROZCO-MOSQUEDA, M. del C.; PEÑA-CABRIALES, J. J.; FARIÁS-RODRÍGEZ, R. Papel de los sideróforos en la actividad antagónica de *Pseudomonas fluorescens* ZUM80 hacia hongos fitopatógenos. **Terra Latinoamericana**, Chapingo, v. 28, n. 1, p. 53-60, ene./mar. 2010.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, Boston, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, Dec. 1965.

SILVA, F. C. da. **Manual de análises químicas do solo, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. Ames: Iowa State University Press, 1948. 503 p.

- SOMEYA, N.; TSUCHIYA, K.; SUGISAWA, S.; NOGUCHI, M. T.; YOSHIDA, T. Growth promotion of lettuce (*Lactuca sativa* L.) by a rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* strain LRB3W1 under iron-limiting condition. **Environmental Control in Biology**, Fukuoka, v. 46, n. 2, p. 139-146, May 2008.
- SOUZA, P. C. da S.; TEIXEIRA, D. de B.; GUALBERTO, R.; FRANCO, B. P.; ANGELIS, L. A. de. Uso de biofertilizantes e ureia na cultura da alface crespa. *In*: CONGRESSO NACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18., 2018, Marília. **Resumos [...]** Marília: SEMESP, 2018.
- SOUZA, R. de; 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, out./dez. 2015.
- SOTTERO, A. N.; FREITAS, S. dos S.; MELO, T. de; TRANI, P. E. Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de Ciência Do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 2, p. 225-234, mar. 2006.
- SUINAGA, F. A.; BOITEUX, L. S.; CABRAL, C. S.; RODRIGUES, C. da S. **Métodos de avaliação do florescimento precoce e identificação de fontes de tolerância ao calor em cultivares de alface do grupo varietal 'crespa'**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. 4 p. (Comunicado técnico, 89).
- TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 964 p.
- TRANI, P. E.; NOVO, M. C. S. S.; CAVALLARO JÚNIOR, M. L.; TELLES, L. M. G. Produção de mudas de alface em bandejas e substratos comerciais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 290-294, abr./jun. 2004.
- VAZ, J. C.; TAVARES, A. T.; HAESBAERT, F. M.; REYES, I. D. P.; ROSA, P. H. L.; FERREIRA, T. A.; NASCIMENTO, I. R. Adubação NPK como promotor de crescimento em alface. **Revista Agri-Environmental Sciences**, Palmas, v. 5, n. 1, p. 1-9, jan./dez. 2019.
- YURI, J. E.; MOTA, J. H.; RESENDE, G. M. de; SOUZA, R. J. Nutrição e adubação da cultura da alface. *In*: PRADO, R. de M; CECÍLIO FILHO, A. B. **Nutrição e adubação da cultura de hortaliças**. Jaboticabal: FCAV/CAPEL, 2016. p. 559-577.
- ZOPE, V. P.; ENSHASY, H. A. E.; SAYYED, R. Z. Plant growth-promoting rhizobacteria: an overview in agricultural perspectives. *In*: SAYYED, R. Z. (ed.). **Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable stress management, microorganisms for sustainability**. Singapore: Springer Nature, 2019. p. 345-361.

## APÉNDICE



APÊNDICE A – Normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste de Cochran) das variáveis número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massa fresca da parte aérea total (MFPAT) e parte aérea comercial (MFPAC), massa seca da parte aérea total (MSPAT), da parte aérea comercial (MSPAC), da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1<sup>(1)</sup>

Variáveis	Transformação	Shapiro-Wilk		Cochran	
		$W_c$	H0	$C_c$	H0
NFT	-	0,938	NR	0,348	NR
NFC	-	0,928	R	0,362	NR
NFC	$\sqrt{x^3}$	0,933	NR	0,357	NR
MFPAC	-	0,925	R	0,369	NR
MFPAC	$\sqrt{x^3}$	0,934	NR	0,338	NR
MFPAT	-	0,937	NR	0,396	NR
MSPAC	-	0,927	R	0,398	NR
MSPAC	$(x+10)^2$	0,943	NR	0,381	NR
MSPAT	-	0,911	R	0,430	NR
MSPAT	$(x+10)^2$	0,931	NR	0,407	NR
MSR	-	0,938	NR	0,297	NR
MST	-	0,914	R	0,431	NR
MST	$(x+5)^2$	0,933	NR	0,400	NR

Nota: 1 - NR: não rejeita-se a hipótese da nulidade; R: rejeita-se a hipótese da nulidade.

APÊNDICE B – Normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste de Cochran) das variáveis número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massa fresca da parte aérea total (MFPAT) e parte aérea comercial (MFPAC), massa seca da parte aérea total (MSPAT), da parte aérea comercial (MSPAC), da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2<sup>(1)</sup>

Variáveis	Transformação	Shapiro-Wilk		Cochran	
		W <sub>c</sub>	H0	C <sub>c</sub>	H0
NFT	-	0,946	NR	0,522	NR
NFC	-	0,959	NR	0,463	NR
MFPAC	-	0,965	NR	0,527	NR
MFPAT	-	0,966	NR	0,533	NR
MSPAC	-	0,939	NR	0,495	NR
MSPAT	-	0,941	NR	0,500	NR
MSR <sup>(2)</sup>	-	0,938	NR	0,629	R
MST	-	0,937	NR	0,515	NR

Notas: 1 - NR: não rejeita-se a hipótese da nulidade; R: rejeita-se a hipótese da nulidade;

2 - Como não foi possível obter uma transformação para atender a homogeneidade das variâncias desta variável aplicou-se, neste caso, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis não verificando-se, porém, efeito significativo dos tratamentos sobre a mesma.

APÊNDICE C – Análise de variância das variáveis número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1<sup>(1,2)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios	
		NFT	NFC
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	5,2813 <sup>ns</sup>	150,9453 <sup>ns</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (Pf)	1	0,0313 <sup>ns</sup>	56,9778 <sup>ns</sup>
Ab x Pf	1	9,0313 <sup>ns</sup>	232,8482 <sup>ns</sup>
Erro	28	2,8616	137,9172
Total	31	-	-
CV (%)		6,69	10,80

Notas: 1 - <sup>ns</sup> não significativo ( $p > 0,05$ );

2 - Os dados da variável NFC foram transformados em  $\sqrt{x^3}$  para atender a normalidade dos erros e/ou homogeneidade das variâncias.

APÊNDICE D – Análise de variância das variáveis massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1<sup>(1,2)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios	
		MFPAC	MFPAT
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	659793,1783 <sup>ns</sup>	2246,1753 <sup>ns</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (Pf)	1	47559,1351 <sup>ns</sup>	294,6378 <sup>ns</sup>
Ab x Pf	1	339061,7139 <sup>ns</sup>	1315,8450 <sup>ns</sup>
Erro	28	225302,1550	700,5791
Total	31	-	-
CV (%)		23,34	16,03

Notas: 1 - <sup>ns</sup> não significativo ( $p > 0,05$ );

2 - Os dados da variável MFPAC foram transformados em  $\sqrt{x^3}$  para atender a normalidade dos erros e/ou homogeneidade das variâncias.

APÊNDICE E – Análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC) e da parte aérea total (MSPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1<sup>(1,2)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios	
		MSPAC	MSPAT
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	2662,1280 <sup>ns</sup>	2875,2840 <sup>ns</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (Pf)	1	35561,1113 <sup>**</sup>	44185,4696 <sup>**</sup>
Ab x Pf	1	54132,8382 <sup>**</sup>	67184,0332 <sup>**</sup>
Erro	28	3472,4102	3654,7120
Total	31	-	-
CV (%)		13,53	13,37

Notas: 1 - <sup>ns</sup> não significativo ( $p > 0,05$ ); <sup>\*\*</sup> significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ );

2 - Os dados das variáveis MSPAC e MSPAT foram transformados em  $(x+10)^2$  para atender a normalidade dos erros e/ou homogeneidade das variâncias.

APÊNDICE F – Análise de variância das variáveis massa seca da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1<sup>(1;2)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios	
		MSR	MST
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	0,0013 <sup>ns</sup>	1726,2219 <sup>ns</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (Pf)	1	0,0003 <sup>ns</sup>	29225,7620 <sup>**</sup>
Ab x Pf	1	0,0450 <sup>ns</sup>	47062,3530 <sup>**</sup>
Erro	28	0,0186	2668,1446
Total	31	-	-
CV (%)		14,12	17,33

Notas: 1 - <sup>ns</sup> não significativo ( $p > 0,05$ ); \*\* significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ );

2 - Os dados da variável MST foram transformados em  $(x+5)^2$  para atender a normalidade dos erros e/ou homogeneidade das variâncias.

APÊNDICE G – Desdobramento da análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera, avaliadas no experimento 1, considerando a interação entre *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		MSPAC	MSPAT	MST
Ab dt [Pf(0)]	1	40402,0050 <sup>**</sup>	48928,3340 <sup>**</sup>	33407,6145 <sup>**</sup>
Ab dt [Pf(1)]	1	16392,9612 <sup>*</sup>	21130,9832 <sup>*</sup>	15380,9604 <sup>*</sup>
Pf dt [Ab(0)]	1	88722,0689 <sup>**</sup>	110169,2268 <sup>**</sup>	75230,8898 <sup>**</sup>
Pf dt (Ab(1))	1	971,8806 <sup>ns</sup>	1200,2760 <sup>ns</sup>	1057,2252 <sup>ns</sup>
Erro	28	3472,4102	3654,7120	2668,1446

Notas: 1 - Ab: *Azospirillum brasilense*; Pf: *Pseudomonas fluorescens*; dt: dentro;

2 - 0: ausência do fator; 1: presença do fator;

3 - <sup>ns</sup> não significativo ( $p > 0,05$ ); \* significativo a 5% ( $0,01 < p \leq 0,05$ ); \*\* significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ ).

APÊNDICE H – Análise de variância do contraste ortogonal referente à comparação entre a aplicação ou não de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no substrato comercial, sobre o número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massas frescas da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1 <sup>(1)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		NFT	NFC	MFPAC	MFPAT
Contraste	1	0,2604 <sup>ns</sup>	6,9768 <sup>ns</sup>	47,2502 <sup>ns</sup>	12,1838 <sup>ns</sup>
Erro	28	2,8616	137,9172	225302,1550	700,5791

Nota: 1 - <sup>ns</sup> não significativo (p>0,05).

APÊNDICE I – Análise de variância do contraste ortogonal referente à comparação entre a aplicação ou não de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no substrato comercial, sobre as massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT), da raiz (MSR) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 1 <sup>(1)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		MSPAC	MSPAT	MSR	MST
Contraste	1	74524,9433**	91184,6684**	0,0126 <sup>ns</sup>	61473,4365**
Erro	28	3472,4102	3654,7119	0,0185	2668,1446

Nota: 1 - <sup>ns</sup> não significativo (p>0,05); \*\* significativo a 1% (p≤0,01).

APÊNDICE J – Análise de variância das variáveis número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2<sup>(1)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios	
		NFT	NFC
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	0,2813 <sup>ns</sup>	0,7813 <sup>ns</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (Pf)	1	1,5313 <sup>ns</sup>	0,7813 <sup>ns</sup>
Ab x Pf	1	7,0313 <sup>ns</sup>	2,5313 <sup>ns</sup>
Erro	28	2,9330	2,5848
Total	31	-	-
CV (%)		9,53	9,87

Nota: 1 - <sup>ns</sup> não significativo (p>0,05).

APÊNDICE K – Análise de variância das variáveis massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2<sup>(1)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios	
		MFPAC	MFPAT
<i>Azospirillum brasilense (Ab)</i>	1	269,4101 <sup>ns</sup>	229,7832 <sup>ns</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens (Pf)</i>	1	140,4907 <sup>ns</sup>	164,9382 <sup>ns</sup>
<i>Ab x Pf</i>	1	46,2001 <sup>ns</sup>	43,8282 <sup>ns</sup>
Erro	28	190,8047	194,8884
Total	31	-	-
CV (%)		18,68	18,22

Nota: 1 - <sup>ns</sup> não significativo (p>0,05).

APÊNDICE L – Análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2<sup>(1)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		MSPAC	MSPAT	MST
<i>Azospirillum brasilense (Ab)</i>	1	2,5032 <sup>ns</sup>	2,5032 <sup>ns</sup>	2,7028 <sup>ns</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens (Pf)</i>	1	0,9282 <sup>ns</sup>	1,3001 <sup>ns</sup>	1,2800 <sup>ns</sup>
<i>Ab x Pf</i>	1	1,1438 <sup>ns</sup>	1,7345 <sup>ns</sup>	1,6653 <sup>ns</sup>
Erro	28	2,2199	2,3918	2,7370
Total	31	-	-	-
CV (%)		22,54	22,38	21,71

Nota: 1 - <sup>ns</sup> não significativo (p>0,05).

APÊNDICE M – Análise de variância do contraste ortogonal referente à comparação entre a aplicação ou não de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no solo, sobre o número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), massas frescas da parte aérea comercial (MFPAC) e da parte aérea total (MFPAT) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2 <sup>(1)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		NFT	NFC	MFPAC	MFPAT
Contraste	1	6,5104 <sup>ns</sup>	3,7604 <sup>ns</sup>	409,8200 <sup>ns</sup>	399,5544 <sup>ns</sup>
Erro	28	2,9330	2,5848	190,8047	194,8884

Nota: 1 - <sup>ns</sup> não significativo (p>0,05).

APÊNDICE N – Análise de variância do contraste ortogonal referente à comparação entre a aplicação ou não de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou combinada no solo, sobre as massas secas da parte aérea comercial (MSPAC), da parte aérea total (MSPAT) e total (MST) da alface cultivar Vera avaliadas no experimento 2 <sup>(1)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		MSPAC	MSPAT	MST
Contraste	1	4,3563 <sup>ns</sup>	5,4388 <sup>ns</sup>	1,8827 <sup>ns</sup>
Erro	28	2,2199	2,3918	2,7370

Nota: 1 - <sup>ns</sup> não significativo (p>0,05).