


ANA PAULA MORAIS MENEZES



**CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ALFACE EM RESPOSTA  
A RIZOBACTÉRIAS E NITROGÊNIO**

RIO BRANCO - AC

2019

ANA PAULA MORAIS MENEZES

**CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ALFACE EM RESPOSTA  
A RIZOBACTÉRIAS E NITROGÊNIO**

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

Orientador: Prof. Dr. Jorge Ferreira Kusdra

RIO BRANCO - AC

2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

---

M543c Menezes Ana Paula Morais, 1985 -  
Crescimento e produção de alface em resposta a rizobactérias e nitrogênio /  
Ana Paula Morais Menezes; orientador: Prof. Dr. Jorge Ferreira Kusdra – 2019.  
69 f. : ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-  
Graduação em Produção Vegetal, Rio Branco, 2019.

Inclui referências bibliográficas e apêndices.

1. *Azospirillum brasilense*. 2. *Bacillus subtilis*. 3. *Bradyrhizobium japonicum*.  
I. Kusdra, Jorge Ferreira (orientador). II. Título.

CDD: 630

**ANA PAULA MORAIS MENEZES**

**CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ALFACE EM RESPOSTA  
A RIZOBACTÉRIAS E NITROGÊNIO**

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

APROVADA em 23 de agosto de 2019.

**BANCA EXAMINADORA**

  
**Dr. Jorge Ferreira Kusdra**

Presidente



**Dra. Regina Lúcia Félix Ferreira**

Membro



**Dra. Andréia de Lima Moreno**

Membro

  
**Dra. Angelita Aparecida Coutinho Picazevicz**

Membro

  
**Dr. Elias Melo de Miranda**

Membro

RIO BRANCO - AC

2019

*Aos meus pais,  
Idelbrando da Rocha Menezes e Auricélia Neves de Moraes e  
ao meu irmão Luiz Felipe Moraes Menezes pelo amor e apoio incondicional*  
***Dedico***

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, por ter me dado a vida e estar sempre presente nela.

Aos meus pais, Idelbrando e Auricelia pelo amor e carinho, e por serem os meus maiores incentivadores nesta caminhada.

Aos meus irmãos e a minha família pelo carinho e apoio.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jorge Ferreira Kusdra pelos ensinamentos e orientação assim como pela paciência, incentivo e pela oportunidade de aprendizagem.

A Universidade Federal do Acre e ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal pela oportunidade de qualificação profissional.

Aos professores, Profa. Me. Sandra Albuquerque Lima Ribeiro, ao Prof. Dr. Sebastião Elviro, a Profa. Regina Lúcia Félix, Me. Guaracy Barbosa dos Santos Maia e Esp. Rui Santana de Menezes por estarem sempre dispostos colaborar, contribuir e viabilizar os recursos materiais necessários para a realização deste trabalho.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

A Joelton Barata pelo auxílio laboratorial.

A Andréia de Lima Moreno pelos ensinamentos, contribuições e pela convivência.

Aos amigos da pós-graduação Aliny Alencar, Josilene Rocha, Geazí Pinto, Thays Lemos, Gustavo Souza, Maria Júlia Rodrigues e David Aquino, gratidão pela amizade.

Aos amigos de profissão e ex alunos Felipe Mascarello e Samuel Cavalcante pelo apoio.

Aos laboratórios Nitro1000 e Farroupilha pela concessão dos produtos biológicos.

A todos aqueles que torceram e contribuíram de forma direta ou indireta para a concretização desta etapa acadêmica.

*"Cada sonho que você deixa para trás,  
é um pedaço do seu futuro que deixa de existir."*

*Steve Jobs*

## RESUMO

A aplicação de rizobactérias em alface, associada ou não ao nitrogênio, pode constituir-se em alternativa promissora para minimizar a utilização de adubos nitrogenados e/ou potencializar seu efeito. Neste sentido, o objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos isolados e/ou combinados de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio no crescimento e produção de alface. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação ambos em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, utilizando-se como planta teste a alface cultivar Vera. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 2 x 2 x 2 x 2 considerando a ausência e presença de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio aplicados no solo para o experimento 1 e em substrato comercial para o experimento 2. Foram avaliadas as massas fresca e seca da parte aérea total e comercial, massa seca da raiz e total da planta, número de folhas total e comercial e nitrogênio acumulado na parte aérea. Observou-se que o *Bacillus subtilis* aplicado tanto no solo quanto em substrato comercial reduziu o crescimento da alface cultivar Vera. O *Azospirillum brasilense* quando aplicado no solo aumentou a massa fresca da parte aérea comercial e o número de folhas comercial. A aplicação combinada de *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada reduziu a massa seca de raiz. Verificou-se também que o *Bradyrhizobium japonicum* aplicado no solo na presença de *Bacillus subtilis* e ausência de nitrogênio reduziu as massas frescas total e comercial e, apenas na ausência de nitrogênio, a massa seca da raiz e o número de folhas total e comercial. A aplicação de nitrogênio no substrato comercial contribuiu para aumentar o crescimento e produção da alface cultivar Vera.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*. *Bacillus subtilis*. *Bradyrhizobium japonicum*. *Lactuca sativa*. RPCPs.



## ABSTRACT

The application of rhizobacteria in lettuce, whether or not associated with nitrogen, is a potential alternative to minimize the use of nitrogen fertilizer and/or enhance its effect. Hence, the objective of this research was to evaluate effect of *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* associated or not with nitrogen fertilization on lettuce growth and yield. Two experiments were carried out in a greenhouse, both in a completely randomized design with five replications, using lettuce 'Vera'. The treatments were arranged in a 2 x 2 x 2 x 2 factorial scheme considering the presence/absence of *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* and nitrogen applied to the soil for experiment 1 and commercial substrate for experiment 2. It was assessed fresh and dry biomass of the total and commercial shoot, root and total dry biomass of the plant, total and commercially usable leaf number and accumulated nitrogen in the shoot. *Bacillus subtilis* applied to both soil and commercial substrate reduced the growth of lettuce 'Vera'. *Azospirillum brasilense* when applied to the soil increased the fresh biomass of commercial shoots and number of commercially usable leaves. The combined application of *Bacillus subtilis* and nitrogen fertilization reduced the root dry biomass. It was also found that *Bradyrhizobium japonicum* applied to the soil in the presence of *Bacillus subtilis* and absence of nitrogen reduced the total and commercially usable fresh biomass. Additionally, the latter treatment in the absence of nitrogen reduced the root dry biomass, total and commercially usable leaf number. The application of nitrogen to the commercial substrate contributed to increase the growth and yield of lettuce 'Vera'.

Keywords: *Azospirillum brasilense*. *Bacillus subtilis*. *Bradyrhizobium japonicum*.  
*Lactuca sativa*. PGPR.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Efeito do <i>Bacillus subtilis</i> nas massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface no experimento 1.....	30
Tabela 2	- Efeito do <i>Azospirillum brasilense</i> na massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC) e no número de folhas comercial (NFC) de alface no experimento 1.....	31
Tabela 3	- Massa seca da raiz (MSR) de alface em função da interação entre <i>Bacillus subtilis</i> e nitrogênio no experimento 1.....	32
Tabela 4	- Massa seca da raiz (MSR), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) de alface em função da interação entre <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e nitrogênio no experimento 1.....	32
Tabela 5	- Massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC) de alface em função da interação entre <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e nitrogênio no experimento 1.....	33
Tabela 6	- Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface em função da interação entre <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e nitrogênio no experimento 1.....	34
Tabela 7	- Massa seca da raiz (MSR) de alface em função da interação entre <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Bradyrhizobium japonicum</i> no experimento 1.....	35
Tabela 8	- Efeito do nitrogênio nas massas frescas e secas da parte aérea total (MFPAT e MSPAT) e comercial (MFPAC e MSPAC), massa seca total da planta (MST), massa seca da raiz (MSR), número de folhas total (NFT) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface no experimento 2.....	36
Tabela 9	- Efeito do <i>Bacillus subtilis</i> nas massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST) e massa seca da raiz (MSR) de alface no experimento 2.....	36
Tabela 10	- Efeito do <i>Bradyrhizobium japonicum</i> na massa seca da raiz (MSR) de alface no experimento 2.....	37
Tabela 11	- Massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC), número de folhas comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface em função da interação entre <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Bradyrhizobium japonicum</i> no experimento 2.....	38
Tabela 12	- Número de folhas comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface em função da interação entre <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e nitrogênio no experimento 2.....	39

## LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - Pressupostos da análise de variância pelos testes de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros) e Cochran (homogeneidade das variâncias) das variáveis massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC), massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST), massa seca da raiz (MSR), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface cultivar Vera no experimento 1.....	55
APÊNDICE B - Pressupostos da análise de variância pelos testes de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros) e Cochran (homogeneidade das variâncias) das variáveis massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC), massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST), massa seca da raiz (MSR), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface cultivar Vera no experimento 2.....	56
APÊNDICE C - Análise de variância das variáveis massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC), e massa seca da parte aérea total (MSPAT) da alface Vera, avaliada no experimento 1....	57
APÊNDICE D - Análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST) e massa seca da raiz (MSR) da alface Vera, avaliada no experimento 1.....	58
APÊNDICE E - Análise de variância das variáveis número de folhas total (NFT), comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) da alface Vera, avaliada no experimento 1.....	59
APÊNDICE F - Análise de variância das variáveis massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC), e massa seca da parte aérea total (MSPAT) da alface Vera, avaliada no experimento 2....	60
APÊNDICE G - Análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST) e massa seca da raiz (MSR) da alface Vera, avaliada no experimento 2.....	61
APÊNDICE H - Análise de variância das variáveis número de folhas total (NFT), comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) da alface Vera, avaliada no experimento 2.....	62
APÊNDICE I - Desdobramento da análise de variância da variável massa fresca da parte aérea total (MFPAT), avaliada no experimento 1, considerando a interação tripla dos fatores <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e nitrogênio.....	63
APÊNDICE J - Desdobramento da análise de variância da variável massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC), avaliada no experimento 1, considerando a interação tripla dos fatores <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e nitrogênio.....	64

APÊNDICE K - Desdobramento da análise de variância da variável massa seca da raiz (MSR), avaliada no experimento 1, considerando a interação dupla dos fatores <i>Bacillus subtilis</i> e nitrogênio.....	64
APÊNDICE L - Desdobramento da análise de variância da variável massa seca da raiz (MSR), avaliada no experimento 1, considerando a interação dupla dos fatores <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e nitrogênio.....	65
APÊNDICE M - Desdobramento da análise de variância da variável massa seca da raiz (MSR), avaliada no experimento 1, considerando a interação tripla dos fatores <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Bradyrhizobium japonicum</i> .....	65
APÊNDICE N - Desdobramento da análise de variância da variável número de folhas total (NFT), avaliada no experimento 1, considerando a interação dupla dos fatores <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e nitrogênio..	66
APÊNDICE O - Desdobramento da análise de variância da variável número de folhas comercial (NFC), avaliada no experimento 1, considerando a interação dupla dos fatores <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e nitrogênio.....	66
APÊNDICE P - Desdobramento da análise de variância da variável nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), avaliada no experimento 1, considerando a interação tripla dos fatores <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e nitrogênio.....	67
APÊNDICE Q - Desdobramento da análise de variância da variável massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC), avaliada no experimento 2, considerando a interação dupla dos fatores <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Bradyrhizobium japonicum</i> .....	67
APÊNDICE R - Desdobramento da análise de variância da variável número de folhas comercial (NFC), avaliada no experimento 2, considerando a interação dupla dos fatores <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Bradyrhizobium japonicum</i> .....	68
APÊNDICE S - Desdobramento da análise de variância da variável número de folhas comercial (NFC), avaliada no experimento 2, considerando a interação tripla dos fatores <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e nitrogênio.....	68
APÊNDICE T - Desdobramento da análise de variância da variável nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), avaliada no experimento 2, considerando a interação dupla dos fatores <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Bradyrhizobium japonicum</i> .....	69
APÊNDICE U - Desdobramento da análise de variância da variável nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), avaliada no experimento 2, considerando a interação tripla dos fatores <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e nitrogênio.....	69

## LISTA DE SIGLAS

<i>Ab</i>	<i>Azospirillum brasilense</i>
<i>Bj</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Bs</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
CV	Coeficiente de variação
Dt	Dentro
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
GL	Graus de liberdade
MFPAC	Massa fresca da parte aérea comercial
MFPAT	Massa fresca da parte aérea total
MSPAC	Massa seca da parte aérea comercial
MSPAT	Massa seca da parte aérea total
MST	Massa seca total da planta
MSR	Massa da raiz
NAPA	Nitrogênio acumulado na parte aérea
NFC	Número de folhas comercial
NFT	Número de folhas total
NMP	Número mais provável
PRNT	Poder Relativo de Neutralização Total
PVC	Policloreto de vinil
QM	Quadrado médio
RPCPs	Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas
UFAC	Universidade Federal do Acre

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1 ALFACE.....	15
2.1.1 Características botânicas e cultivares.....	16
2.1.2 Demanda nutricional.....	17
2.2 NITROGÊNIO.....	18
2.3 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS.....	20
2.3.1 Espécies.....	21
2.3.1.1 <i>Azospirillum brasilense</i> .....	21
2.3.1.2 <i>Bacillus subtilis</i> .....	22
2.3.1.3 <i>Bradyrhizobium japonicum</i> .....	22
2.3.2 Uso na agricultura.....	23
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	26
3.1 EXPERIMENTO 1.....	26
3.2 EXPERIMENTO 2.....	28
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	30
4.1 EXPERIMENTO 1.....	30
4.2 EXPERIMENTO 2.....	35
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	40
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	41
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	42
<b>APÊNDICES</b> .....	54

## 1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é a principal olerícola folhosa do Brasil, sendo cultivada de forma convencional, orgânica ou hidropônica e consumida principalmente in natura em saladas. Sua importância econômica e social está relacionada à geração de emprego e renda, especialmente à pequenos agricultores.

No cultivo da alface o suprimento adequado de nutrientes, principalmente o nitrogênio, contribui para o incremento do crescimento e produção das plantas aumentando o tamanho e melhorando o aspecto visual das mesmas. Entretanto, como este elemento não está disponível em forma assimilável em grandes concentrações nos solos brasileiros, frequentemente são utilizados adubos químicos nitrogenados para atender à demanda deste elemento pelas plantas. Porém, apesar de ser um insumo amplamente utilizado na agricultura mundial, problemas relacionados a seu baixo aproveitamento pelas plantas (normalmente em torno de apenas 50% do total aplicado) e o acúmulo de nitrato nas folhas de espécies folhosas como a alface, revelam a necessidade de alternativas que reduzam a quantidade aplicada ou potencializem o efeito desta. Assim, o uso de nitrogênio na forma de fertilizante químico representa alto custo econômico, operacional e ambiental.

O uso de microrganismos diazotróficos simbióticos (*Bradyrhizobium japonicum*) ou associativos (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*) na produção de mudas e no cultivo de hortaliças tem representado importante alternativa ao uso de defensivos e fertilizantes devido ao melhor aproveitamento dos nutrientes pelas plantas, a facilidade de aplicação dos inoculantes e o baixo custo dos produtos biológicos disponíveis no mercado. Podendo estas reduzir as quantidades de nitrogênio aplicadas ou até mesmo tornar desnecessário seu uso.

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, também conhecidas como RPCPs, são encontradas no solo de forma natural e vivem em simbiose ou associação com as raízes, interferindo normalmente de forma benéfica por meio de mecanismos diretos como a produção de sideróforos e fitohormônios, solubilização de fosfato e fixação de nitrogênio, ou indiretos, por meio da supressão de patógenos. O interesse pela utilização de microrganismos como promotores do crescimento de plantas vem crescendo, tendo em vista que resultados positivos já foram observados para alface (FERREIRA et al., 2011; SCHLINDWEIN et al., 2008), rúcula (SANTOS, 2016), cebola (HARTHMANN et al., 2009), pepino (LUCON et al., 2008) e tomate (MANGMANG et al., 2015).

No mercado brasileiro de inoculantes biológicos já estão disponíveis produtos específicos para soja, feijão, milho e cenoura à base de *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis* respectivamente. Porém, o uso agrícola destas e outras espécies de microrganismos ainda não é considerado uma prática frequente, exceto para a soja.

A aplicação de microrganismos promotores de crescimento de plantas associada à adubação nitrogenada pode minimizar o uso e/ou potencializar o efeito do nitrogênio mineral. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos isolados e/ou combinados de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio no crescimento e produção de alface.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Considerada a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil, tanto pelo sabor, qualidade e textura quanto pela diversidade, a alface é produzida em todas as regiões do país, cultivada em áreas próximas aos centros de distribuição devido sua alta perecibilidade (HENZ; SUINAGA, 2009). Por ser uma olerícola de ciclo curto e sistema radicular superficial apresenta alta demanda de nutrientes especialmente o nitrogênio que é, em geral, fornecido via adubação química cujas fontes normalmente utilizadas são ureia e sulfato de amônio (FILGUEIRA, 2013; MORAES, 2006). Porém, bactérias conhecidas como rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) podem contribuir para intensificar o efeito da adubação nitrogenada e/ou reduzir a quantidade do fertilizante aplicado na cultura (LIMA et al., 2017).

### 2.1 ALFACE

Originária da região Asiática e do Mediterrâneo a alface (*Lactuca sativa*) obteve sua domesticação a partir da espécie silvestre *Lactuca serriola*, atualmente ainda encontrada em regiões de clima temperado como no sul da Europa e na Ásia Ocidental (VRIES, 1997). Relatos apontam que possivelmente sua introdução na Europa ocorreu em meados do século XV e no Brasil em 1650 trazida pelos portugueses (SALA; COSTA, 2012).

A alface é uma planta anual e herbácea com sistema radicular ramificado e superficial, que se adapta bem em solos de textura média, com boa capacidade de retenção de água e pH entre 6,0 e 6,8. Embora seja uma espécie de clima ameno, cultivares resistentes a elevadas temperaturas foram desenvolvidas visando atender as regiões mais quentes. As conhecidas cultivares de inverno quando submetidas a temperaturas acima de 20 °C têm seu ciclo vegetativo acelerado antecipando a fase reprodutiva resultando em plantas menores comprometendo, conseqüentemente, a qualidade final do produto (FILGUEIRA, 2013; RESENDE et al., 2007).

A implantação do cultivo da alface geralmente tem início com a produção de mudas, que devem ser de boa qualidade pois aquelas com formação deficiente darão origem a plantas menos vigorosas (SOUSA et al., 1997). O substrato representa um outro fator importante seja ele comercial ou preparado na propriedade. Este deve apresentar características, tais como: acessibilidade, facilidade no transporte, baixo custo, ausência

de patógenos e sementes viáveis, além de características químicas, físicas e hídricas que atendam as demandas da espécie a ser cultivada (KLEIN, 2015). Normalmente, o substrato se restringe à fase inicial da produção, especialmente hortícolas, ornamentais, silvícolas e frutíferas. Entretanto, quando estes viabilizam maior possibilidade de suporte nutricional para as plantas cultivadas podem também ser utilizados até a fase final do sistema de produção (FERNANDES; CORÁ, 2001; MENEZES JÚNIOR et al., 2000; TRANI et al., 2007).

A semeadura pode ser realizada de forma individual em copos plásticos ou de papel, ou coletiva com a utilização de bandejas de isopor ou polipropileno e em espuma fenólica. Posteriormente, quando apresentam quatro folhas permanentes, são transplantadas para o local definitivo. A sementeira, muito utilizada no passado, resulta em maior gasto com mão-de-obra e compromete o sistema radicular no momento do transplante podendo ocasionar perdas de até 30% (COUTO et al., 2015; TRANI et al., 2004).

O cultivo pode ser realizado tanto à campo quanto em ambiente protegido, em solo ou sobre solução nutritiva (hidroponia). Por ser uma cultura sensível às intempéries ambientais os cultivos protegidos normalmente apresentam maiores produções. Estes favorecem o desenvolvimento das plantas durante todo o ano, tanto na época de chuvas intensas as quais danificam as folhas, quanto em períodos de estiagem onde se tem elevadas temperaturas que favorecem o pendoamento precoce (ARAÚJO NETO et al., 2012; RADIN et al., 2004; SEGOVIA et al., 1997).

### 2.1.1 Características botânicas e cultivares

Botanicamente a alface pertence à classe Magnoliopsida, ordem Asterales, família Asteraceae, subfamília Cichorioideae, tribo Lactuceae, gênero *Lactuca* e espécie *Lactuca sativa*. Esta apresenta flores hermafroditas agrupadas em inflorescência na forma de capítulo apresentando aproximadamente 20 floretes. A reprodução ocorre por autopolinização cleistogâmica onde há polinização e fecundação antes da abertura da flor. O ciclo é dividido em duas fases, vegetativa caracterizada pela germinação, emergência e formação das folhas, na qual a planta atinge o padrão de comercialização, e reprodutiva onde ocorre a formação e alongamento da haste floral com posterior florescimento e maturação fisiológica das sementes. As principais características que

influenciam na duração de cada fase são o genótipo, as condições edafoclimáticas e o manejo adotado podendo variar entre 45 e 80 dias (FILGUEIRA, 2013).

A intensidade da luz associada a temperatura influencia diretamente o crescimento e o desenvolvimento da planta. Dias curtos e temperaturas elevadas favorecem o florescimento, resultando em plantas menores devido ao pendoamento precoce. Por outro lado, dias curtos e temperaturas amenas favorecem a fase vegetativa (BEZERRA NETO et al., 2005; HENZ; SUINAGA, 2009). Porém, com a utilização de genótipos adaptados às condições de clima tropical denominados cultivares de verão, aliados a adoção de técnicas de cultivo como a plasticultura é possível obter altas produtividades e boa qualidade da hortaliça em períodos mais quentes (LÉDO et al., 2000; SILVA, 2010; SILVA et al., 2011).

As cultivares comercializadas são agrupadas de acordo com a formação de cabeça em repolhudas ou soltas e conforme as características das folhas em crespas ou lisas. Assim, são associadas em seis grupos: americana, repolhuda manteiga ou lisa, solta lisa, solta crespa, mimosa e romana. Destas a maior parte são de coloração verde, entretanto, as arroxeadas também vêm ganhando mercado. A definição dos tipos de alface é importante devido à grande diversidade encontrada de características morfológicas e fisiológicas que determinam especificidade na conservação pós-colheita, influenciando diretamente no manuseio (FILGUEIRA, 2013; HENZ; SUINAGA, 2009). A cultivar Vera, resultante do cruzamento de Verônica e Slow Bolting, apresenta como principal característica a resistência ao florescimento precoce devido a altas temperaturas. Esta é caracterizada por folhas soltas e crespas, porte ereto, coloração verde clara brilhante e ciclo entre 50 e 70 dias. Apresentando como principal desvantagem em relação as outras cultivares maior sensibilidade a queima das bordas (DELLA VECCHIA et al., 1999).

### 2.1.2 Demanda nutricional

Durante o crescimento as hortaliças apresentam diferenças tanto na demanda nutricional quanto na quantidade de nutrientes absorvida. Geralmente, a absorção de nitrogênio, fósforo e potássio segue a mesma disposição da taxa de acúmulo de biomassa da cultura. Em função do ciclo curto e do sistema radicular superficial a alface apresenta alta demanda de nutrientes em praticamente todo o ciclo da cultura sendo que os requeridos em maior quantidade são potássio (K), nitrogênio (N), cálcio (Ca) e fósforo (P).

O maior consumo destes macronutrientes pela cultura é na fase final do ciclo, após o início do florescimento (KANO et al., 2011; PAPADOPOULOS, 1999).

A absorção dos nutrientes contidos na solução do solo é influenciada pela forma em que se encontram os elementos como, também, pela temperatura, luminosidade, presença de oxigênio e pH os quais interferem diretamente na disponibilidade de alguns minerais. Embora os nutrientes que compõem as plantas sejam diversificados o desenvolvimento e a produção destas estarão sempre limitados aos elementos que apresentam menor concentração em relação a necessidade da cultura, devido estes apresentarem funções específicas e insubstituíveis (MALAVOLTA, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013).

A deficiência nutricional nas plantas de alface pode ser facilmente detectada através de sintomas visualmente perceptíveis. Estes facilitam a diagnose e podem apresentar-se de diversas formas e de acordo com o nutriente, como por exemplo problemas de má formação (boro), coloração anormal (magnésio), queimas e distorções nas folhas (nitrogênio) (ALBUQUERQUE; ALBUQUERQUE NETO, 2008; YURI et al., 2016). A omissão de macronutrientes proporciona redução do crescimento da planta tornando-as inadequadas para comercialização (TISCHER; SIQUEIRA NETO, 2012).

Como os solos brasileiros geralmente apresentam baixa disponibilidade de macro e micronutrientes a adubação química é amplamente utilizada para o fornecimento imediato de nutrientes para o cultivo da alface. Entretanto, o uso de adubação orgânica também apresenta resultados satisfatórios influenciando normalmente de forma positiva na produtividade da cultura (SILVA et al., 2010; STEINER et al., 2012).

## 2.2 NITROGÊNIO

O nitrogênio é constituinte básico de aminoácidos, proteínas e ácidos nucléicos sendo o nutriente requerido em maior quantidade pela maioria das espécies vegetais. Na alface seu acúmulo é crescente até o início do florescimento. Entretanto, por não estar disponível em quantidades suficientes nos solos brasileiros é necessário que seja incorporado de forma frequente visando repor suas perdas, principalmente por remoção pelas colheitas, volatilização de amônia e lixiviação de nitrato (FILGUEIRA, 2013; KANO et al., 2011; MALAVOLTA, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Em olerícolas folhosas o fornecimento adequado de N contribui para o aumento do crescimento vegetativo, área fotossintética e produtividade. A deficiência deste nutriente em qualquer fase do desenvolvimento da planta pode promover amarelecimento das folhas mais velhas e considerável redução da produção (YURI et al., 2016). Porém, quando em excesso pode causar danos como queima em folhas jovens, aumento da susceptibilidade a doenças e alongamento do ciclo da cultura (FILGUEIRA, 2013).

No solo o N é encontrado predominantemente na forma orgânica não assimilável pelas plantas, estando apenas em torno de 2% disponível na forma de nitrato e/ou amônio. Porém, este elemento compõe cerca de 80% do ar atmosférico sendo a utilização desta fonte dependente de microrganismos diazotróficos. A entrada deste no sistema solo-planta-ambiente ocorre principalmente pelo processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e pela adubação nitrogenada. Por outro lado, as saídas ocorrem por meio de volatilização ( $\text{NH}_3$ ), lixiviação ( $\text{NO}_3^-$ ) e desnitrificação ( $\text{N}_2\text{O}$ ) (MALAVOLTA, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os adubos químicos são a principal fonte de nitrogênio utilizada para o suprimento da demanda pelas culturas devido principalmente a rápida disponibilização do elemento para as plantas. Entretanto, a adubação nitrogenada é uma prática onerosa e responsável por danos ao meio ambiente relacionados especialmente à contaminação de recursos hídricos (FAQUIN, 2005; FURLANI; PURQUERIO, 2010). Portanto, o uso da adubação nitrogenada representa alto custo econômico e ambiental como, também operacional pela necessidade de aplicações parceladas (semeadura e cobertura) muitas vezes em extensas áreas (KATAYAMA, 1993; NASCIMENTO et al., 2017).

A adubação orgânica é muito utilizada no cultivo de alface visando reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados (SILVA et al., 2001; STEINER et al., 2011; STEINER et al., 2012). Silva et al. (2010) verificaram que a utilização de compostos orgânicos supriu a necessidade de N da cv. Verônica, dispensando o uso da adubação mineral. Steiner et al. (2012) também verificaram resultados positivos ao utilizarem dejetos líquidos de suíno. Entretanto, os adubos nitrogenados são a forma mais utilizada de disponibilização de N para a cultura da alface (YURI et al., 2016). A ureia se destaca devido sua alta concentração de N (45%) como, também, solubilidade e compatibilidade de uso com outros fertilizantes. No entanto, esta possui alta susceptibilidade a perdas por lixiviação ( $\text{NO}_3^-$ ) e volatilização ( $\text{NH}_3$ ) que resultam em

baixo aproveitamento do elemento pela cultura além de representar riscos de contaminação de recursos hídricos (FRAZÃO et al., 2014; ROSOLEM et al., 2003).

A adubação nitrogenada na alface tem proporcionado incremento no número de folhas e na produção de matéria fresca e seca da parte aérea das plantas (FARIAS et al., 2015; STEINER et al., 2012; YURI, 2004). Todavia, mesmo com os benefícios decorrentes do suprimento químico do nitrogênio cuidados devem ser tomados em relação a quantidade oferecida visto que doses elevadas desse nutriente não refletem necessariamente em ganhos na produção e favorecem o acúmulo de nitrato na parte aérea com consequente perda de qualidade das plantas (ARAÚJO et al., 2011; MANTOVANI et al., 2005).

### 2.3 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) constituem um grupo de microrganismos que, geralmente, colonizam a região do solo sob influência da raiz (rizosfera) podendo incrementar crescimento das plantas com as quais estabelecem ou não associação. Estas bactérias podem colonizar as raízes, tanto interna quanto externamente, e também a parte aérea das plantas (MARIANO et al., 2004).

Os efeitos das RPCPs nas plantas podem ocorrer de duas formas: a) direta, por mecanismos como fixação de nitrogênio, síntese de sideróforos, produção de fitohormônios, solubilização de fosfato e mineralização de nutrientes e, b) indireta, como agentes de controle biológico de fitopatógenos (MARIANO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2003). Segundo Dobbelaere et al. (2003) as RPCPs são capazes de produzir auxinas, giberelinas e citocininas, fitohormônios que contribuem para o aumento do comprimento das raízes, alongamento do caule e promoção do crescimento e desenvolvimento das plantas.

As RPCPs vem sendo utilizadas na forma de produtos biológicos comerciais com o objetivo de contribuir para a redução e/ou substituição do uso de fertilizantes nitrogenados (LIMA et al., 2017) como, também, para ampliar o crescimento vegetal (APONTE et al., 2017; HARTHMANN et al., 2009; KOZUSNY-ANDREANI; ANDREANI JUNIOR, 2014; SOTTERO, 2003) e como agentes de controle biológico (CIPRIANO et al., 2013; SANTOS, 2016). Embora seu uso possa ser isolado a combinação de duas ou mais espécies mediante a prática de coinoculação, também denominada inoculação mista, normalmente contribui para intensificar o efeito das mesmas (ARAÚJO et al., 2010).

### 2.3.1 Espécies

Entre os principais gêneros de microrganismos considerados como rizobactérias destacam-se *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Serratia*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Enterobacter* e *Azotobacter*. Estes incluem várias espécies como *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*, consideradas essenciais ao ecossistema de plantas devido a possibilidade de suprimento de elementos de crescimento como nitrogênio, fósforo e, possivelmente ferro (MELO, 2018).

#### 2.3.1.1 *Azospirillum brasilense*

O interesse por bactérias desta espécie tem crescido entre os pesquisadores da área de microbiologia agrícola como, também por produtores que utilizam produtos biológicos à base da mesma inoculados nas sementes de várias espécies vegetais como milho, trigo, arroz e cana-de-açúcar. Porém, sua utilização tem-se expandido além destas poáceas para as quais estavam inicialmente indicadas. Esta bactéria de solo cresce em associação com raízes, utilizando os nutrientes excretados pela planta, e em retorno fixam o nitrogênio atmosférico e liberam substâncias promotoras de crescimento vegetal (HUNGRIA, 2011; MENDONÇA et al., 2006; REIS JUNIOR et al., 2000; TORTORA et al., 2012).

No Brasil os produtos biológicos comerciais contendo *Azospirillum brasilense* são comercializados tanto na forma líquida quanto turfosa, sendo constituídos pelas estirpes AbV5 e/ou AbV6 (HUNGRIA et al., 2010). Sua aplicação é normalmente na forma de inoculação de sementes. Porém, são também aplicadas nas folhas e diretamente no solo ou outro substrato por ocasião da semeadura (HUNGRIA, 2011; PORTUGAL et al., 2013).

As rizobactérias do gênero *Azospirillum* constituem um grupo de RPCPs, capazes de estimular o crescimento vegetal por meio da síntese de fitohormônios ou melhorar a disponibilização de nitrogênio via fixação biológica para as espécies que se beneficiam deste processo (RODRIGUES et al., 2008). Assim, a FBN promovida por *Azospirillum brasilense* pode contribuir para o aumento do crescimento das plantas e melhoria do desempenho produtivo das mesmas. Entretanto, o nitrogênio fixado por esta rizobactéria é disponibilizado de forma lenta e em pequenas quantidades, atendendo

de forma parcial a demanda das plantas por este elemento, uma vez que parte dele é utilizado pelo próprio microrganismo para manutenção do seu metabolismo (HUNGRIA, 2011; RADWAN et al., 2005).

#### 2.3.1.2 *Bacillus subtilis*

O *Bacillus subtilis* é uma bactéria associativa que ocorre naturalmente no solo colonizando raízes, onde desempenha importante papel na ciclagem do carbono e do nitrogênio uma vez que promove a decomposição da matéria orgânica aumentando a disponibilidade dos nutrientes para as plantas. O crescimento das plantas promovido por esta espécie é consequência de diversos processos os quais envolvem a síntese de auxinas, giberelinas e citocininas, disponibilização de fosfato e principalmente o biocontrole fitopatógenos (ARAÚJO; HUNGRIA, 1999; LAZZARETTI; MELO, 2005).

O sucesso da utilização dessa espécie de rizobactéria em inoculantes é atribuído às suas próprias características biológicas, especialmente a capacidade de formação de estruturas de resistência em condições desfavoráveis. Desta forma, garante-se maior possibilidade de manutenção da sobrevivência desta nos bioprodutos compostos pela mesma (LANNA FILHO et al., 2010; MELO, 1998).

As bactérias do gênero *Bacillus*, especialmente *Bacillus subtilis*, apresentam como principal característica a ação antagônica direta contra fitopatógenos mediante síntese de substâncias antimicrobianas, competição por espaço e nutrientes, e indireta, por meio da resistência sistêmica induzida (ARAÚJO; MARCHESI, 2009; ARAÚJO; MENEZES, 2009; CORRÊA et al., 2010). Porém, além da exclusão competitiva de fitopatógenos, a promoção do crescimento de plantas proporcionado por estas bactérias é, também, consequência do aumento da FBN, da solubilização de nutrientes e da síntese de fitohormônios (ARAÚJO, 2008; ARAÚJO et al., 2010; ARAÚJO; HUNGRIA, 1999).

#### 2.3.1.3 *Bradyrhizobium japonicum*

As bactérias do gênero *Bradyrhizobium* constituem um grupo de microrganismos em forma de bastonete, gram-negativos e aeróbios que fixam N atmosférico simbioticamente em associação com fabáceas formando estruturas diferenciadas nas raízes denominadas nódulos radiculares. Podem também atuar como promotoras do



crescimento de plantas em espécies de outras famílias sem, no entanto, estabelecer simbiose com as mesmas (HOLT<sup>1</sup> et al., 1994 citados por BIZARRO, 2004; HUNGRIA et al., 2001).

Esta espécie é amplamente utilizada na composição de inoculantes comerciais para soja cuja inoculação das sementes com os rizóbios presentes nos mesmos a torna autossuficiente em nitrogênio. As estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* adaptadas às condições edafoclimáticas brasileiras, recomendadas e aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para inoculação de soja são SEMIA 5079 e SEMIA 5080 (CHUEIRE et al., 2003).

Além da soja, a aplicação de inoculantes rizobianos em sementes de outras espécies de fabáceas normalmente amplia os benefícios da FBN nas culturas mediante incremento da massa nodular e do teor de N acumulado na parte aérea das plantas como, também, aumento da produção e redução e/ou substituição do uso de fertilizantes nitrogenados (ARAÚJO et al., 2007; HUNGRIA et al., 2005). Entretanto, as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* também possuem a capacidade de atuar como promotoras do crescimento de plantas em não fabáceas através da síntese do ácido indolacético, fitohormônio que atua na formação das raízes e, conseqüentemente, contribui para o aumento da absorção de nutrientes (SCHLINDWEIN et al., 2008). Porém, a utilização de rizóbios em não fabáceas não visa substituir a adubação nitrogenada, mas sim reduzir seu uso e/ou intensificar seu efeito mediante seus mecanismos de ação como RPCPs (OSÓRIO FILHO et al., 2014; OSÓRIO FILHO et al., 2016).

### 2.3.2 Uso na agricultura

Alternativas com intuito de aumentar a eficiência do uso de nitrogênio como por exemplo a utilização de rizobactérias vêm sendo implementadas no sentido de reduzir e/ou substituir seu uso, diminuindo os custos de produção e o impacto ambiental, sem, contudo, comprometer o rendimento das culturas (LIMA et al., 2017). O uso desses microrganismos se tornou uma opção econômica e ambientalmente viável capaz de promover o crescimento das plantas através de mecanismos diretos e indiretos (MELO, 1998; NOUMAVO et al., 2016; PRATHAP; KUMARI, 2015). Entre as formas

---

<sup>1</sup> HOLT, A. B.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A; STANLEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 170 p.

de utilização de inoculantes à base de rizobactérias incluem-se tratamento de sementes, estacas, explantes, tubérculos e mudas micropropagadas (MARIANO et al., 2004).

A fixação biológica de nitrogênio realizada por bactérias diazotróficas representa uma alternativa à utilização de adubação nitrogenada. Estas são capazes de fixar o N<sub>2</sub> presente na atmosfera e torná-lo disponível para as plantas em formas assimiláveis. A maior contribuição da FBN ocorre pela simbiose entre fabáceas e bactérias da família Rhizobiaceae, popularmente conhecidas como rizóbios. Por outro lado, em poáceas como milho, trigo, sorgo, arroz, cana-de-açúcar e espécies forrageiras, o *Azospirillum* atua como bactéria diazotrófica não simbiótica colonizando principalmente a rizosfera, local onde ocorre maior absorção do nitrogênio biologicamente fixado. Entretanto, neste caso somente parte do N é fornecido as plantas, sendo necessária complementação via adubação (HUNGRIA et al. 2007; HUNGRIA, 2011; MENDONÇA et al., 2006; REIS JUNIOR et al., 2000). Além da FBN as rizobactérias são capazes de promover o crescimento das plantas através da produção de compostos como auxinas, giberelinas e citocininas, que atuam como fitoestimuladores na alongação do caule e raízes, na formação de pelos que favorecem a absorção de água e nutrientes e na divisão celular tanto na fase de mudas quanto em plantas adultas (MELO, 1998).

A utilização de rizobactérias pode proporcionar incremento no crescimento e no rendimento de diversas culturas. Resultados satisfatórios já foram observados para espécies como cebola (COLO et al., 2014; HARTHMANN et al., 2009), milho (BREEDT et al., 2017; MORAIS et al., 2016; REPKE et al., 2013), trigo (RODRIGUES et al., 2014; SALANTUR et al., 2006), amendoim (TURNER; BACKMAN, 1991), tomate (ARAÚJO; MARCHESI, 2009; GAGNÉ et al., 1993), alface (APONTE et al., 2017; FREITAS et al., 2003), pepino (LUCON et al., 2008), rabanete (ANTOUN et al., 1998), arroz (RODRIGUES et al., 2015) e cana-de-açúcar (LOPES, 2013).

A inoculação de alface com *Azospirillum brasilense* ocasiona, principalmente, efeitos relacionados ao incremento do sistema radicular melhorando a eficiência da absorção de água e nutrientes incrementando o crescimento das plantas (FREITAS et al., 2003; GARBI et al., 2016; MANGMANG et al., 2015). Fasciglione et al. (2015) verificaram que sob estresse salino plantas de alface cujas sementes foram inoculadas com *Azospirillum brasilense* apresentaram-se com maior tamanho, teor de clorofila e ácido ascórbico como, também, tempo de armazenamento do que as que não foram inoculadas. Lima et al. (2017) observaram que a massa fresca total de alface

aumentou com a utilização de *Azospirillum* associado a doses crescentes de N, além de promover maior tolerância a viroses do tipo Tospovirus.

A associação entre rizobactérias pode promover aumento da eficiência diazotrófica, redução ou otimização do uso de adubação nitrogenada e melhoria do aproveitamento de nutrientes presentes ou adicionados ao solo. *Azospirillum brasilense*, por exemplo, pode promover efeitos de sinergismo quando coinoculada com outra espécie de rizobactéria favorecendo o crescimento foliar e minimizando o estresse causado por altas temperaturas (APONTE et al., 2017; ARAÚJO et al., 2015; DARTORA et al., 2013).

O uso agrícola de *Bacillus subtilis* está normalmente associado à sua atividade como agente de biocontrole de fitopatógenos (BETTIOL et al., 1997; FERNANDES et al., 2013; LUCON et al., 2008; MARTINS, 2013; MELO, 1998; RAUPACH; KLOEPPER, 1998). Porém, há relatos de efeitos positivos desta espécie no crescimento de plantas de milho (LIMA, 2010), soja (BRAGA JUNIOR et al., 2018), algodão (DIAZ, 2018), rúcula (SANTOS, 2016), tomate (ARAÚJO; MARCHESI, 2009) e rabanete (MOHAMED; GOMAA, 2012).

Ainda que os rizóbios sejam em grande parte utilizados em fabáceas a aplicação em gramíneas encontra-se bastante difundida (HAHN et al., 2014; OSÓRIO FILHO et al., 2014). Porém, ainda é um assunto pouco estudado dentre as hortaliças, embora algumas pesquisas já apresentem resultados positivos para o emprego desse microrganismo em rabanete (ANTOUN et al., 1998; KLOEPPER; SCHROTH, 1981), pimentão (BLANCO et al., 2018), beterraba, couve (BORGES, 2016) e tomate (SANTOS et al., 2017).

Kozusny-Andreani e Andreani Junior (2014) observaram que a utilização de rizóbios em alface aumentou a velocidade de germinação das sementes e o crescimento das mudas, proporcionando também incremento do sistema radicular. Osório Filho et al. (2015) também verificaram que estas bactérias foram eficientes na promoção do crescimento de alface. Schindwein et al. (2008) verificaram que o ácido indolacético sintetizado por rizóbios, em baixas concentrações, favoreceu a germinação e o crescimento de alface.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação com estrutura de madeira e cobertura com plástico de 50  $\mu\text{m}$ , localizada no campo experimental da Universidade Federal do Acre, em Rio Branco, Acre. Ambos foram instalados e conduzidos simultaneamente no período de junho a agosto de 2018. Como planta teste foi utilizada a alface cultivar Vera, pertencente ao grupo comercial de folhas soltas e crespas, sem formação de cabeça e com ciclo médio de 60 dias.

#### 3.1 EXPERIMENTO 1

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 2 \times 2 \times 2$ , com cinco repetições totalizando 80 unidades experimentais as quais constituíram-se de tubos de policloreto de vinil (PVC) de cor branca, com diâmetro e altura de 14,5 cm, perfazendo volume de 2,4 L. Os fatores corresponderam à ausência e presença de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio.

O solo utilizado como substrato foi retirado da camada superficial (0-20 cm) de uma área em pousio localizada no campo experimental da UFAC com característica granulométrica argilosa (427 g.kg<sup>-1</sup> de argila, 227 g.kg<sup>-1</sup> de silte e 346 g.kg<sup>-1</sup> de areia). Visando melhorar a condição de fertilidade do solo foi efetuada calagem com calcário dolomítico calcinado (PRNT = 100%), adubação fosfatada com 2,0 g de P na forma de superfosfato simples (18% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e potássica com 0,6 g de K na forma de cloreto de potássio (58% de K<sub>2</sub>O). Os atributos químicos apresentados por ocasião da instalação do experimento foram: pH (água) = 5,2; matéria orgânica = 29 g.dm<sup>-3</sup>; P = 12 mg.dm<sup>-3</sup>; K = 3,6 mmolc.dm<sup>-3</sup>; Ca = 32 mmolc.dm<sup>-3</sup>; Mg = 24 mmolc.dm<sup>-3</sup>; H + Al = 28 mmolc.dm<sup>-3</sup>; S = 30 mg.dm<sup>-3</sup>; Fe = 249 mg.dm<sup>-3</sup>; Mn = 34 mg.dm<sup>-3</sup>; Cu = 1,0 mg.dm<sup>-3</sup>; Zn = 1,9 mg.dm<sup>-3</sup>; B = 0,26 mg.dm<sup>-3</sup>; Soma de bases = 60,1 mmolc.dm<sup>-3</sup> e Saturação por bases = 68,2%.

Foram utilizadas mudas produzidas em bandejas de isopor de 200 células, contendo uma mistura de 50% de areia e 50% de vermiculita, nas quais foi introduzida uma semente por célula. Aos 10 dias, quando as plântulas apresentavam um par de folhas definitivas, foram transplantadas duas mudas para cada unidade experimental. Os vasos foram acondicionados em bancadas medindo 1,50 m por 6,00 m e altura de 1,50 m.

As fontes das rizobactérias utilizadas foram inoculantes comerciais líquidos à base de *Azospirillum brasilense* (estirpes AbV5 e AbV6), *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079 e 5080) e *Bacillus subtilis* (isolado UFPEDA 764). O número mais provável (NMP) de células viáveis dos produtos foi estimado pelo método de diluição seriada e contagem de colônias em placas com meio NFB<sup>2</sup> para *Azospirillum*, 79 modificado<sup>3</sup> para *Bradyrhizobium* e ágar nutriente<sup>4</sup> para *Bacillus subtilis*. Os resultados obtidos após a contagem foram de  $2 \times 10^8$ ,  $6 \times 10^9$  e  $1 \times 10^9$  células viáveis por mL de inoculante de *A. brasilense*, *B. japonicum* e *B. subtilis*, respectivamente. Como fonte de nitrogênio utilizou-se a ureia (45% de N).

A aplicação dos 16 tratamentos foi realizada diretamente no solo no dia seguinte ao transplântio, em período com temperatura amena para minimizar seu efeito na sobrevivência e estabelecimento dos microrganismos. Foram aplicados, de forma isolada ou combinada, 1 mL de cada inoculante à base de rizobactérias em sulcos efetuados manualmente entre as duas mudas com profundidade aproximada de 1 cm. Nos tratamentos com presença de nitrogênio a ureia foi aplicada na dose correspondente à  $75 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  considerando-se a densidade da massa de solo, sendo esta incorporada manualmente ao solo em profundidade aproximada de 2 cm.

O desbaste foi realizado dez dias após o transplântio mantendo-se a planta considerada mais vigorosa. As irrigações foram efetuadas de forma regular e homogênea, sempre que verificada a necessidade das mesmas para possibilitar a manutenção de níveis adequados de umidade do substrato para as plantas de alface. O controle de insetos e plantas espontâneas foi efetuado de forma manual mediante catação de insetos e arranquio de invasoras. Durante a condução do experimento foram monitoradas a temperatura e a umidade relativa do ar por meio de datalogger obtendo-se médias de  $27,1 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $71,3\%$  respectivamente.

A avaliação do experimento foi realizada 53 dias após o transplântio das mudas, durante o período de máximo desenvolvimento vegetativo da alface, antes de iniciar a fase de pendoamento. As plantas foram cortadas ao nível do solo, abaixo das folhas

---

<sup>2</sup> Ácido málico (5 g), fosfato dipotássico (0,5 g), sulfato ferroso (0,5 g), sulfato manganoso (0,01 g), sulfato de magnésio (0,2 g), cloreto de sódio (0,1 g), molibdato de sódio (0,002 g), cloreto de cálcio (0,02 g), azul de bromotimol (0,002 g), ágar-ágar (20 g), hidróxido de potássio (4 g) e água destilada (1000 mL).

<sup>3</sup> Manitol (10 g), extrato de levedura (1 g), cloreto de sódio (0,1 g), sulfato de magnésio (0,2 g), fosfato dipotássico (0,5 g) ágar bacteriológico (20 g) e água destilada (1000 mL).

<sup>4</sup> Peptona (5 g), extrato de carne (1,5 g), extrato de levedura (1,5 g), cloreto de sódio (5 g), ágar (15 g) e água destilada (1000 mL).

basais, com o auxílio de um estilete. Foram avaliadas as seguintes variáveis indicadoras de crescimento e produção: massas fresca e seca da parte aérea total (MFPAT e MSPAT) e comercial (MFPAC e MSPAC), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total da planta (MST), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC), e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA).

Para avaliação da MFPAT e NFT foram consideradas todas as folhas, independente da condição. Porém, para a obtenção da MFPAC e NFC foram desconsideradas folhas fora do padrão (senescidas, manchadas ou com danos físicos). As raízes foram retiradas do solo e previamente limpas mediante lavagem destas sobre peneiras. Posteriormente foram mantidas em álcool (70° INPM) até que individualmente fosse possível efetuar sua limpeza total para posterior verificação da massa seca. A massa seca total da planta (MST) foi obtida somando-se as massas secas da parte aérea total (MSPAT) e da raiz (MSR).

As partes aérea e radicular foram acondicionadas em sacos de papel. Para obtenção das massas secas foi realizada a secagem em estufa com circulação de ar a 65 °C até que não houvesse variação do valor obtido em balança digital com 0,01 g de precisão (massa constante). Também efetuou-se a quantificação do nitrogênio acumulado na parte aérea da planta (NAPA) por digestão úmida de acordo com o método semi micro Kjeldahl descrito por Tedesco et al. (1995).

A análise estatística consistiu na verificação da presença de dados discrepantes (GRUBBS, 1969), normalidade dos erros (SHAPIRO; WILK, 1965) e homogeneidade das variâncias (COCHRAN, 1941). As variáveis que não atenderam aos pressupostos da análise de variância tiveram os dados transformados. Pelo teste F da análise de variância verificou-se a significância dos efeitos isolados e combinados dos fatores. Para as interações significativas ( $p \leq 0,05$ ) duplas (A x B) ou triplas (A x B x C) efetuou-se o desdobramento antes da comparação de médias para avaliar os efeitos dos níveis de um fator dentro do outro. Para duas ou mais interações significativas envolvendo a participação dos mesmos fatores foi considerada a de maior ordem.

### 3.2 EXPERIMENTO 2

O experimento 2 foi conduzido e avaliado de forma similar ao experimento 1. Entretanto, neste não foram realizadas a calagem nem as adubações com fósforo e potássio. Nas unidades experimentais foi utilizado substrato comercial adquirido no

comércio de Rio Branco composto de casca de pinus bioestabilizada, vermiculita, carvão vegetal moído, espuma fenólica, fertilizante e corretivo. No momento da instalação do experimento este apresentou os seguintes atributos químicos: pH (água) = 6,4; matéria orgânica = 89 g.dm<sup>-3</sup>; P = 560 mg.dm<sup>-3</sup>; K = 33 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; Ca = 96 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; Mg = 27 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; H + Al = 18 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; S = 36 mg.dm<sup>-3</sup>; Fe = 66 mg.dm<sup>-3</sup>; Mn = 112 mg.dm<sup>-3</sup>; Cu = 0,4 mg.dm<sup>-3</sup>; Zn = 40,9 mg.dm<sup>-3</sup>; B = 1,55 mg.dm<sup>-3</sup>; Soma de bases = 190,7 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup> e Saturação por bases = 91,3%.

A avaliação do experimento foi realizada 49 dias após o transplante das mudas, durante o período de máximo desenvolvimento vegetativo da alface, antes de iniciar a fase de pendoamento. Os procedimentos de avaliação e análise estatística foram similares aos adotados no experimento 1.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As rizobactérias *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*, bem como o nitrogênio, aplicados ao solo e ao substrato comercial, apresentaram em ambos os experimentos efeitos distintos no crescimento e produção de alface cultivar Vera.

### 4.1 EXPERIMENTO 1

Foram verificadas respostas diferenciadas para as rizobactérias tanto em aplicação isolada quanto combinada. Porém, o nitrogênio não apresentou efeito independente e sim apenas combinado com as rizobactérias (Tabelas 1 a 7).

Verificou-se que o *Bacillus subtilis* aplicado de forma isolada no solo promoveu redução nas massas secas da parte aérea total e comercial, massa seca total da planta, número de folhas total e comercial e do nitrogênio acumulado na parte aérea (Tabela 1) diferindo dos resultados observados por Shehata et al. (2016) que avaliando o efeito desta rizobactéria associada a aplicação de nitrogênio em alface observaram aumento significativo no número de folhas, massas frescas e secas e rendimento total. Contudo, Freitas et al. (2003) observaram em solo esterilizado que apenas dois de dez isolados de *Bacillus* spp. foram capazes de promover o crescimento de plantas de alface. No caso do presente trabalho pode ter ocorrido competição pelos nutrientes disponíveis entre a planta e a espécie microbiana aplicada tendo em vista a redução tanto de variáveis relacionadas ao crescimento quanto de produção.

Tabela 1 - Efeito do *Bacillus subtilis* nas massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface no experimento 1

<i>B. subtilis</i>	MSPAT (g)	MSPAC (g)	MST (g)	NFT (unid.)	NFC (unid.)	NAPA (mg)
Ausência	12,70 A	10,12 A	13,65 A	32,16 A	25,78 A	442,76 A
Presença	11,39 B	9,08 B	12,25 B	30,17 B	24,20 B	399,61 B
CV (%)	16,18	18,72	15,85	11,02	12,47	15,08

Médias seguidas da mesma letra não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES A, C, D e E.



O *Azospirillum brasilense* em efeito isolado aumentou a massa fresca da parte aérea comercial e o número de folhas comercial (Tabela 2). Este efeito pode ser considerado positivo pelo fato das folhas representarem a parte da planta de interesse comercial no caso da alface. Este incremento pode estar relacionado a produção de fitohormônios, principalmente a citocinina que participa da maturação dos cloroplastos, alargamento celular e expansão foliar (CACCIARI et al., 1989; TIEN et al., 1979). Lima et al. (2017) verificaram que a aplicação de *Azospirillum brasilense* associada a adubação nitrogenada promoveu incremento da massa fresca da parte aérea de alface. Entretanto, Souza et al. (2018) observaram que a aplicação isolada de *Azospirillum brasilense* não proporcionou aumento da massa fresca da parte aérea e do número de folhas das plantas.

Tabela 2 - Efeito do *Azospirillum brasilense* na massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC) e no número de folhas comercial (NFC) de alface no experimento 1

<i>Azospirillum brasilense</i>	MFPAC (g)	NFC (unid.)
Ausência	155,36 B	24,20 B
Presença	174,95 A	25,78 A
CV (%)	18,80	12,47

Médias seguidas da mesma letra não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F. Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES A, C e E.

Não foi observado em nenhuma das variáveis avaliadas neste experimento efeito independente do nitrogênio quando aplicado isoladamente. Provavelmente, a falta de resposta deve-se ao fato do solo já atender a demanda da planta neste elemento e, assim, a quantidade extra desse nutriente aplicada mediante adubação não proporcionar maior crescimento da alface.

Foi observada interação dupla entre *Bacillus subtilis* e nitrogênio para massa seca de raiz e deste nutriente com *Bradyrhizobium japonicum* para massa seca de raiz, número de folhas total e comercial (Tabelas 3 e 4). A aplicação de *Bacillus subtilis* associada a adubação nitrogenada reduziu a massa seca das raízes em 19% (Tabela 3), confirmando o efeito negativo desta rizobactéria, conforme já relatado (Tabela 1).

As rizobactérias *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* produziram efeitos distintos quando combinadas com nitrogênio (Tabelas 3 e 4). Neste caso é possível observar que nem a adubação nitrogenada tampouco a aplicação das rizobactérias foram eficazes em aumentar a massa seca da raiz e número de folhas total e

comercial. Observa-se que embora os resultados tenham sido similares para as combinações entre a rizobactéria e o nutriente, é possível que na presença simultânea de *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio tenha ocorrido competição entre o microrganismo e a planta, visto que na ausência deste elemento a aplicação da rizobactéria reduziu estas variáveis (Tabela 4).

Balanza et al. (2012) verificaram que nem a presença de *Bacillus* tampouco a de nitrogênio influenciaram o crescimento radicular de alface hidropônica. Miranda (2014) verificou que a aplicação de rizóbios associada a doses de nitrogênio não influenciou a massa fresca da parte aérea de alface. Embora, segundo Resende et al. (2010) e Souza et al. (2011) em fabáceas a adubação nitrogenada limite a atividade dos rizóbios, neste caso para a alface, foi observado que a utilização tanto de rizóbios quanto de nitrogênio proporcionou resultados similares.

Tabela 3 - Massa seca da raiz (MSR) de alface em função da interação entre *Bacillus subtilis* e nitrogênio no experimento 1

Variável	<i>Bacillus subtilis</i>	Nitrogênio		CV (%)
		Ausência	Presença	
MSR (g)	Ausência	0,94 Aa	0,96 Aa	22,52
	Presença	0,94 Aa	0,78 Bb	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES A, D e K.

Tabela 4 - Massa seca da raiz (MSR), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) de alface em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio no experimento 1

Variáveis	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Nitrogênio		CV (%)
		Ausência	Presença	
MSR (g)	Ausência	1,06 Aa	0,81 Ab	22,52
	Presença	0,83 Ba	0,94 Aa	
NFT (unid.)	Ausência	33,80 Aa	30,45 Ab	11,02
	Presença	30,60 Ba	30,35 Aa	
NFC (unid.)	Ausência	27,20 Aa	23,75 Ab	12,47
	Presença	24,55 Ba	24,45 Aa	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES A, D, E, L, N e O.

Houve interação entre *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio para as massas frescas da parte aérea total e comercial (Tabela 5). Na presença de *Bacillus subtilis* e ausência de *Bradyrhizobium japonicum* a adubação nitrogenada reduziu em 22% a massa fresca da parte aérea total e em 24% a comercial. Na ausência de *Bradyrhizobium japonicum* e presença de N a aplicação de *Bacillus subtilis* reduziu em 18% as massas frescas total e comercial, assim como na presença de *Bacillus subtilis* e ausência de N a aplicação mista com *Bradyrhizobium japonicum* também reduziu em média 22% ambas as massas. Neste caso pode ser que a presença de nitrogênio tenha favorecido a multiplicação de *Bacillus subtilis* interferindo na absorção de nutrientes pela planta devido a competição com os microrganismos. Além disso, a produção elevada de compostos por esta rizobactéria pode ter se tornado tóxica promovendo, assim, redução do crescimento das plantas. Arkhipova et al. (2005) verificaram que a aplicação de *Bacillus subtilis* em alface cultivada em laboratório proporcionou acúmulo de fitohormônios (AIA, AIB e citocininas) tanto na parte aérea quanto nas raízes em níveis acima do controle.

Tabela 5 - Massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC) de alface em função da interação entre *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio no experimento 1

Variáveis	Rizobactérias		Nitrogênio		CV (%)
	<i>B. subtilis</i>	<i>B. japonicum</i>	Ausência	Presença	
MFPAT (g)	Ausência	Ausência	202,97 <u>AA</u> a	199,80 <u>AA</u> a	16,19
	Presença	Ausência	210,65 <u>A</u> aa	164,81 <u>B</u> ab	
	Ausência	Presença	192,44 <u>AA</u> a	189,24 <u>AA</u> a	
	Presença	Presença	166,44 <u>A</u> ba	191,84 <u>A</u> aa	
MFPAC (g)	Ausência	Ausência	180,26 <u>AA</u> a	170,88 <u>AA</u> a	18,80
	Presença	Ausência	185,30 <u>A</u> aa	140,86 <u>B</u> ab	
	Ausência	Presença	167,30 <u>AA</u> a	166,98 <u>AA</u> a	
	Presença	Presença	142,41 <u>A</u> ba	167,26 <u>A</u> aa	

Para a mesma variável, médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, minúscula na linha, maiúscula sublinhada na coluna para a primeira e terceira médias e minúscula sublinhada na coluna para segunda e quarta médias, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES A, C, I e J.

Tanto a aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* na presença de *Azospirillum brasilense* e ausência de nitrogênio, quanto na ausência de *Azospirillum brasilense* e presença de nitrogênio reduziram a quantidade de nitrogênio acumulado na parte

aérea das plantas (18% e 13%, respectivamente). Por outro lado, a aplicação combinada de *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum* associada a adubação nitrogenada aumentou em 16% o acúmulo do nutriente (Tabela 6). Verifica-se, portanto, a aplicação do adubo nitrogenado na presença das rizobactérias proporcionou maior aproveitamento do mesmo e que a aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* reduziu o acúmulo de N na parte aérea das plantas tanto na ausência de *Azospirillum brasilense* quanto de nitrogênio.

A presença somente de *Bradyrhizobium japonicum* associada a adubação influenciou na absorção de nitrogênio pela planta, proporcionando efeito antagônico entre o rizóbio e o mineral. Borges (2016) também verificou em alface maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea, porém, utilizando somente rizóbios.

Tabela 6 - Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface em função da interação entre *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio no experimento 1

Variável	Rizobactérias		Nitrogênio		CV (%)
	<i>A. brasilense</i>	<i>B. japonicum</i>	Ausência	Presença	
NAPA (mg)	Ausência	Ausência	404,33 <u>AA</u> a	459,84 <u>AA</u> a	15,08
	Presença	Ausência	457,50 <u>Aa</u> a	421,08 <u>Aa</u> a	
	Ausência	Presença	413,59 <u>AA</u> a	398,46 <u>AB</u> a	
	Presença	Presença	377,30 <u>Ab</u> b	437,35 <u>Aa</u> a	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, minúscula na linha, maiúscula sublinhada na coluna para a primeira e terceira médias e minúscula sublinhada na coluna para segunda e quarta médias, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES A, E e P.

Entre as rizobactérias foi verificada interação tripla do efeito destas na massa seca da raiz (Tabela 7). A aplicação de cada uma na presença das outras duas reduziu esta variável em 42% para *Bacillus subtilis* e 47% tanto para *Bradyrhizobium japonicum* quanto para *Azospirillum brasilense*. Estes resultados podem estar relacionados ao distinto potencial de colonização radicular destas rizobactérias que ocasionou competição por nutrientes tanto entre os microrganismos quanto destes com a planta. Além disso, a produção em excesso de compostos pelos microrganismos pode ter influenciado negativamente no desenvolvimento das raízes reduzindo sua massa (BISWAS et al., 2000; SCHLINDWEIN et al., 2008).

Tabela 7 - Massa seca da raiz (MSR) de alface em função da interação entre *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* no experimento 1

Variável	<i>A. brasilense</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. japonicum</i>		CV (%)
			Ausência	Presença	
MSR (g)	Ausência	Ausência	0,88 AAa	1,04 AAa	22,52
	Presença	Ausência	0,95 Aaa	0,93 Aaa	
	Ausência	Presença	0,88 AAa	1,01 AAa	
	Presença	Presença	1,02 Aaa	0,54 Bbb	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, minúscula na linha, maiúscula sublinhada na coluna para a primeira e terceira médias e minúscula sublinhada na coluna para segunda e quarta médias, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES A, D e M.

## 4.2 EXPERIMENTO 2

Neste experimento verificou-se efeito isolado do nitrogênio para massas frescas e secas da parte aérea total e comercial, massa seca total da planta e da raiz, número de folhas total e nitrogênio acumulado na parte aérea (Tabela 8). Portanto, somente o número de folhas comercial não foi influenciado por este nutriente. Resultados similares para as massas secas da parte aérea e raiz também foram também observados por Cardoso et al. (2015) e massa fresca da parte aérea de alface por Milhomens et al. (2015). Por outro lado, Araújo et al. (2011) observaram que doses crescentes de nitrogênio influenciaram negativamente as variáveis massa seca da raiz, massa seca da parte aérea, massa fresca da parte aérea, número de folhas por planta e a produtividade.

Os incrementos verificados tanto nas variáveis referentes a produção quanto nas de crescimento resultantes da aplicação do nitrogênio devem-se provavelmente ao fato da quantidade deste nutriente disponível no substrato não ser suficiente para atender a demanda nutricional da planta por este elemento. Assim, a adição do mesmo resultou nos acréscimos observados. Portanto, a aplicação de nitrogênio em substrato comercial pode contribuir para potencializar seu efeito positivo em promover o crescimento da alface. Porém, esta situação pode ser antieconômica por representar aumento nos custos de produção da cultura visto que além da aquisição do substrato será necessário também obtenção do adubo nitrogenado.

Tabela 8 - Efeito do nitrogênio nas massas frescas e secas da parte aérea total (MFPAT e MSPAT) e comercial (MFPAC e MSPAC), massa seca total da planta (MST), massa seca da raiz (MSR), número de folhas total (NFT) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface no experimento 2

Nitrogênio	MFPAT	MFPAC	MSPAT	MSPAC	MST	MSR <sup>5</sup>	NFT <sup>6</sup>	NAPA
	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(unid.)	(mg)
Ausência	195,73 B	181,68 B	15,71 B	13,88 B	17,71 B	1,99 B	34,38 B	295,58 B
Presença	216,11 A	199,96 A	17,75 A	15,53 A	19,94 A	2,19 A	36,13 A	327,66 A
CV (%)	11,04	11,78	9,67	10,51	9,14	8,61	7,83	17,61

Para a mesma variável médias seguidas da mesma letra não diferem ( $p>0,05$ ) entre si pelo teste F. Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES B, F, G e H.

<sup>5</sup>Resultados originais cujos dados foram transformados em  $1/x$  para a análise de variância por não atenderem a homogeneidade de variância.

<sup>6</sup>Resultados originais cujos dados foram transformados em  $\sqrt[5]{x}$  para a análise de variância por não atenderem a normalidade dos erros.

Foi observado efeito isolado do *Bacillus subtilis* para as variáveis massas secas da parte aérea total e comercial, massa seca total da planta e da raiz (Tabela 9). A aplicação desta rizobactéria promoveu redução dessas variáveis provavelmente devido a competição entre planta e microrganismo pelos nutrientes contidos no substrato. Gomes et al. (2003) também não observaram aumento do crescimento das plantas embora este tenha sido verificado na fase inicial de produção de mudas. Por outro lado, Segato et al. (2016) observaram que a aplicação desta rizobactéria promoveu aumento para as massas fresca da parte aérea e radicular. Ferreira et al. (2013) também observaram em alface que a utilização desse microrganismo proporcionou maior crescimento das plantas, porém apenas quando aplicado até dose equivalente a aproximadamente 2% da massa do substrato.

Tabela 9 - Efeito do *Bacillus subtilis* nas massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST) e massa seca da raiz (MSR) de alface no experimento 2

<i>Bacillus subtilis</i>	MSPAT (g)	MSPAC (g)	MST (g)	MSR <sup>5</sup> (g)
Ausência	17,11 A	15,10 A	19,26 A	2,15 A
Presença	16,35 B	14,32 B	18,39 B	2,04 B
CV (%)	9,67	10,51	9,14	8,61

Para a mesma variável médias seguidas da mesma letra não diferem ( $p>0,05$ ) entre si pelo teste F. Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES B, F e G.

<sup>5</sup>Resultados originais cujos dados foram transformados em  $1/x$  para a análise de variância por não atenderem a homogeneidade de variância.

A aplicação isolada de *Bradyrhizobium japonicum* promoveu redução na massa seca da raiz (Tabela 10). Porém, a redução do crescimento radicular não necessariamente indica efeito negativo derivado da aplicação do microrganismo, podendo estar relacionado a qualidade química do substrato. Entretanto, Kozusny-Andreani e Andreani Junior (2014) observaram que esta mesma espécie de rizobactéria não interferiu no crescimento da raiz de alface, segundo os mesmos por falta de colonização radicular suficiente. Blanco et al. (2018) também não verificaram efeito em alface para esta variável derivado da aplicação de *Bradyrhizobium japonicum*.

Tabela 10 - Efeito do *Bradyrhizobium japonicum* na massa seca da raiz (MSR) de alface no experimento 2

<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	MSR <sup>5</sup> (g)
Ausência	2,17 A
Presença	2,02 B
CV (%)	8,61

Médias seguidas da mesma letra não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES B e G.

<sup>5</sup>Resultados originais cujos dados foram transformados em  $1/x$  para a análise de variância por não atenderem a homogeneidade de variância.

Verificou-se interação entre *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* para massa fresca da parte aérea comercial, número de folhas comercial e nitrogênio acumulado na parte aérea (Tabela 11). A aplicação de *Bacillus subtilis* na ausência de *Bradyrhizobium japonicum* reduziu a massa fresca comercial (9%) e o nitrogênio acumulado na parte aérea (21%). Por outro lado, a aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* na ausência de *Bacillus subtilis* diminuiu o número de folhas comercial (6%) e o nitrogênio acumulado na parte aérea (21%). Portanto, a aplicação de uma rizobactéria na presença da outra pode ter contribuído para atenuar o efeito negativo promovido por uma destas, visto que na presença das duas os resultados foram similares. Entretanto, Pishchik et al. (2016) verificou em alface que a utilização somente de *Bacillus subtilis* promoveu incrementos tanto na massa seca, quanto nos teores totais de nitrogênio acumulado na parte aérea e clorofila. Os autores associaram este efeito a produção de auxinas e maior concentração de solutos orgânicos (produtos da fotossíntese) nos vacúolos vegetais.

Tabela 11 - Massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC), número de folhas comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface em função da interação entre *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* no experimento 2

Variáveis	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>		CV (%)
		Ausência	Presença	
MFPAC (g)	Ausência	198,98 Aa	190,02 Aa	11,78
	Presença	180,92 Ba	193,34 Aa	
NFC (unid.)	Ausência	30,30 Aa	28,45 Ab	8,70
	Presença	29,05 Aa	29,60 Aa	
NAPA (mg)	Ausência	360,63 Aa	285,79 Ab	17,61
	Presença	283,28 Ba	316,78 Aa	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES B, F, H, Q, R e T.

Verificou-se efeito da interação entre *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e nitrogênio para número de folhas comercial e nitrogênio acumulado na parte aérea (Tabela 12). Nesta verificou-se que a aplicação de *Azospirillum brasilense* na ausência de *Bacillus subtilis* e nitrogênio reduziu o número de folhas comercial, assim como a aplicação de *Bacillus subtilis* na ausência dos outros dois fatores. Entretanto, verificou-se aumento desta variável quando foi combinada a adubação nitrogenada ao *Azospirillum brasilense* na ausência de *Bacillus subtilis*. Neste caso pode-se dizer que a presença do microrganismo proporcionou melhor aproveitamento do nutriente pela planta incrementando o número de folhas.

Para nitrogênio acumulado na parte aérea observou-se que a aplicação de *Bacillus subtilis* na ausência de *Azospirillum* e nitrogênio reduziu o acúmulo do nutriente. Situação similar ocorreu para *Azospirillum brasilense* na presença dos outros dois fatores. Entretanto, a adubação nitrogenada associada ao *Bacillus subtilis* na ausência de *Azospirillum brasilense* promoveu maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea. Além disso, a presença dos três fatores: rizobactérias e nitrogênio, não interferiu no número de folhas. Os resultados obtidos neste trabalho podem ter sido devido ao alto potencial de colonização do *Bacillus subtilis* promovendo, assim, maior quantidade de compostos sintetizados capazes de contribuir para o melhor aproveitamento do fertilizante aplicado, aumentando consequentemente o acúmulo do nutriente na parte aérea.



Tabela 12 – Número de folhas comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface em função da interação entre *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e nitrogênio no experimento 2

Variáveis	Rizobactérias		Nitrogênio		CV (%)
	<i>A. brasilense</i>	<i>B. subtilis</i>	Ausência	Presença	
NFC (unid.)	Ausência	Ausência	30,50 <u>AA</u> a	29,00 <u>AA</u> a	8,70
	Presença	Ausência	27,80 <u>B</u> ab	30,20 <u>A</u> aa	
	Ausência	Presença	28,10 <u>AB</u> a	29,90 <u>AA</u> a	
	Presença	Presença	29,50 <u>A</u> aa	29,80 <u>A</u> aa	
NAPA (mg)	Ausência	Ausência	320,51 <u>AA</u> a	319,57 <u>AA</u> a	17,61
	Presença	Ausência	313,51 <u>A</u> aa	339,25 <u>A</u> aa	
	Ausência	Presença	266,85 <u>AB</u> b	356,49 <u>AA</u> a	
	Presença	Presença	281,46 <u>A</u> aa	295,32 <u>B</u> aa	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, minúscula na linha, maiúscula sublinhada na coluna para a primeira e terceira médias e minúscula sublinhada na coluna para segunda e quarta médias, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Análise de variância e seus pressupostos podem ser observados nos APÊNDICES B, H, S e U.

## 5 CONCLUSÕES

*Azospirillum brasilense* aplicado no solo aumenta o número de folhas comercial da alface cultivar Vera.

*Bradyrhizobium japonicum* aplicado ao solo na presença de *Bacillus subtilis* e ausência de nitrogênio reduz as massas frescas total e comercial da alface cultivar Vera.

*Bradyrhizobium japonicum* aplicado ao solo na ausência de nitrogênio reduz a massa seca da raiz e o número de folhas total e comercial da alface cultivar Vera.

*Azospirillum brasilense* aplicado ao solo na presença de *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada reduz a massa seca de raiz da alface cultivar Vera.

*Bacillus subtilis* aplicado ao solo na presença de adubação nitrogenada reduz a massa seca de raiz da alface cultivar Vera.

O *Bacillus subtilis* aplicado tanto no solo quanto em substrato comercial reduz o crescimento da alface cultivar Vera.

A aplicação de nitrogênio em substrato comercial com características similares ao utilizado contribui para aumentar o crescimento e produção da alface cultivar Vera.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação de rizobactérias ao solo ou substrato comercial pode resultar em não interferência, benefícios ou prejuízos ao crescimento e produção da planta cultivada. A natureza e intensidade deste efeito depende fundamentalmente das espécies microbianas e vegetal consideradas como, também, das características físicas, químicas e biológicas do material utilizado no cultivo. Portanto, os resultados obtidos em ambos experimentos são relacionados apenas às particularidades dos mesmos. Assim, a modificação de apenas um dos componentes deste sistema pode já ser suficiente para que se obtenham resultados completamente diferentes.

Embora os resultados derivados da aplicação das rizobactérias de forma isolada e/ou combinada de *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum* não tenham sido promissores é importante destacar que estas espécies podem contribuir com o crescimento e produção de alface, inclusive dessa mesma cultivar. Entretanto, o *Bacillus subtilis* provavelmente não seja recomendável em função de seu evidente efeito negativo manifestado no crescimento e produção das plantas cultivadas tanto no solo quanto em substrato comercial.

O fato da adubação nitrogenada aplicada ao substrato comercial ter aumentado o crescimento das plantas, embora seja positivo, pode contribuir para ampliar o custo de produção da cultura. Portanto, a aplicação de fertilizante nitrogenado em substrato comercial deve ser considerada apenas se esta não representar acréscimo de custo não compensável em retorno econômico.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, T. C. S. de; ALBUQUERQUE NETO, A. A. R. de. Concentração e marcha de absorção de nutrientes minerais e acúmulo de matéria fresca na alface cultivada em três substratos. *In*: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS – FERTBIO, 17., 2008, Londrina. **Anais [...]** Londrina: Embrapa Soja, 2008. p. 265.
- ANTOUN, H.; BEAUCHAMP, C. J.; GOUSSARD, N.; CHABOT, R.; LALANDE, R. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). **Plant and Soil**, The Hague, v. 204, n. 1, p. 57-67, July 1998.
- APONTE, A.; CASTILLO, O.; CABRERA, 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. Apr./June 2017.
- ARAÚJO, A. S. F. de; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, F. F. de. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N<sub>2</sub> e o crescimento das plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 40, n. 1, p. 182-185, jan./fev. 2010.
- ARAÚJO, E. de O.; MERCANTE, F. M.; VITORINO, A. C. T. Effect of nitrogen fertilization associated with inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* on corn. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 10, n. 3, p. 137-145, Jan. 2015.
- ARAÚJO, F. F. de; CARMONA, F. G.; TIRITAN, C. S.; CRESTE, J. E. Fixação biológica de N<sub>2</sub> no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 535-540, out./dez. 2007.
- ARAÚJO, F. F. de. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 456-462, mar./abr. 2008.
- ARAÚJO, F. F. de; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1633-1643, set. 1999.
- ARAÚJO, F. F. de; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 39, n. 5, p. 1558-1561, ago. 2009.
- ARAÚJO NETO, S. E. de; SILVA, E. M. N. C. de; FERREIRA, R. L. F.; CECÍLIO FILHO, A. B. Rentabilidade da produção orgânica de alface em função do ambiente, preparo do solo e época de plantio. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 4, p. 783-791, out./dez. 2012.

ARAÚJO, F. F. de; MENEZES, D. Indução de resistência a doenças foliares em tomateiro por indutores biótico (*Bacillus subtilis*) e abiótico (Acibenzolar-S-Metil). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 3, p. 169-172, jul./set. 2009.

ARAÚJO, W. F.; SOUSA, K. T. S. de; VIANA, T. V. de A.; AZEVEDO, B. M. de; BARROS, M. M.; MARCOLINO, E. Resposta da alface a adubação nitrogenada. **Revista Agro@ambiente On-line**, Boa Vista, RR, v. 5, n. 1, p. 12-17, jan./abr. 2011.

ARKHIPOVA, T. N.; VESELOV, S. U.; MELENTIEV, A. I.; MARTYNENKO, E. V.; KUDOYAROVA, G. R. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 272, n. 1/2, p. 201-209, May 2005.

BALANZA, V.; MARTÍNEZ, J. A.; CONESA, E.; EGEA-GILABERT, C.; NIÑIROLA, D.; LÓPEZ-MARÍN, J.; GONZÁLEZ, A.; FERNÁNDEZ, J. A. Effect of PGPR application and nitrogen doses on baby leaf lettuce grown in a floating system. **Acta Horticulturae**, Lovaina, v. 952, n. 1, p. 679-687, Jan. 2012.

BETTIOL, W.; GARIBALDE, A.; MIGHELI, Q. *Bacillus subtilis* for the control of powdery mildew on cucumber and zucchini squash. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 2, p. 281-287. May/Aug. 1997.

BEZERRA NETO, F.; ROCHA, R. C. C.; NEGREIROS, M. Z.; ROCHA, H. C.; QUEIROGA, R. C. F. Produtividade de alface em função de condições de sombreamento, temperatura e luminosidade elevadas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p.189-192. abr./jun. 2005.

BISWAS, J. C.; LADHA, J. K.; DAZZO, F. B.; YANNI, Y. G.; ROLFE, B. G. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. **Agronomy Journal**, Madison, v. 92, n. 5, p. 880-886, Sept. 2000.

BIZARRO, M. J. **Simbiose e variabilidade de estirpes de *Bradyrhizobium* associadas à cultura da soja em diferentes manejos de solo**. Orientador: Pedro Alberto Selbach. 2004. 107 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BLANCO, E. L.; CASTRO, Y.; OLIVO, A.; SKWIERRINSKI, R.; BARRIOS, F. M. Germinación y crecimiento de plántulas de pimentón y lechuga inoculadas con rizobios e identificación molecular de las cepas. **Bioagro**, Barquisimeto, v. 30, n. 3, p. 207-218. Sept./Dic. 2018.

BORGES, C. de S. **Rizóbios como promotores de crescimento de plantas olerícolas**. Orientador: Enilson Luiz Saccol de Sá. 2016. 81 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

BRAGA JUNIOR, G. M.; CHAGAS, L. F. B.; AMARAL, L. R. O.; MILLER, L. O.; CHAGAS JUNIOR, A. F. Efficiency of inoculation by *Bacillus subtilis* on soybean biomass and productivity. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 13, n. 4, p. 1-6, out./dez. 2018.

BREEDT, G.; LABUSCHAGNE, N.; COUTINHO, T. A. Seed treatment with selected plant growth-promoting rhizobacteria increases maize yield in the field. **Annals of Applied Biology**, Massachusetts, v. 171, n. 2. p. 229-236, Sept. 2017.

CACCIARI, I.; LIPPI, D.; PIETROSANTI, T.; PIETROSANTI, W. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 115, n. 1, p. 151-153, Mar. 1989.

CARDOSO, F. L.; ANDRIOLO, J. L.; DAL PICIO, M.; PICCIN, M.; SOUZA, J. M. Nitrogen on growth and yield of lettuce plants grown under root confinement. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 4, p. 422-427, out./dez. 2015.

CHUEIRE, L. M. O.; BANGEL, E. V.; MOSTASSO, F. L.; CAMPO, R. J.; PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M. Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no sequenciamento do gene 16s rRNA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, n. 5, p. 833-840, set./out. 2003.

CIPRIANO, M. A. P.; PATRÍCIO, F. R. A.; FREITAS, S. dos S. Potencial de rizobactérias na promoção de crescimento e controle da podridão radicular em alface hidropônica. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 1, p. 51-57, jan./mar. 2013.

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.

COLO, J.; HAJNAL-JAFARI, T. I.; DURIC, S.; STAMENOV, D.; HAMIDOVIC, S. Plant growth promotion rhizobacteria in onion production. **Polish Journal of Microbiology**, Varsóvia, v. 63, n. 1, p. 83-88, Jan./Dec. 2014.

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, n. 4, p. 275-281, out./dez. 2010.

COUTO, A. L.; MOREIRA, D. A.; ARAÚJO JUNIOR, P. V. de. Produção de mudas de cultivares de alface utilizando duas espumas fenólicas em Altamira, Pará. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 10, n. 1, p. 201-207, jan./mar. 2015.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1023-1029, out. 2013.

DELLA VECCHIA, P. T.; KOCH, P. S.; KIKUCHI, M. Vera: Nova cultivar de alface crespa resistente ao florescimento prematuro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 171, abr./jun. 1999.

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

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 22, n. 2, p.107-149, Mar./Apr. 2003.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 186 p.

FARIAS, M. F. de; MENESES, K. C. de; SOARES, F. A.; SANTOS, R. A. dos; DIAS, R. M.; BOMFIM, M. A. D. Produtividade de cultivares de alface sob adubação nitrogenada e borratada. **Acta Iguazu**, Cascavel, PR, v. 4, n. 3, p. 116-125, jul./set. 2015.

FASCIGLIONE, G.; CASANOVAS, E. M.; QUILLEHAUQUY, V.; YOMMI, A. K.; GOÑI, M. G.; ROURA, S. I.; BARSSI, C. A. *Azospirillum* inoculation effects on growth, product quality and storage life of lettuce plants grown under salt stress. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 195, n. 1, p. 154-162, Nov. 2015.

FERNANDES, C.; CORÁ, J. E. Substratos hortícolas: esses materiais são fundamentais para a fixação do sistema radicular e para dar suporte às plantas. **Cultivar Hortalças e Frutas**, Pelotas, v. 2, n. 10, p. 32-34, out./nov. 2001.

FERNANDES, R. H.; LOPES, E. A.; VIEIRA, B. S.; BONTEMPO, A. F. Controle de *Meloidogyne javanica* na cultura do feijoeiro com isolados de *Bacillus* spp. **Revista Tropica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 7, n. 1, jan./jun. 2013.

FERREIRA, J. T. P.; SANTOS, T. M. C.; ALBUQUERQUE, L. S.; SANTOS, J. V.; CARDOSO FILHO, J. A.; RAMALHO NETO, C. E. Isolation and selection of growth-promoting bacteria of the genus *Bacillus* and its effect on two varieties of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **International Research Journal of Microbiology**, Sapele, v. 2, n. 2, p. 70-78, Feb. 2011.

FERREIRA, N. C.; MAZZUCHELLI, R. de C. L.; MAZZUCHELLI, E. H. L.; ARAUJO, F. F. de. Crescimento de mudas de alface em substrato associado a doses crescentes de *Bacillus subtilis*. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 9, n. esp. p. 36-42, jul./dez. 2013.

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.

FURLANI, P. R.; PURQUERIO, L. F. V. Avanços e desafios na nutrição de hortaliças. *In*: PRADO, R. M.; CECILIO FILHO, A. B.; CORREIA, M. A. R.; PUGA, A. P. **Nutrição de plantas: diagnose foliar em hortaliças**. Jaboticabal: FCAV/CAPES/FUNDUNESP, 2010, p. 45-62.

FRAZÃO, J. J.; SILVA, A. R. da; OLIVEIRA, V. A.; CORRÊA, R. S. Fertilizantes nitrogenados de eficiência aumentada e ureia na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 12, p. 1262-1267, dez. 2014.

FREITAS, S. S.; MELO, 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, fev. 2003.

GAGNÉ, S.; DEHBI, L.; QUÉRÉ, D. le; CAYER, F.; MORNIN, G. L.; LEMAY, R.; FOURNIER, N. Increase of greenhouse tomato fruit yields by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculated into the peat-based growing media. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 25, n. 2, p. 269-212, Feb. 1993.

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. 19-28. ene./abr. 2016.

GOMES, A. M. A.; MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; MESQUITA, J. C. P. Isolamento, seleção de bactérias e efeito da utilização de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 699-703, out./dez. 2003.

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

HAHN, L.; SÁ, E. L. S.; MACHADO, R. G.; SILVA, W. R.; OLDRA, S.; DAMASCENO, R. G.; SCHÖNHOFEN, A. Growth promotion in maize with diazotrophic bacteria in succession with ryegrass and white clover. **American and Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science**, Dubai, v. 14, n. 1, p. 11-16, Jan. 2014.

HARTHMANN, O. E. L.; MÓGOR, A. F.; WORDELL FILHO, J. A.; LUZ, W. C. da; BIASI, L. A. Tratamento de sementes com rizobactérias na produção de cebola. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 39, n. 9, p. 2533-2538. dez. 2009.

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. Embrapa Soja: Londrina, 2011. 36 p. (Documentos, 325).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Documentos, 283).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 48 p. (Circular técnica, 35/ Circular técnica,13).

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 Brazil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 331, n. 6, p. 413-425, June 2010.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, P. H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. *In*: WERNER, D.; NEWTON, W. (ed.). **Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology and the environment**. Dordrecht: Springer, 2005. chap. 3, p. 25-42.



KATAYAMA, M. Nutrição e adubação de alface, chicória e almeirão. *In*: FERREIRA, M. E.; CASTELLANE, P. D.; CRUZ, M. C. P. (ed.). **Nutrição e adubação de hortaliças**. Piracicaba: Potafos, 1993. cap. 4, p.141-148.

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

KLEIN, C. Utilização de substratos na produção de substratos alternativos para a produção de mudas. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, Curitiba, v. 4, n. 3, p. 43-63, jan./mar. 2015.

KLOEPPER, J. W.; SCHROTH, M. N. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 71, n. 6, p. 1020-1024, June 1981.

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.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. de. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 4, n. 2, p. 12, maio/ago. 2010.

LAZZARETTI, E.; MELO, I. S. de. **Influência de *Bacillus subtilis* na promoção de crescimento de plantas e nodulação de raízes de feijoeiro**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 2005. 21 p. (Documentos, 28).

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

LIMA, A. A. de; VENTUROSOS, L. dos R.; SILVA, B. A. A.; 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.

LIMA, F. F. de. ***Bacillus subtilis* e níveis de nitrogênio sobre o desenvolvimento e a produtividade do milho**. Orientador: Ademir Sérgio Ferreira de Araújo. 2010. 54 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.

LOPES, V. R. **Melhoramento genético de cana-de açúcar em associação com bactérias promotoras de crescimento vegetal**. Orientador: João Carlos Bessalho Filho. 2013. 133 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

LUCON, C. M. M.; AKAMATSU, M. A.; HAKAKAVA, R. Promoção de crescimento e controle de tombamento de plântulas de pepino por rizobactérias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 6, p. 691-697, jun. 2008.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MANGMANG, J. S.; DEAKER, R.; ROGERS, G. Early seedling growth response of lettuce, tomato and cucumber to *Azospirillum brasilense* inoculated by soaking and drenching. **Horticultural Science**, Prague, v. 42, n. 1, p. 37-46, Jan./Mar. 2015.

MANTOVANI, J. R.; FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. Produção de alface e acúmulo de nitrato em função da adubação nitrogenada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 758-762, jul./set. 2005.

MARIANO, R. de L. R.; SILVEIRA, E. B. da; ASSIS, S. M. P. de; 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 Agrônoma**, Recife, v. 1, n. 1, p. 89-111, jan./dez. 2004.

MARTINS, S. A. **Desenvolvimento de feijão-comum tratado com *Bacillus subtilis***. Orientador: Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros. 2013. 58 f. Dissertação (Fitopatologia Agrícola) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MELO, I. S. de. **Rizobactérias**. Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTAG01\\_53\\_210200792814.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_53_210200792814.html). Acesso em: 7 set. 2018.

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

MENDONÇA, M. M.; URQUIAGA, S. S.; REIS, V. M. Variabilidade genotípica de milho para acumulação de nitrogênio e contribuição da fixação biológica de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 11, p. 1681-1685, nov. 2006.

MENEZES JÚNIOR, F. O. G.; FERNANDES, H. S.; MAUCH, C. R.; SILVA, J. B. Caracterização de diferentes substratos e seu desempenho na produção de mudas de alface em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 164-170, nov. 2000.

MILHOMENS, K. K. B.; NASCIMENTO, I. R. do; TAVARES, R. de C.; FERREIRA, T. A.; SOUZA, M. E. Avaliação de características agrônomicas de cultivares de alface sob diferentes doses de nitrogênio. **Revista Verde**, Pombal, v. 10, n. 1, p. 143-148, jan./mar. 2015.

MIRANDA, L. F. dos S. **Rizóbio e nitrogênio na promoção do crescimento em alface**. Orientador: Salomão Lima Guimarães. 2014. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrícola Ambiental) – Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Federal do Mato Grosso, Rondonópolis, 2014.

MOHAMED, H. I.; GOMAA, E. Z. Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. **Photosynthetica**, Lysolaje, v. 50, n. 2, p. 263-272, Apr./June 2012.

MORAES, I. M. V. de. **Cultivo de hortaliças**. Rio de Janeiro: Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, 2006. 27 p. (Dossiê técnico, 1).

MORAIS, T. P. de; BRITO, C. H. de; BRANDÃO, A. M.; REZENDE, W. S. Inoculation of maize with *Azospirillum brasilense* in the seed furrow. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 2, p. 290-298, abr./jun. 2016.

NASCIMENTO, M. V.; SILVA JUNIOR, R. L.; FERNANDES, L. R.; XAVIER, R. C.; BENETT, K. S. S.; SELEGUINI, A.; BENETT, C. G. S. Manejo da adubação nitrogenada nas culturas de alface, repolho e salsa. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 4, n. 1, p. 65-71, jan./mar. 2017.

NOUMAVO, P. A.; AGBODJATO, N. A.; BABA-MOUSSA, F.; ADJANOHOON, A.; BABA-MOUSSA, L. Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable agriculture. **African Journal of Biotechnology**, Sapele, v. 15, n. 27, p. 1452-1463, July 2016.

OLIVEIRA, A. L. M. de; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 40 p. (Documentos, 161).

OSÓRIO FILHO, B. D.; BINZ, A.; LIMA, R. F.; GIONGO, A.; SÁ, E. L. S. Promoção de crescimento de arroz por rizóbios em diferentes níveis de adubação nitrogenada. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 46, n. 3, p. 478-485, mar. 2016.

OSÓRIO FILHO, B. D.; GANO, K. A.; BINZ, A.; LIMA, R. F.; AGUILAR, L. M.; RAMIREZ, A.; CABALLERO-MELLADO, J.; SÁ, E. L. S.; GIONGO, A. Rhizobia enhance growth in rice plants under flooding conditions. **American and Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science**, Dubai, v. 14, n. 8, p. 707-718, Aug. 2014.

OSÓRIO FILHO, B. D.; OLIVEIRA NETA, A. N. de; ROSA, C. A. da; HUFF, F. H.; RICHA, G. C.; DAMASCENO, R.; SÁ, E. L. S. de. Capacidade de rizóbios na promoção de crescimento de plantas de alface. *In*: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AGROECOLOGIA, 5., 2015, La Plata. **Resumos [...] La Plata: Universidad Nacional de La Plata, 2015. p. 1-5.**

PAPADOPOULOS, I. Tendências da fertirrigação. *In*: FOLEGATTI, M. V. (coord.). **Fertirrigação: citrus, flores e hortaliças**. Guaíba: Agropecuária, 1999. p. 11-155.

PISHCHIK, V. N.; VOROBYOV, N. I.; WALSH, O. S.; SURIN, V. G.; KHOMYAKOV, Y. V. Estimation of synergistic effect of humic fertilizer and *Bacillus subtilis* on lettuce plants by reflectance measurements. **Journal of Plant Nutrition**, Oxfordshire, v. 39, n. 8, p. 1074-1086, July 2016.

PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; PERES, A. R.; FRANCO, A. A.; GITTI, D. de C. Inoculação via foliar com *Azospirillum brasilense* associada a doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho safrinha. *In: SEMINÁRIO NACIONAL MILHO SAFRINHA*, 12., 2013, Dourados. **Resumos [...]** Dourados: Embrapa, 2013. p. 1-6.

PRATHAP, M.; KUMARI, B. D. R. A critical review on plant growth promoting rhizobacteria. **Journal of Plant Pathology and Microbiology**, Nevada, v. 6, n. 4, p. 1-4, Apr. 2015.

RADIN, B.; REISSER JÚNIOR, C.; MATZENAUER, R.; BERGAMASCHI, H. Crescimento de cultivares de alface conduzidas em estufa e a campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 178-181, abr./jun. 2004.

RADWAN, T. EL-S. EL-D.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Aeração e adição de sais na produção de ácido indolacético por bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 10, p. 997-1004, out. 2005.

RAUPACH, G. S.; KLOEPPER, J. W. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 88, n. 11, p. 1158-1164, Nov. 1998.

REIS JUNIOR, F. B. dos; SILVA, L. G. da; REIS, V. M.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 5, p. 985-994, maio 2000.

REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, C. J. da; FIGUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p. 214-226, set./dez. 2013.

RESENDE, F. V.; SAMINÊZ, T. C. O.; VIDAL, M. C.; SOUZA, R. B. de; CLEMENTE, F. M. V. **Cultivo de alface em sistema orgânico de produção**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007. 16 p. (Circular técnica, 56).

RESENDE, G. M.; ALVARENGA, M. A. R.; YURI, J. E.; SOUZA, R. J. Doses de nitrogênio e molibdênio no rendimento e teor de micronutrientes em alface americana. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 266-270. jul./set. 2010.

RODRIGUES, E. P.; RODRIGUES, L. S.; OLIVEIRA, A. L. M. de; BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K. R. dos S.; URQUIAGA, S.; VERONICA MASSENA REIS, V. M. *Azospirillum amazonense* inoculation: effects on growth, yield and N<sub>2</sub> fixation of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Soil**, The Hague, v. 302, n. 1, p. 249-261, Jan. 2008.

RODRIGUES, L. F. O. S.; GUIMARÃES, V. F.; SILVA, M. B. da; PINTO JUNIOR, A. S.; KLEIN, J.; COSTA, A. C. P. R. da. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetal. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 1, p. 31-37, jan. 2014.

RODRIGUES, M.; ARF, O.; GARCIA, N. F. S.; PORTUGAL, J. R.; BARBIERI, M. F. Inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em cultivares de arroz de terras altas irrigados por aspersão. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 1234-1241. jan./jul. 2015.

ROSOLEM, C. A.; FOLONI, J. S. S.; OLIVEIRA, R. H. Dinâmica do nitrogênio no solo em razão da calagem e adubação nitrogenada, com palha na superfície. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 301-309, abr./jun. 2003.

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

SALANTUR, A.; OZTURK, A.; AKTEN, S. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to inoculation with rhizobacteria. **Plant Soil Environment**, Praga, v. 52, n. 3, p. 111-118, Mar. 2006.

SANTOS, B. T. dos; HUFF, F. H.; ROSA, C. A. da; MACHADO, J. M.; LOPES, P. T.; PRADE, V. M.; OLIVEIRA NETA, A. N. de; OSÓRIO FILHO, B. D. Interação entre isolados de rizóbios e genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, Porto Alegre, v. 3, n. 3, p. 600-616, dez. 2017.

SANTOS, R. C. dos. **Interação entre rúcula (*Eruca sativa* Miller) e rizobactéria (*Bacillus subtilis* GB03):** efeitos na ovoposição e desenvolvimento larval da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Orientador: Paul Whitaker Paré. 2016. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

SCHLINDWEIN, G.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; AZAMBUJA, A. C.; GRANADA, C. E.; GABIATTI, N. C.; PRATES, F.; STUMPF, R. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 38, n. 3, p. 658-664, maio/jun. 2008.

SEGATO, S. B.; BETTIO, D. P.; CACEFO, V.; ARAÚJO, F. F. de. Controle biológico de nematóides em alface com *Bacillus subtilis*. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 12, n. esp., p. 23-29, jul./dez. 2016.

SEGOVIA, J. F. O.; ANDRIOLO, J. L.; BURIOL, G. A.; SCHNEIDER, F. M. Comparação do crescimento e desenvolvimento da alface (*Lactuca sativa* L.) no interior e no exterior de uma estufa de polietileno em Santa Maria, RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 27, n. 1, p. 37-41, jan./mar. 1997.

SEHATA, S. M.; SCHMIDHALTER, U.; VALŠÍKOVÁ, M.; JUNGE, H. Effect of bio-stimulants on yield and quality of head lettuce grown under two sources of nitrogen. **Gesunde Pflanzen**, Berlim, v. 68, n. 1, p. 33-39, Mar. 2016.

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

SILVA, E. M. N. C. de P. da; FERREIRA, R. L. F.; ARAÚJO NETO, S. E. de; TAVELLA, L. B.; SOLINO, A. J. S. Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 242-245, abr./jun. 2011.

SILVA, E. M. N. C. de P. da. **Produção e qualidade de alface orgânica cultivada com diferentes preparos do solo e sombreado com latada de maracujá, plástico e tela, em Rio Branco-Acre.** Orientador: Sebastião Elviro de Araújo Neto. 2010. 86 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, 2010.

SILVA, F. A. de M.; BÔAS, R. L. V.; SILVA, R. B. Resposta da alface à adubação nitrogenada com diferentes compostos orgânicos em dois ciclos sucessivos. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 131-137, jan./mar. 2010.

SILVA, F. C. da; BOARETTO, A. E.; BERTON, R. S.; ZOTELLI, H. B.; PEXE, C. A.; BARNARDES, E. M. Efeito de lodo de esgoto na fertilidade de um Argissolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 5, p. 831- 840, set./out. 2001.

SOTTERO, A. N. **Colonização radicular e promoção de crescimento vegetal por rizobactérias**. Orientadora: Sueli dos Santos Freitas. 2003. 47 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2003.

SOUSA, J. A. de; LÉDO, F. J. da S.; SILVA, M. R. da. **Produção de mudas de hortaliças em recipientes**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 1997. 19 p. (Circular técnica, 19).

SOUZA, E. de F. C. de; SORATTO, R. P.; PAGANI, F. A. Aplicação de nitrogênio e inoculação com rizóbio em feijoeiro cultivado após milho consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 4, p. 370-377, abr. 2011

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.

STEINER, F.; COSTA, M. S. S. de M.; COSTA, L. A. de M.; PIVETTA, L. A.; CASTOLDI, G. Atributos químicos do solo em diferentes sistemas de culturas e fontes de adubação. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v. 4, n. 1, p. 16-27, jan./abr. 2011.

STEINER, F.; ECHER, M. de M.; GUIMARÃES, V. F. Produção de alface 'Piraroxa' afetada pela adubação nitrogenada com fertilizante orgânico e mineral. **Scientia Agraria Paranaensis**, Cascavel, PR, v. 11, n. 3, p. 77-83, jul./set. 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos/Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174 p.

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, May 1979.

TISCHER, J. C.; SIQUEIRA NETO, M. Avaliação da deficiência de macronutrientes em alface crespa. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, Campo Grande, v. 16, n. 2, p. 43-57, jul./dez. 2012.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 967 p.

TRANI, P. E.; FELTRIN, D. M.; POTT, C. A.; SCHWINGEL, M. Avaliação de substratos para produção de mudas de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 256-260, abr./jun. 2007.

TRANI, P. E.; NOVO, M. do 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.

TURNER, J. T.; BACKMAN, P. A. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. **Plant Disease**, Minnesota, v. 75, n. 4, p. 347-353, Apr. 1991.

VRIES, I. M. de. Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Heidelberg, v. 44, n. 2, p. 165-174, Apr./May 1997.

YURI, J. E. **Produção, nutrição e conservação pós colheita da alface tipo americana, cv. Raider, no verão e no inverno, em função da aplicação de nitrogênio e potássio em cobertura**. Orientador: Rovilson José de Souza. 2004. 139 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

YURI, J. E.; MOTA, J. H.; RESENDE, G. M. de; SOUZA, R. S. de. Nutrição e adubação da cultura da alface. *In*: PRADO, R. de M.; CECÍLIO FILHO, A. B. (ed.). **Nutrição e adubação de hortaliças**. Jaboticabal: FCAV/CNPQ, 2016. cap. 21, p. 559-577.

## **APÊNDICES**



APÊNDICE A – Pressupostos da análise de variância pelos testes de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros) e Cochran (homogeneidade das variâncias) das variáveis massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC), massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST), massa seca da raiz (MSR), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface cultivar Vera no experimento 1

Variáveis	Shapiro-Wilk		Cochran	
	$W_c$	H0	$C_c$	H0
MFPAT	0,975	NR	0,171	NR
MFPAC	0,981	NR	0,190	NR
MSPAT	0,922	NR	0,209	NR
MSPAC	0,989	NR	0,181	NR
MST	0,908	NR	0,205	NR
MSR	0,966	NR	0,185	NR
NFT	0,980	NR	0,151	NR
NFC	0,981	NR	0,175	NR
NAPA	0,988	NR	0,172	NR

NR - não rejeita-se a hipótese da nulidade (H0); R - rejeita-se a hipótese da nulidade (H0).

APÊNDICE B – Pressupostos da análise de variância pelos testes de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros) e Cochran (homogeneidade das variâncias) das variáveis massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC), massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST), massa seca da raiz (MSR), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface cultivar Vera no experimento 2

Variáveis	Transformações	Shapiro-Wilk		Cochran	
		$W_c$	H0	$C_c$	H0
MFPAT	-	0,968	NR	0,217	NR
MFPAC	-	0,966	NR	0,209	NR
MSPAT	-	0,971	NR	0,161	NR
MSPAC	-	0,973	NR	0,150	NR
MST	-	0,968	NR	0,150	NR
MSR	-	0,964	NR	0,291	R
MSR	1/x	0,961	NR	0,223	NR
NFT	-	0,949	R	0,117	NR
NFT	$\sqrt[5]{x}$	0,962	NR	0,117	NR
NFC	-	0,977	NR	0,163	NR
NAPA	-	0,989	NR	0,163	NR

NR - não rejeita-se a hipótese da nulidade (H0); R - rejeita-se a hipótese da nulidade (H0).

APÊNDICE C – Análise de variância das variáveis massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC), e massa seca da parte aérea total (MSPAT) da alface Vera, avaliada no experimento 1

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		MFPAT	MFPAC	MSPAT
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	3673,5407 <sup>ns</sup>	7673,5990**	4,0816 <sup>ns</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs)	1	3214,7605 <sup>ns</sup>	3074,0841 <sup>ns</sup>	34,4663**
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (Bj)	1	1829,4976 <sup>ns</sup>	1389,5279 <sup>ns</sup>	2,6901 <sup>ns</sup>
Nitrogênio (N)	1	898,0010 <sup>ns</sup>	1072,7463 <sup>ns</sup>	7,9569 <sup>ns</sup>
Ab x Bs	1	2410,4395 <sup>ns</sup>	2068,2729 <sup>ns</sup>	0,1471 <sup>ns</sup>
Ab x Bj	1	28,8120 <sup>ns</sup>	29,9024 <sup>ns</sup>	4,9055 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	114,7444 <sup>ns</sup>	65,7938 <sup>ns</sup>	13,4070 <sup>ns</sup>
Bs x Bj	1	19,1590 <sup>ns</sup>	0,1684 <sup>ns</sup>	10,8708 <sup>ns</sup>
Bs x N	1	247,9136 <sup>ns</sup>	121,9933 <sup>ns</sup>	3,3908 <sup>ns</sup>
Bj x N	1	6336,9780*	7672,8155**	7,6818 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj	1	3657,2954 <sup>ns</sup>	3797,9058 <sup>ns</sup>	0,0679 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x N	1	2834,4615 <sup>ns</sup>	3715,6743 <sup>ns</sup>	1,4019 <sup>ns</sup>
Ab x Bj x N	1	705,2563 <sup>ns</sup>	1171,1386 <sup>ns</sup>	7,3508 <sup>ns</sup>
Bs x Bj x N	1	6349,8007*	4535,3190*	0,4162 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj x N	1	113,4547 <sup>ns</sup>	52,6015 <sup>ns</sup>	0,6570 <sup>ns</sup>
Erro	64	943,5556	963,7977	3,7988
Total	79	-	-	-
CV (%)		16,19	18,80	16,18

<sup>ns</sup> não significativo ( $p > 0,05$ ); \* significativo a 5% ( $0,01 < p \leq 0,05$ ); \*\* significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ ).  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Bs: *Bacillus subtilis*; Bj: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio  
 CV: coeficiente de variação

APÊNDICE D – Análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST) e massa seca da raiz (MSR) da alface Vera, avaliada no experimento 1

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		MSPAC	MST	MSR
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	0,6125 <sup>ns</sup>	5,9351 <sup>ns</sup>	0,1730*
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs)	1	21,5904*	39,1580**	0,1496 <sup>ns</sup>
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (Bj)	1	0,0470 <sup>ns</sup>	3,5154 <sup>ns</sup>	0,0551 <sup>ns</sup>
Nitrogênio (N)	1	6,4752 <sup>ns</sup>	9,7650 <sup>ns</sup>	0,0924 <sup>ns</sup>
Ab x Bs	1	0,0198 <sup>ns</sup>	0,0023 <sup>ns</sup>	0,1125 <sup>ns</sup>
Ab x Bj	1	4,0320 <sup>ns</sup>	9,5289 <sup>ns</sup>	0,7605**
Ab x N	1	7,6261 <sup>ns</sup>	12,0513 <sup>ns</sup>	0,0361 <sup>ns</sup>
Bs x Bj	1	10,8929 <sup>ns</sup>	14,7147 <sup>ns</sup>	0,2904*
Bs x N	1	5,9078 <sup>ns</sup>	2,0448 <sup>ns</sup>	0,1693*
Bj x N	1	11,9506 <sup>ns</sup>	12,6962 <sup>ns</sup>	0,6266**
Ab x Bs x Bj	1	0,2761 <sup>ns</sup>	0,0475 <sup>ns</sup>	0,2290*
Ab x Bs x N	1	4,3431 <sup>ns</sup>	2,3018 <sup>ns</sup>	0,1110 <sup>ns</sup>
Ab x Bj x N	1	11,3552 <sup>ns</sup>	9,1598 <sup>ns</sup>	0,0994 <sup>ns</sup>
Bs x Bj x N	1	0,2856 <sup>ns</sup>	0,2565 <sup>ns</sup>	0,0192 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj x N	1	0,1066 <sup>ns</sup>	0,4191 <sup>ns</sup>	0,0266 <sup>ns</sup>
Erro	64	3,2286	4,2143	0,0417
Total	79	-	-	-
CV (%)		18,72	15,85	22,52

<sup>ns</sup> não significativo ( $p > 0,05$ ); \* significativo a 5% ( $0,01 < p \leq 0,05$ ); \*\* significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ ).  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Bs: *Bacillus subtilis*; Bj: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio  
 CV: coeficiente de variação

APÊNDICE E – Análise de variância das variáveis número de folhas total (NFT), comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) da alface Vera, avaliada no experimento 1

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		NFT	NFC	NAPA
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	18,0500 <sup>ns</sup>	49,6125*	360,7827 <sup>ns</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs)	1	61,2500*	49,6125*	37235,4296**
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (Bj)	1	54,4500*	19,0125 <sup>ns</sup>	16834,7933*
Nitrogênio (N)	1	64,8000*	63,0125*	5123,0404 <sup>ns</sup>
Ab x Bs	1	0,8000 <sup>ns</sup>	1,5125 <sup>ns</sup>	11,7735 <sup>ns</sup>
Ab x Bj	1	<0,0001 <sup>ns</sup>	1,5125 <sup>ns</sup>	174,6110 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	0,4500 <sup>ns</sup>	0,0125 <sup>ns</sup>	350,3264 <sup>ns</sup>
Bs x Bj	1	0,2000 <sup>ns</sup>	1,0125 <sup>ns</sup>	5543,6175 <sup>ns</sup>
Bs x N	1	11,2500 <sup>ns</sup>	7,8125 <sup>ns</sup>	17,1773 <sup>ns</sup>
Bj x N	1	48,0500*	56,1125*	833,7924 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj	1	2,4500 <sup>ns</sup>	6,6125 <sup>ns</sup>	59,5298 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x N	1	0,8000 <sup>ns</sup>	0,3125 <sup>ns</sup>	219,7514 <sup>ns</sup>
Ab x Bj x N	1	12,8000 <sup>ns</sup>	12,0125 <sup>ns</sup>	34901,2658**
Bs x Bj x N	1	9,8000 <sup>ns</sup>	0,3125 <sup>ns</sup>	6930,5507 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj x N	1	42,0500 <sup>ns</sup>	15,3125 <sup>ns</sup>	6348,0190 <sup>ns</sup>
Erro	64	11,9000	9,7063	4031,4684
Total	79	-	-	-
CV (%)		11,02	12,47	15,08

<sup>ns</sup> não significativo ( $p > 0,05$ ); \* significativo a 5% ( $0,01 < p \leq 0,05$ ); \*\* significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ ).  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Bs: *Bacillus subtilis*; Bj: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio  
 CV: coeficiente de variação

APÊNDICE F – Análise de variância das variáveis massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC), e massa seca da parte aérea total (MSPAT) da alface Vera, avaliada no experimento 2

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		MFPAT	MFPAC	MSPAT
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	714,0723 <sup>ns</sup>	899,4758 <sup>ns</sup>	3,4861 <sup>ns</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs)	1	898,1350 <sup>ns</sup>	1086,4117 <sup>ns</sup>	11,6892*
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (Bj)	1	322,0432 <sup>ns</sup>	59,9445 <sup>ns</sup>	6,3056 <sup>ns</sup>
Nitrogênio (N)	1	8310,7607**	6683,7164**	82,9059**
Ab x Bs	1	656,3715 <sup>ns</sup>	940,9862 <sup>ns</sup>	5,9078 <sup>ns</sup>
Ab x Bj	1	50,1970 <sup>ns</sup>	18,9832 <sup>ns</sup>	0,9990 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	821,3134 <sup>ns</sup>	794,7453 <sup>ns</sup>	8,7914 <sup>ns</sup>
Bs x Bj	1	1128,5278 <sup>ns</sup>	2284,1325*	0,8282 <sup>ns</sup>
Bs x N	1	59,0820 <sup>ns</sup>	184,4977 <sup>ns</sup>	0,2464 <sup>ns</sup>
Bj x N	1	224,2825 <sup>ns</sup>	320,6003 <sup>ns</sup>	0,0769 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj	1	732,4736 <sup>ns</sup>	1031,1198 <sup>ns</sup>	1,6416 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x N	1	724,6274 <sup>ns</sup>	807,5299 <sup>ns</sup>	0,0003 <sup>ns</sup>
Ab x Bj x N	1	379,1028 <sup>ns</sup>	754,2990 <sup>ns</sup>	1,7287 <sup>ns</sup>
Bs x Bj x N	1	770,1026 <sup>ns</sup>	1200,8625 <sup>ns</sup>	2,1125 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj x N	1	173,4310 <sup>ns</sup>	271,6950 <sup>ns</sup>	0,0794 <sup>ns</sup>
Erro	64	516,5274	505,0784	2,6172
Total	79	-	-	-
CV (%)		11,04	11,78	9,67

<sup>ns</sup> não significativo ( $p > 0,05$ ); \* significativo a 5% ( $0,01 < p \leq 0,05$ ); \*\* significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ ).  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Bs: *Bacillus subtilis*; Bj: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio  
 CV: coeficiente de variação

APÊNDICE G – Análise de variância das variáveis massa seca da parte aérea comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST) e massa seca da raiz (MSR) da alface Vera, avaliada no experimento 2

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		MSPAC	MST	MSR
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	3,6637 <sup>ns</sup>	4,3106 <sup>ns</sup>	0,0030 <sup>ns</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs)	1	12,2305*	15,1816*	0,0143**
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (Bj)	1	4,9501 <sup>ns</sup>	3,4238 <sup>ns</sup>	0,0228**
Nitrogênio (N)	1	54,6151**	99,2574**	0,0383**
Ab x Bs	1	7,1880 <sup>ns</sup>	5,7192 <sup>ns</sup>	<0,0001 <sup>ns</sup>
Ab x Bj	1	0,6919 <sup>ns</sup>	1,3860 <sup>ns</sup>	0,0025 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	4,3992 <sup>ns</sup>	8,5609 <sup>ns</sup>	0,0002 <sup>ns</sup>
Bs x Bj	1	0,5249 <sup>ns</sup>	0,9527 <sup>ns</sup>	0,0002 <sup>ns</sup>
Bs x N	1	0,0845 <sup>ns</sup>	0,5396 <sup>ns</sup>	0,0025 <sup>ns</sup>
Bj x N	1	0,0510 <sup>ns</sup>	0,1558 <sup>ns</sup>	<0,0001 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj	1	0,8528 <sup>ns</sup>	1,7791 <sup>ns</sup>	0,0005 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x N	1	0,0911 <sup>ns</sup>	<0,0001 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>
Ab x Bj x N	1	0,1514 <sup>ns</sup>	2,2613 <sup>ns</sup>	0,0019 <sup>ns</sup>
Bs x Bj x N	1	1,8605 <sup>ns</sup>	2,3154 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj x N	1	0,2531 <sup>ns</sup>	0,1240 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>
Erro	64	2,3904	2,9574	0,0017
Total	79	-	-	-
CV (%)		10,51	9,14	8,61

Os dados MSR foram transformados para 1/x

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

Ab: *Azospirillum brasilense*; Bs: *Bacillus subtilis*; Bj: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio

CV: coeficiente de variação

APÊNDICE H – Análise de variância das variáveis número de folhas total (NFT), comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) da alface Vera, avaliada no experimento 2

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		NFT	NFC	NAPA
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	<0,0001 <sup>ns</sup>	0,0500 <sup>ns</sup>	1433,7171 <sup>ns</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs)	1	<0,0001 <sup>ns</sup>	0,0500 <sup>ns</sup>	10746,9434 <sup>ns</sup>
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (Bj)	1	<0,0001 <sup>ns</sup>	8,4500 <sup>ns</sup>	8549,3193 <sup>ns</sup>
Nitrogênio (N)	1	0,0095 <sup>**</sup>	11,2500 <sup>ns</sup>	20575,7918 <sup>*</sup>
Ab x Bs	1	0,0007 <sup>ns</sup>	9,8000 <sup>ns</sup>	4387,7588 <sup>ns</sup>
Ab x Bj	1	0,0007 <sup>ns</sup>	0,8000 <sup>ns</sup>	10724,7014 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	<0,0001 <sup>ns</sup>	7,2000 <sup>ns</sup>	3014,6174 <sup>ns</sup>
Bs x Bj	1	0,0003 <sup>ns</sup>	28,8000 <sup>*</sup>	58689,4031 <sup>**</sup>
Bs x N	1	<0,0001 <sup>ns</sup>	1,8000 <sup>ns</sup>	7741,1288 <sup>ns</sup>
Bj x N	1	<0,0001 <sup>ns</sup>	1,8000 <sup>ns</sup>	97,2185 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj	1	0,0028 <sup>ns</sup>	11,2500 <sup>ns</sup>	3385,5923 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x N	1	0,0019 <sup>ns</sup>	36,4500 <sup>*</sup>	13121,7961 <sup>*</sup>
Ab x Bj x N	1	0,0019 <sup>ns</sup>	6,0500 <sup>ns</sup>	2179,9764 <sup>ns</sup>
Bs x Bj x N	1	<0,0001 <sup>ns</sup>	6,0500 <sup>ns</sup>	54,1041 <sup>ns</sup>
Ab x Bs x Bj x N	1	0,0019 <sup>ns</sup>	0,8000 <sup>ns</sup>	18,1356 <sup>ns</sup>
Erro	64	0,0010	6,5250	3012,7676
Total	79	-	-	-
CV (%)		1,55	8,70	17,61

Os dados NFT foram transformados para  $\sqrt[5]{X}$

<sup>ns</sup> não significativo (p>0,05); \* significativo a 5% (0,01<p≤0,05); \*\* significativo a 1% (p≤0,01)

Ab: *Azospirillum brasilense*; Bs: *Bacillus subtilis*; Bj: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio

CV: coeficiente de variação



APÊNDICE I – Desdobramento da análise de variância da variável massa fresca da parte aérea total (MFPAT), avaliada no experimento 1, considerando a interação tripla dos fatores *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (0) N(0)]	1	295,0656 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (0) N(1)]	1	6123,6000*
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (1) N(0)]	1	3379,2200 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (1) N(1)]	1	33,7480 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (0) N(0)]	1	553,8781 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (0) N(1)]	1	557,6736 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (1) N(0)]	1	9769,9681**
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (1) N(1)]	1	3653,9154 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bs</i> (0) <i>Bj</i> (0)]	1	49,9912 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bs</i> (0) <i>Bj</i> (1)]	1	51,1360 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bs</i> (1) <i>Bj</i> (0)]	1	10506,5200**
N dt [ <i>Bs</i> (1) <i>Bj</i> (1)]	1	3225,0380 <sup>ns</sup>
Erro	64	943,5556

Notas: 1 - *Bs*: *Bacillus subtilis*; *Bj*: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio; 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 J – Desdobramento da análise de variância da variável massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC), avaliada no experimento 1, considerando a interação tripla dos fatores *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (0) N(0)]	1	126,9576 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (0) N(1)]	1	4505,4016*
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (1) N(0)]	1	3098,8051 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (1) N(1)]	1	0,4004 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (0) N(0)]	1	839,1601 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (0) N(1)]	1	76,0110 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (1) N(0)]	1	9197,3316**
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (1) N(1)]	1	3485,3280 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bs</i> (0) <i>Bj</i> (0)]	1	440,1096 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bs</i> (0) <i>Bj</i> (1)]	1	0,5314 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bs</i> (1) <i>Bj</i> (0)]	1	9874,1236**
N dt [ <i>Bs</i> (1) <i>Bj</i> (1)]	1	3088,1095 <sup>ns</sup>
Erro	64	963,7977

Notas: 1 - *Bs*: *Bacillus subtilis*; *Bj*: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio; 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 K – Desdobramento da análise de variância da variável massa seca da raiz (MSR), avaliada no experimento 1, considerando a interação dupla dos fatores *Bacillus subtilis* e nitrogênio<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
<i>Bs</i> dt [N(0)]	1	0,0003 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [N(1)]	1	0,3186**
N dt [ <i>Bs</i> (0)]	1	0,0058 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bs</i> (1)]	1	0,2560*
Erro	64	0,4169

Notas: 1 - *Bs*: *Bacillus subtilis*; N: nitrogênio; 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 L – Desdobramento da análise de variância da variável massa seca da raiz (MSR), avaliada no experimento 1, considerando a interação dupla dos fatores *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
<i>Bj</i> dt [N(0)]	1	0,5267**
<i>Bj</i> dt [N(1)]	1	0,1550 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bj</i> (0)]	1	0,6003**
N dt [ <i>Bj</i> (1)]	1	0,1188 <sup>ns</sup>
Erro	64	0,0417

Notas: 1 - *Bj*: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio; 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 M – Desdobramento da análise de variância da variável massa seca da raiz (MSR), avaliada no experimento 1, considerando a interação tripla dos fatores *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
<i>Ab</i> dt [ <i>Bs</i> (0) <i>Bj</i> (0)]	1	0,0245 <sup>ns</sup>
<i>Ab</i> dt [ <i>Bs</i> (0) <i>Bj</i> (1)]	1	0,0562 <sup>ns</sup>
<i>Ab</i> dt [ <i>Bs</i> (1) <i>Bj</i> (0)]	1	0,0898 <sup>ns</sup>
<i>Ab</i> dt [ <i>Bs</i> (1) <i>Bj</i> (1)]	1	1,1045**
<i>Bs</i> dt [ <i>Ab</i> (0) <i>Bj</i> (0)]	1	<0,0001 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [ <i>Ab</i> (0) <i>Bj</i> (1)]	1	0,0031 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [ <i>Ab</i> (1) <i>Bj</i> (0)]	1	0,0217 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [ <i>Ab</i> (1) <i>Bj</i> (1)]	1	0,7566**
<i>Bj</i> dt [ <i>Ab</i> (0) <i>Bs</i> (0)]	1	0,1217 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Ab</i> (0) <i>Bs</i> (1)]	1	0,0832 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Ab</i> (1) <i>Bs</i> (0)]	1	0,0020 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Ab</i> (1) <i>Bs</i> (1)]	1	1,1281**
Erro	64	0,0417

Notas: 1 – *Ab*: *Azospirillum brasilense*; *Bs*: *Bacillus subtilis*; *Bj*: *Bradyrhizobium japonicum*; 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 N – Desdobramento da análise de variância da variável número de folhas total (NFT), avaliada no experimento 1, considerando a interação dupla dos fatores *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
<i>Bj</i> dt [N(0)]	1	102,4000**
<i>Bj</i> dt [N(1)]	1	0,1000 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bj</i> (0)]	1	112,2250**
N dt [ <i>Bj</i> (1)]	1	0,6250 <sup>ns</sup>
Erro	64	11,9000

Notas: 1 - *Bj*: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio; 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 O – Desdobramento da análise de variância da variável número de folhas comercial (NFC), avaliada no experimento 1, considerando a interação dupla dos fatores *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
<i>Bj</i> dt [N(0)]	1	70,2250**
<i>Bj</i> dt [N(1)]	1	4,9000 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Bj</i> (0)]	1	119,0250**
N dt [ <i>Bj</i> (1)]	1	0,1000 <sup>ns</sup>
Erro	64	9,7063

Notas: 1 - *Bj*: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio; 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 P – Desdobramento da análise de variância da variável nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), avaliada no experimento 1, considerando a interação tripla dos fatores *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [Bj(0) N(0)]	1	14131,52 <sup>ns</sup>
Ab dt [Bj(0) N(1)]	1	7511,30 <sup>ns</sup>
Ab dt [Bj(1) N(0)]	1	6587,72 <sup>ns</sup>
Ab dt [Bj(1) N(1)]	1	7559,44 <sup>ns</sup>
Bj dt [Ab(0) N(0)]	1	428,83 <sup>ns</sup>
Bj dt [Ab(0) N(1)]	1	18835,68*
Bj dt [Ab(1) N(0)]	1	32160,20**
Bj dt [Ab(1) N(1)]	1	1322,75 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0) Bj(0)]	1	15406,24 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0) Bj(1)]	1	1144,43 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(1) Bj(0)]	1	6629,53 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(1) Bj(1)]	1	18031,21*
Erro	64	4031,47

Notas: 1 - Ab: *Azospirillum brasilense*; Bj: *Bradyrhizobium japonicum*; N: nitrogênio; 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 Q – Desdobramento da análise de variância da variável massa fresca da parte aérea comercial (MFPAC), avaliada no experimento 2, considerando a interação dupla dos fatores *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Bs dt [Bj(0)]	1	3260,5525*
Bs dt [Bj(1)]	1	109,9917 <sup>ns</sup>
Bj dt [Bs(0)]	1	802,0098 <sup>ns</sup>
Bj dt [Bs(1)]	1	1542,0672 <sup>ns</sup>
Erro	64	505,0784

Notas: 1 - Bs: *Bacillus subtilis*; Bj: *Bradyrhizobium japonicum*; 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 R – Desdobramento da análise de variância da variável número de folhas comercial (NFC), avaliada no experimento 2, considerando a interação dupla dos fatores *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Bs dt [Bj(0)]	1	15,6250 <sup>ns</sup>
Bs dt [Bj(1)]	1	13,2250 <sup>ns</sup>
Bj dt [Bs(0)]	1	34,2250*
Bj dt [Bs(1)]	1	3,0250 <sup>ns</sup>
Erro	64	6,5250

Notas: 1 - Bs: *Bacillus subtilis*; Bj: *Bradyrhizobium japonicum*; 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 S – Desdobramento da análise de variância da variável número de folhas comercial (NFC), avaliada no experimento 2, considerando a interação tripla dos fatores *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e nitrogênio<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [Bs(0) N(0)]	1	36,4500*
Ab dt [Bs(0) N(1)]	1	7,2000 <sup>ns</sup>
Ab dt [Bs(1) N(0)]	1	9,8000 <sup>ns</sup>
Ab dt [Bs(1) N(1)]	1	0,0500 <sup>ns</sup>
Bj dt [Ab(0) N(0)]	1	28,8000*
Bj dt [Ab(0) N(1)]	1	4,0500 <sup>ns</sup>
Bj dt [Ab(1) N(0)]	1	14,4500 <sup>ns</sup>
Bj dt [Ab(1) N(1)]	1	0,8000 <sup>ns</sup>
N dt [Bs(0) Bj(0)]	1	11,2500 <sup>ns</sup>
N dt [Bs(0) Bj(1)]	1	16,2000 <sup>ns</sup>
N dt [Bs(1) Bj(0)]	1	28,8000*
N dt [Bs(1) Bj(1)]	1	0,4500 <sup>ns</sup>
Erro	64	6,5250

Notas: 1 - Ab: *Azospirillum brasilense*; Bs: *Bacillus subtilis*; N: nitrogênio; 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 T – Desdobramento da análise de variância da variável nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), avaliada no experimento 2, considerando a interação dupla dos fatores *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (0)]	1	59832,5455**
<i>Bs</i> dt [ <i>Bj</i> (1)]	1	9603,8010 <sup>ns</sup>
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (0)]	1	56019,2372**
<i>Bj</i> dt [ <i>Bs</i> (1)]	1	11219,4852 <sup>ns</sup>
Erro	64	3012,7676

Notas: 1 - *Bs*: *Bacillus subtilis*; *Bj*: *Bradyrhizobium japonicum*; 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 U – Desdobramento da análise de variância da variável nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), avaliada no experimento 2, considerando a interação tripla dos fatores *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e nitrogênio<sup>(1, 2, 3)</sup>

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
<i>Ab</i> dt [ <i>Bs</i> (0) N(0)]	1	244,4403 <sup>ns</sup>
<i>Ab</i> dt [ <i>Bs</i> (0) N(1)]	1	1936,9056*
<i>Ab</i> dt [ <i>Bs</i> (1) N(0)]	1	1067,6988 <sup>ns</sup>
<i>Ab</i> dt [ <i>Bs</i> (1) N(1)]	1	18708,8445*
<i>Bs</i> dt [ <i>Ab</i> (0) N(0)]	1	14395,3682*
<i>Bs</i> dt [ <i>Ab</i> (0) N(1)]	1	6815,0628 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [ <i>Ab</i> (1) N(0)]	1	5136,6535 <sup>ns</sup>
<i>Bs</i> dt [ <i>Ab</i> (1) N(1)]	1	9650,5424 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Ab</i> (0) <i>Bs</i> (0)]	1	4,3805 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Ab</i> (0) <i>Bs</i> (1)]	1	40176,6480**
N dt [ <i>Ab</i> (1) <i>Bs</i> (0)]	1	3312,2232 <sup>ns</sup>
N dt [ <i>Ab</i> (1) <i>Bs</i> (1)]	1	960,0822 <sup>ns</sup>
Erro	64	3012,7676

Notas: 1 – *Ab*: *Azospirillum brasilense*; *Bs*: *Bacillus subtilis*; N: nitrogênio; 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% ( $p \leq 0,01$ ).