

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE AGRONOMIA**

**USO DE INOCULANTE COMERCIAL DE *Azospirillum brasiliense* NA
PRODUÇÃO DE MUDAS DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) SOB
CULTIVO ORGÂNICO**

LETÍCIA VIEIRA BARROS

**BRASÍLIA, DF
2019**

LETÍCIA VIEIRA BARROS

**USO DE INOCULANTE COMERCIAL DE *Azospirillum brasiliense* NA
PRODUÇÃO DE MUDAS DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) SOB CULTIVO
ORGÂNICO**

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia
e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília,
como parte das exigências do curso de Graduação
em Agronomia, para a obtenção do título de
Engenheira Agrônoma

Orientador:
PROF^a. DR^a. **ALESSANDRA MONTEIRO DE
PAULA**

**BRASÍLIA, DF
2019**

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Vu Vieira Barros, Letícia
 Uso de *Azospirillum brasiliense* na produção de mudas de
 alface (*Lactuca sativa* L.) sob cultivo orgânico / Letícia
 Vieira Barros; orientador Alessandra Monteiro de Paula. --
 Brasília, 2019.
 52 p.

 Monografia (Graduação - Engenharia Agrônômica) --
 Universidade de Brasília, 2019.

 1. Sistema orgânico. 2. Bactérias promotoras de
 crescimento vegetal. 3. Ciclos biológicos. 4. Inoculação. 5.
 Azospirillum brasiliense. I. Monteiro de Paula, Alessandra,
 orient. II. Título.

Cessão de direitos

Nome do Autor: Letícia Vieira Barros

Título: Uso de inoculante comercial de *Azospirillum brasiliense* na produção de mudas de alface (*Lactuca sativa* L.) sob cultivo orgânico

Ano: 2019

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desse relatório e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva - se a outros direitos de publicação, e nenhuma parte desse relatório pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

LETÍCIA VIEIRA BARROS

**USO DE INOCULANTE COMERCIAL DE *Azospirillum brasiliense* NA
PRODUÇÃO DE MUDAS DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) SOB CULTIVO
ORGÂNICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Aprovado em ____ de ____ de ____.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profª. Drª. Alessandra Monteiro de Paula
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária –
Universidade de Brasília
Orientador

Profª Drª. Michelle Souza Vilela
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária –
Universidade de Brasília
Examinador

Profª. Drª. Maria Lucrécia Gerosa Ramos
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária –
Universidade de Brasília
Examinador

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me permitiu chegar até aqui, mesmo com todos os desafios e dificuldades pelo caminho, e por saber que todos as pessoas que serão citadas posteriormente a ele, foram colocadas em minha vida por ele.

Agradeço aos meus amados pais, José Geraldo e Vera Lúcia, por todos sacrifícios, lutas e orações realizado ao longo desses anos me proporcionando uma base forte, para que alcançasse todas as conquistas adquiridas até aqui, aos meus irmãos, Tiago e Marcos, à família, e em especial meu namorado Pedro Augusto Saboia que esteve ao meu lado desde o início do curso, até a realização desse trabalho, perdendo finais de semana para me acompanhar e auxiliar na realização do mesmo.

Aos meus colegas e amigos de graduação, Ana Clara Barbosa, Giordana Cruz, Karen Pereira, Jhon Kenedy, Lucas Simioni, Lucas Vítório, Lorrany Silva, Marta Oliveira, Thaís França e Thamires Dutra, em especial a Luana Costa, que sempre me ajudou durante a vida acadêmica, e não diferente durante a realização deste trabalho.

À minha professora e orientadora Alessandra Monteiro pelo apoio, incentivo e competência durante toda a fase de trabalho juntas. Também aos professores da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília pelo trabalho dedicado à minha formação acadêmica.

Por fim, aos funcionários da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília pelo suporte e ajuda durante a realização do experimento referente a este trabalho.

EPÍGRAFE

*A maior recompensa para o trabalho do
homem não é o que ele ganha com isso,
mais o que ele se torna com isso.*

John Rusken

RESUMO

Uso de inoculante comercial de *Azospirillum brasiliense* na produção de mudas de alface (*Lactuca sativa* L.) sob cultivo orgânico

A alface é uma das culturas mais produzidas e consumidas do Brasil, e que apresenta grande valorização no mercado quando produzida em sistema orgânico. Uma das etapas que influenciam o sucesso da produção de hortaliças é a fase de produção de mudas. Por isso é importante a busca por tecnologias que agreguem a essa fase produtiva, e proporcionem como resultado a produção de mudas de qualidade. Baseados em um dos princípios da agricultura orgânica, que é o estímulo dos ciclos biológicos, uma das alternativas de tecnologia para uso na produção de mudas é a inoculação de microrganismos promotores de crescimento vegetal. Com isso o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos do uso de *Azospirillum brasiliense* como promotor de crescimento de mudas de alface. O experimento foi conduzido em uma estrutura de casa de vegetação, na estação experimental de biologia da Universidade de Brasília, Distrito Federal. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 4 tratamentos e 4 repetições, totalizando em 24 unidades experimentais (UEs), onde os tratamentos consistiram em (T1) testemunha (sem aplicação), (T2) 0,175ml/bandeja (meia dose) do inoculante Masterfix L (5×10^8 células por mL de produto), (T3) 0,375 ml/bandeja (5×10^8 células por mL de produto) e (T4) 0,750 ml/bandeja do inoculante (5×10^8 células por mL de produto). O inoculante foi aplicado nas sementes antes do plantio e, reaplicado via foliar aos 7 e 14 dias. As mudas foram conduzidas até 21 dias após semeadura avaliando os parâmetros de desenvolvimento da planta, como massa seca e úmida, comprimento de raiz e da parte aérea aos 11 e 21 dias, submetendo os resultados obtidos ao teste de Tukey a 5 % de probabilidade. A inoculação da bactéria *Azospirillum brasiliense* promoveu efeitos positivos significativos em relação a testemunha, somente no parâmetro de comprimento de raiz nos primeiros 11 dias das mudas. Entre os tratamentos inoculados, a dose 0,375ml/bandeja apresentou os melhores resultados para massa seca e úmida de raiz.

Palavras-chave: Sistema orgânico; Bactérias promotoras de crescimento vegetal; ciclos biológicos; Inoculação.

ABSTRACT

The use of commercial inoculum of *Azospirillum brasilense* in the production of organic lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.)

Lettuce is the most produced and consumed crops of Brazil, and that shows great appreciation in the market when produced in organic system. One of the steps that influence the success of the vegetable production is the production phase of seedlings. Therefore, it is important to search for technologies that add to this productive phase, and to provide as a result the production of quality seedlings. Based on one of the principles of organic farming, which is the stimulation of biological cycles, one of the technology alternatives for use in seedling production is the inoculation of plant growth promoting microorganisms. With this, the objective of the present work was to evaluate the effects of the use of *Azospirillum brasilense* as promoter of lettuce seedlings growth. The experiment was conducted in a greenhouse structure at the biology experimental station of the University of Brasília, Federal District. The experimental design was a randomized complete block, with 4 treatments and 4 replications, totaling 24 experimental units (UEs), where the treatments consisted of (T1) control (no application), (T2) 0.175ml / tray inoculant Masterfix L (5×10^8 cells per mL of product), (T3) 0.375 mL / tray (5×10^8 cells per mL of product) and (T4) 0.750 mL / inoculant tray (5×10^8 cells per mL of product). The inoculant was applied to the seeds before planting and reapplied foliarly every 7 days up to 21 days. The seedlings were conducted up to 21 days after sowing, evaluating the development parameters of the whole plant, such as dry and wet mass, root and shoot length at 11 and 21 days, subjecting the results to the Tukey test at 5% of probability. The inoculation of the bacterium *Azospirillum brasilense* promoted significant positive effects in relation to the control, only in the parameter of root length in the first 11 days of the seedlings. Among the inoculated treatments, the dose 0.375 ml / tray presented the best results for dry and wet mass and root.

Keywords: Organic system; Plant growth promoting bacteria; biological cycles; Inoculation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Dados de distribuição de precipitação e temperatura média da região onde foi realizado o experimento no período de 14 de abril a 04 de maio da estação experimental automática de Brasília, DF (Fonte: INMET).	32
Figura 2: Estrutura construída para abrigar as mudas de alface, e distribuição espacial das bandejas do experimento.	33
Figura 3: Aspectos das mudas aos 21 dias após a semeadura, fase em que foram conduzidas as análises.	36
Figura 4: Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas, não diferem entre si na avaliação de 11 dias, e minúsculas, na avaliação de 21 dias, para (A) comprimento de raiz (CR), (B) comprimento de parte aérea (CPA) e (C) comprimento total (CT) de mudas de alface cv. Samira cultivadas com quatro doses (0; 0,175; 0,375; 0,750 ml/bandeja) do inoculante líquido de <i>Azospirillum brasiliense</i> (estirpes Ab V5 + Ab V6) avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.	37
Figura 5: Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si na avaliação de 21 dias para (A) massa seca de raiz (MSR), (B) massa seca de parte aérea (MSPA) e (C) massa seca total (MST) de mudas de alface cv. Samira após semeadura, cultivadas com quatro doses (0; 0,175; 0,375; 0,750 ml/bandeja) do inoculante líquido de <i>Azospirillum brasiliense</i> (estirpes Ab V5 + Ab V6) avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.	39
Figura 6: Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si na avaliação de 21 dias para (A) massa úmida de raiz (MUR), (B) massa seca de parte aérea (MUPA), (C) massa úmida total (MUT) de mudas de alface cv. Samira com 21 dias após semeadura, cultivadas com quatro doses (0; 0,175; 0,375; 0,750 ml/bandeja) do inoculante líquido de <i>Azospirillum brasiliense</i> (estirpes Ab V5 + Ab V6) avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCSEM	Associação Brasileira de Comércio de Sementes e Mudas
CRA	Capacidade Real de Água
EEC	European Economic Community
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento

SUMÁRIO

SUMÁRIO	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivos gerais	17
2.2 Objetivos específicos	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1 Hortaliças Orgânicas no Brasil	18
3.2 Produção de Mudas de Hortaliças	20
3.4 Cultura da Alface.....	23
3.5 Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV)	25
3.5.1 Inoculantes na Agricultura	27
3.5.2 <i>Azospirillum basiliense</i>	28
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1 Localização e condição do experimento.....	32
4.2 Condução do experimento	33
4.3 Avaliação das mudas	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
6. CONCLUSÕES / CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1 INTRODUÇÃO

A produção de hortaliças é uma das atividades agrícolas mais importantes no Brasil, pois é responsável pela produção dos alimentos que são fonte de elementos fundamentais para funcionamento do organismo, e a maior parte da produção (60%) está concentrada em propriedade de exploração familiar. Além disso é uma atividade que proporciona altas produções e retorno financeiro por hectare/ano, mesmo em áreas consideradas pequenas (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2016; MELO & VILELA, 2007; FILGUEIRA, 2008).

Apesar de ser uma atividade que historicamente e mesmo no período de hoje, se apresenta em sua maioria em sistema convencional, que consiste no manejo e uso intensivo do solo, uso de fertilizantes químicos e aplicação de agrotóxicos que geram contaminação ao solo e meio ambiente, alternativas a este sistema de produção surgiram e ganharam força ao longo dos anos devido a preocupação com as consequências causadas pelas práticas desse manejo (MELO & VILELA, 2007; ORMOND et al., 2002; TAVARES FILHO et al., 2014).

A agricultura orgânica se destaca entre os diversos sistemas de produção alternativos ao manejo convencional, fundada entre as décadas de 30 a 40 através de pesquisas realizadas por um pesquisador inglês na Índia, e que no Brasil ganhou força a partir da década de 80, resultando no alcance dos produtos nos restaurantes, mercados e redes atacadistas e criação das normas e padrões Brasileiros através da criação da Instrução Normativa 007/99 em 1999 pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (DAROLT, 2006; ORMOND et al., 2002).

Os princípios da agricultura orgânica consistem principalmente na produção de alimentos integrado, visando estimular os ciclos biológicos como a manutenção e aumento da fertilidade, redução do uso de agrotóxicos, produção de alimentos de qualidade, livres de contaminantes, e promover impacto social e ecológico na produção (FAO, 1997).

Dentre as hortaliças mais produzidas e consumidas no Brasil e no mundo, a alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das espécies que apresenta maior potencial na produção orgânica, por ser uma hortaliça consumida *in natura*. É uma planta herbácea, de caule curto, folhas amplas e raízes ramificadas, originária de climas temperados e possui uma diversidade de variedades adaptadas para cultivo em

diferentes climas e regiões em todo o mundo. As variedades crespa e americana são as com maior importância econômica no Brasil, e estão inseridas não só em sistemas de produção orgânica, mais também, convencional, em solo ou hidroponia, campo aberto ou cultivo protegido, além de ser uma cultura tradicionalmente produzidas por pequenos produtores próximos as regiões metropolitanas (HENZ & SUINAGA, 2009; ALMEIDA et al. 2008; FONTANÉTTI et al., 2006; FILGUEIRA, 2008; SALA & COSTA, 2012)

Durante o processo produtivo de hortaliças a fase de produção de mudas consiste em uma das mais importantes, pois o uso de mudas de qualidade que apresentem alto vigor e sanidade, boa formação do sistema radicular, melhor capacidade de adaptação no campo, pode promover aumento na produtividade e diminuição dos riscos de produção (MINAMI, 1995; NUNES & SANTOS, 2007; PEREIRA et al., 2010). A obtenção de mudas de qualidade é determinada por alguns fatores produtivos, como a infraestrutura que proporcione condições adequadas de desenvolvimento e proteção contra influências bióticas e climáticas, o uso de sementes de qualidade com alto padrão genético, escolha de recipientes adequados e de substratos que apresentem condições físicas, químicas e biológicas adequadas para desenvolvimento das mudas (NUNES & SANTOS, 2007; FILGUEIRA, 2008; NASCIMENTO et al., 2016).

As características físicas, segundo Verdonck et al. (1983), são as mais importantes para o desenvolvimento adequado das mudas, estão relacionadas a porosidade, capacidade de retenção de água e ar, e geralmente são encontradas boas condições desses indicadores em substratos comerciais. Esses substratos apresentam baixa diversidade de microrganismos, que são eliminados para facilitar a obtenção de mudas com boa qualidade sanitária, entretanto além de microrganismos maléficos, no solo e principalmente associado as raízes, há uma diversidade de outros microrganismos que proporcionam efeitos benéficos ao desenvolvimento das plantas, entre eles estão as bactérias que possuem a capacidade de promover o crescimento vegetal (BPCV) (SOUZA, 2000; OLIVEIRA et al., 2003; OKON et al., 2015).

As bactérias promotoras de crescimento vegetal são organismos associativos de vida livre com característica endofítica ou não, e que possui mecanismo diretos e indiretos na promoção do crescimento das plantas. Os mecanismos diretos incluem a fixação biológica de nitrogênio, produção de fitormônios de crescimento, capacidade de solubilização de fosfato e mineralização de outros nutrientes. Já os indiretos estão

relacionados indução de resistência a fatores bióticos e abióticos, antagonismo a fitopatógenos e produção de antibióticos. O resultado da ação desses mecanismos é principalmente o favorecimento do crescimento vegetal aéreo e das raízes, melhorias na absorção de nutrientes e água (REIS, 2007; OLIVEIRA et. al., 2003).

Estão inseridas nesse grupo de BPCV, diversos gêneros de bactérias capazes de promover melhorias no crescimento das plantas, entretanto somente alguns deles apresentam produtos comercialmente disponíveis para uso. Esses produtos comerciais são chamados de inoculantes e são substâncias que carregam uma ou mais espécies isoladas de microrganismos vivos (BALACHANDAR, 2012; REIS, 2007; BRASIL, 2011).

O gênero *Azospirillum* é um dos poucos gêneros que possuem inoculantes disponíveis para uso na agricultura no Brasil, e seus mecanismos de promoção de crescimento variam conforme a associação que ocorre com as espécies vegetais. Os mecanismos consistem na fixação biológica de nitrogênio, produção de hormônios vegetais, solubilização de fosfato entre outros (BASHAN & DE-BASHAN, 2010). As únicas espécies presentes em inoculantes disponíveis para uso na agricultura são *A. brasiliense*, e *A. lipoferum*, desses o *A. brasiliense* foi o mais estudado ao longo dos anos, e seu uso e efeitos de algumas estirpes como promotor de crescimento em gramíneas são os mais conhecidos (PEREG et. al., 2016). Os resultados encontrados são principalmente incrementos na produção, pela fixação biológica de nitrogênio, aumento da absorção de nutrientes, e do teor de clorofila, resultado do maior desenvolvimento de raiz pela liberação de hormônios entre outros (REIS, 2007; GALINDO et al., 2016).

Na cultura da alface são poucos os estudos relacionados ao uso da inoculação de *A. brasiliense*, sendo os principais efeitos registrados na promoção do crescimento de parte aérea e raízes em mudas, bem como em plantas adultas e aumentos na taxa de germinação de sementes (LIMA et al., 2017; FLORENTINO et al., 2017; BARASSI et al., 2006).

Baseado nesses mecanismos e efeitos citados por estudos que o *A. brasiliense* pode proporcionar as plantas, o seu uso na produção de mudas se apresenta como uma tecnologia com grande potencial para obtenção de mudas de qualidade no campo e posterior agregação em características produtivas. Entretanto, os efeitos proporcionados as culturas dependem de avaliações como a dosagem do inóculo, época e número de inoculações.

Informações sobre os efeitos das estirpes disponíveis para uso no campo em Hortaliças, em especial para alface ainda são limitadas, por isso se faz necessário o estudo dos efeitos de promoção de crescimento com o uso da inoculação dos estipes disponíveis comercialmente, na fase de produção de mudas de alface *Lactuca sativa* L.).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

O trabalho teve como objetivo avaliar a utilização do inoculante comercial de *Azospirillum brasiliense* no desenvolvimento de mudas de alface.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos das diferentes doses do inoculante comercial de *Azospirillum brasiliense*, no desenvolvimento das mudas de alface.
- Avaliar o efeito da inoculação do *Azospirillum brasiliense* e das diferentes doses, sobre parâmetros de qualidade das mudas: comprimento de raiz, comprimento de parte aérea, massa úmida e seca de raiz e massa úmida e seca de parte aérea.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Hortaliças Orgânicas no Brasil

O cultivo de hortaliças é uma das atividades agrícolas mais importantes no Brasil, pois é fundamental para o abastecimento das demandas alimentares diárias da população (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2016). No cenário histórico brasileiro, durante o período de 1997 a 2007, o cultivo de hortaliças apresentou um crescimento de 33% na produção, e cerca de 38% na produtividade, com redução de 5% na área, sendo a maior parte dessa produção oriunda das regiões Sul e Sudeste. (BORGES et al., 2016).

No ano de 2011, a Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas – ABCSEM (2014), em levantamento socioeconômico do setor produtivo, estimou um total de 842 mil hectares de cultivo de hortaliças produzida por sementes. Dessa área cerca de 656 mil hectares representam 18 segmentos de hortaliças, foi estimado em uma produção de aproximadamente 19,62 milhões de toneladas, resultando na geração de 2 milhões de empregos diretos.

Desse período até o ano de 2015, a cadeia produtiva de hortaliças passou por uma queda de área e de quantidade produzida, resultado da situação climática, política e econômica desfavorável do país. Entretanto, mesmo com cenário desfavorável, o setor apresentou um crescimento de 39,6% no valor da produção de 32 produtos, gerando cerca de R\$23,2 bilhões de reais no mercado hortícola, evidenciando mais ainda a importância econômica e social da atividade (HF BRASIL, 2018).

A importância social e econômica é da atividade hortícola é responsável pela produção de alimentos para construção de uma dieta saudável, pois apresentam uma densidade energética baixa e altas taxas de micronutriente, fibras, vitaminas e outros (MELO & VILELA, 2007). Além disso a maioria das espécies possui ciclo curto, que possibilitam aos produtores vários cultivos sequenciais durante o ano agrícola tornando o cultivo de hortaliças uma atividade viável para obtenção de alta produção e retorno financeiro por hectare/ano, mesmo em áreas consideradas pequenas, ou seja, é um sistema de produção bastante intensivo (FILGUEIRA, 2008).

Além de ser uma atividade bastante intensiva, a produção de hortaliças no Brasil nas várias regiões, é um sistema predominantemente convencional, com manejo intensivo com gradagem e revolvimento do solo, além da aplicação de agroquímicos, que causam degradação e contaminação do solo, e no meio ambiente (MELO & VILELA, 2007; TAVARES FILHO et al., 2014).

Preocupados com essas consequências ecológicas causadas pelas práticas produtivas da agricultura convencional, do resultado do aumento da conscientização da preservação ecológica e maior busca dos consumidores por uma alimentação mais saudável, a agricultura orgânica no Brasil entre as décadas de 80 a 90 inicia sua expansão produtiva, surgindo cooperativas de produtos e alcançando novos mercados como restaurante e redes atacadistas (ORMOND et al., 2002).

Apesar do sistema de produção orgânica ter ganhado força entre as décadas de 80 e 90, a corrente da agricultura orgânica surgiu entre as décadas de 30 e 40, pelo inglês Sir Albert Howard, através de pesquisas realizadas na Índia, que culminaram em publicações relevantes entre 1935 e 1940. Como resultado dos estudos, os princípios básicos apresentados por Sir Albert Howard, foram o não uso de adubos sintéticos, a importância da matéria orgânica para melhoria da vida e fertilidade do solo, e indiretamente, pela melhoria no rendimento e qualidade de produtos agrícolas. (DAROLT, 2006)

O movimento se solidificou na Europa, culminando no primeiro documento institucional de número 2092/91 que estabeleceu as normas e padrões de produção orgânica desenvolvidas pelo Council Regulation da EEC em 24 de junho de 1991. Já no Brasil a regularização e determinação de normas e padrões se deu de forma gradativa, inicialmente, através do desenvolvimento de organizações não-governamentais, resultando só em 17 de maio de 1999, na criação da Instrução Normativa 007/99 pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (ORMOND et al., 2002).

Com a regulamentação do sistema orgânico de produção e colocação dos produtores em padrões internacionais, a cadeia produtiva no Brasil manteve crescimento. Segundo levantamento do IBGE, em 2006 o número de propriedade rurais que faziam uso do manejo orgânico, eram de 90,5 mil produtores, entretanto, destes apenas 10,2 mil possuíam certificação. (LOURENÇO, 2006). Atualmente,

conforme último levantamento realizado pelo Conselho Brasileiro de Produção Orgânica e Sustentável (Organis) em 2017, o Brasil cresceu cerca de 204 mil hectares em 10 anos, totalizando em 1,1 milhão de hectares de produção orgânica certificada, representando 13,75% da extensão territorial de produção orgânica da América Latina, gerando um faturamento de aproximadamente R\$3,2 bilhões de reais, através de 60 empresas do setor (MAPA, 2019).

Os princípios da agricultura orgânica podem variar em diferentes regiões, ou para diferentes vertentes que integram o movimento de produção de alimentos orgânicos, como a agricultura biológica, biodinâmica, permacultura, sustentável ou natural, entretanto há um princípio mínimo a ser seguido conforme os regulamentos do Codex Alimentarius, que determinam que a agricultura orgânica consiste na produção integrada de alimentos integrada, entre sistemas que incluem a biodiversidade, ciclos biológicos e atividade biológica do solo. De forma prática os princípios da agricultura orgânica visam estimular os ciclos biológicos dentro do sistema de produção promovendo a manutenção e aumento da fertilidade do solo, minimizar as formas de poluição evitando o uso de agrotóxicos, manter a diversidade genética dos organismos no sistema, levar em consideração o impacto social e ecológico da produção e produzir alimento de qualidade, livre de contaminantes e em quantidade suficiente para a população (HEYES & BYCROFT, 2003; FAO, 1997).

3.2 Produção de Mudas de Hortaliças

A produção de mudas é uma das etapas mais importantes na produção de hortaliças, pois a utilização de mudas de alta qualidade pode proporcionar um aumento da produtividade e diminuição dos riscos de produção, tornando o cultivo de hortaliças mais competitivo (MINAMI, 1995). Porém, para proporcionar esses benefícios ao ciclo produtivo das culturas, é de grande importância a fase de produção de mudas atinja um padrão de uniformidade e qualidade, e de preferência com menor tempo de permanência no viveiro. (NASCIMENTO, 2016).

Assim como mudas de qualidade e bem formadas podem agregar na produção, mal formadas enfraquecem e prejudicam todo o desenvolvimento da cultura, aumentando o ciclo e podendo causar perdas na produção (GUIMARÃES et al., 2002). Sendo assim mudas de qualidade são aquelas que apresentam um alto vigor e sanidade, boa formação de sistema radicular, e com melhor capacidade de

adaptação no campo após transplântio (NUNES & SANTO, 2007; PEREIRA et. al. 2010).

A muda é conceituada como uma estrutura vegetativa, proveniente de uma espécie ou cultivar, produzida por sistema de propagação sexuada (sementes) ou assexuada (estacas, ramos, bulbos, etc) seguindo preceitos básicos para cada espécie e cultivar, com finalidade de formação de plantas com características autênticas da variedade, sadias e com potencial produtivo e qualitativo (SOUSA et al. 1997).

O local onde realiza a produção de mudas denomina-se viveiro, e deve ser um local com infraestrutura que proporcione condições favoráveis de desenvolvimento, proteção de variações climáticas e infestações de pragas e doenças que possam interferir na obtenção das mudas (NUNES & SANTOS, 2007). Na realidade atual da produção de mudas de hortaliças, as estruturas mais usadas por produtores e especializados nessa etapa produtiva, são as estufas, estruturas que proporcionam a proteção das mudas e podem variar em função do nível tecnológico do produto. (MINAMI, 1995).

O uso de mudas oriundas da propagação sexuada é o método mais empregado para maioria das hortaliças, por isso antes da implantação de técnicas adequadas, o uso de sementes de alta qualidade, com garantia de características de produção desejadas, sadias e isentas de contaminantes é fundamental importância na produção de mudas (FILGUEIRA, 2008; SOUSA et al. 1997).

Além do uso de sementes de variedades melhoradas e híbridas, de alta qualidade, as técnicas implantadas para a produção das mudas, como a escolha de recipientes e substratos são fatores importantes para uma boa produção de mudas (NASCIMENTO et al, 2016).

Existem várias estruturas para desenvolvimento das mudas, entre elas estão a produção em canteiros, originando mudas de raízes nuas, o uso de copinhos de jornal ou descartáveis, tubetes, entre outros (NASCIMENTO et al., 2016). Antes do surgimento da produção em recipientes individuais ou coletivos, a técnica mais tradicional era por sementeira, ou canteiros. Essa técnica apresentava algumas dificuldades, como a maior necessidade de mão de obra, aumento da possibilidade

de contaminação por patógenos e pragas, e danos no sistema radicular durante o transplante, resultando em um sistema de baixa eficiência, alto risco e podendo chegar a perdas de até 30% da produção final da cultura (SOUSA et al., 1997),

Entretanto, com os avanços tecnológicos das técnicas de produção de hortaliças, surgiram novas técnicas e métodos de cultivo de mudas, que proporcionaram melhorias nas mudas produzidas, como a substituição da produção em canteiros no solo, para produção em recipientes, que proporcionaram economia de substrato e melhor utilização da área do viveiro (MINAMI, 1995; OLIVEIRA et al., 1993).

Além da utilização dos recipientes, exige-se o uso de substratos que apresentem características químicas e físicas específicas a produção de mudas de qualidade, já que estes apresentam uma influência direta no sistema radicular e na nutrição das plantas (NUNES & SANTOS, 2007). Segundo Nunes e Santo (2007), os substratos para produção de mudas devem apresentar capacidade de retenção de água e aeração para um bom desenvolvimento de raízes e, conseqüentemente, de vigor, devem fornecer nutriente e ser isentos de patógenos e sementes de plantas indesejáveis.

É praticamente impossível de se obter um substrato com todas as características necessárias para bom desenvolvimento das mudas, por isso na maioria das vezes é necessária a mistura de vários materiais para atingir um substrato próximo do desejado (NETO et al., 2009)

O substrato pode ser produzido pelo próprio produtor através do uso de matérias-primas disponíveis na propriedade ou resíduos de agroindústrias presentes na região, como casca de pinus, torta ou bagaço de cana, esterco de gado (curtido e peneirado), casca de arroz carbonizada, ou até mesmo usar os substratos comerciais disponíveis, onde muitos deles também são formados por diferentes matérias primas de origem vegetal, animal ou sintética (NUNES & SANTOS, 2007; SOUSA et. al., 1997, FERRAZ et. al. 2005).

Para garantir se o substrato apresenta qualidade adequada ao desenvolvimento de plantas, é essencial o conhecimento das características físicas, químicas e biológicas do material (ABREU et al., 2002). Segundo VERDONCK, et. al.

(1983) as características físicas são as mais importantes para desenvolvimento das mudas, e entre elas então a densidade do substrato, porosidade, capacidade de retenção de água e ar citadas (SOUZA, 2000). Em muitos substratos comerciais são fornecidas todas as informações referentes a composição, tornando o uso do mesmo mais seguro e fácil para o produtor.

3.4 Cultura da Alface

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta originária de clima temperado pertencente à família Asteracea, e é uma das hortaliças mais consumidas no Brasil e no mundo (HENZ & SUINAGA, 2009). Essa espécie é originária de seleções e mutações da espécie silvestre *Lactuca serriola* L., e iniciou o processo de domesticação no Egito. Partir daí foi disseminada pela região do Mediterrâneo, nas eras Grega e Romana, e se espalhou para o resto do continente europeu (SUINAGA et al., 2013).

No cenário mundial, segundo levantamento de dados da Food and Agriculture Organization (FAO) em 2017, para a alface e a chicória, o continente asiático representa 68,1% da produção mundial, e o ranking dos três países mais produtores dessas culturas, são China (15,1 milhões de ton.), Estados Unidos (3,8 milhões de ton), e Índia (1,1 milhão de ton).

No território brasileiro são aproximadamente 39 mil hectares com cultivo de alface, representando o equivalente a aproximadamente 16,5% da área de produção total das hortaliças, e São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, são os estados responsáveis pela maior parte da produção (HF BRASIL, 2018). É um segmento produtivo que apresenta grande importância econômica e social, pois está inserido em uma proporção significativa na dieta da população, por ser uma fonte rica em vitaminas, sais minerais e fibra, e pelo fato de no Brasil, ser uma cultura tradicionalmente cultivada por pequenos produtores, concentrados principalmente em zonas produtivas próximas as áreas metropolitanas, chamados “cinturões-verdes”, devido ao seu curto ciclo de vida (VILLAS BÔAS et al., 2004; HENZ & SUINAGA, 2009).

A planta é caracterizada como herbácea, com caule curto onde ficam presas as folhas, que são amplas e se desenvolvem em forma de roseta. Apresenta um

sistema radicular superficial, porém bastante ramificado, explorando somente as camadas superficiais da terra, entre 20 e 40 cm, attingir chegar em 60 cm em condições especiais e semeadura direta (FILGUEIRA, 2008). Por ser uma cultura de clima temperado, praticamente todas as cultivares se desenvolvem em climas amenos, porém também são produzidas em regiões com temperaturas mais elevadas, causando aceleração no ciclo cultural, e dependendo do genótipo, pode resultar em plantas menores devido ao pendoamento mais precoce (HENZ & SUINAGA, 2009)

A cultura da alface atualmente possui uma grande variedade de tipos no mercado, e Ryder em 1999 propôs uma classificação baseada nas variações de formato, tamanho de folhas e grau de sobreposição das mesmas na formação da cabeça. Essa classificação resultou na determinação dos seis principais tipos produzidas no mundo, americana (crisphead), aspargo ou caule (stem), crespa (leaf), lisa (butterhead), romana (cos) e oleaginosa (oilseed). (SUINAGA et al., 2013).

No Brasil, os principais tipos de alfaces cultivados são crespa, americana, lisa e romana, em ordem de importância econômica). Dessas, as duas com maior importância, lisa e crespa, foram as variedades desenvolvidas para o cultivo em regiões tropicais, mais especificamente no período de verão, com temperaturas e pluviosidades mais elevadas (SALA & COSTA, 2012; HENZ & SUINAGA, 2009).

A produção da alface no Brasil, varia entre pelo menos quatro tipos de sistemas de produção, o cultivo convencional, sistema orgânico, campo aberto, e cultivo protegido em sistema hidropônico e no solo (FILGUEIRA, 2005; RESENDE et al., 2007).

O sistema de produção em campo aberto e convencional, em termos de área e de produção é o mais importante, entretanto, devido às limitações relacionadas a sensibilidade da cultura em condições adversas de temperatura, umidade do ar precipitação, o cultivo protegido vem aumentando em importância. Esse sistema pode ser realizado no solo, utilizando estruturas de casa de vegetação, telados ou tuneis, ou pelo cultivo hidropônico, que consiste em produzir a alface sem uso de solo, em calhas ou canos PVC, somente com a circulação da solução nutritiva nas raízes (HENZ & SUINAGA, 2009; SALA & COSTA, 2012).

Entretanto, é o sistema de produção orgânica que apresenta grande potencial de mercado, pois a alface é uma das poucas hortaliças consumidas exclusivamente *in natura*, e quando produzidas sem agrotóxicos apresentam alto valor agregado (ALMEIDA et al. 2008; FONTANÉTTI et al. 2006). Entretanto para a disponibilidade dos nutrientes dos adubos orgânicos, é necessário que ocorra o processo de mineralização realizado por microrganismos decompositores. Por isso o manejo do solo na produção orgânica consiste em práticas que incrementem ou potencializem as atividades biológicas no solo (RODRIGUES & CASALI, 1999; SEDIYAMA et al. 2014).

3.5 Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV)

No solo há uma diversidade de microrganismos que em sua maioria habitam na região da rizosfera, zona onde ocorrem interações entre os organismos, as plantas e o solo (OLIVEIRA et al. 2003). Na rizosfera é possível isolar uma grande variedade de vírus, bactérias, protozoários e fungos, que são diferenciados pelo efeito benéfico, prejudicial ou neutro que podem causar nas plantas (OLIVEIRA et al. 2003; OKON et al., 2015). Esses microrganismos caracterizados com benéficos ou associativos, podem ser rizobactérias ou fungos que podem promover o crescimento nas plantas (OLIVEIRA, et. al. 2003).

As bactérias de vida livre encontradas na rizosfera, bem como bactérias endofíticas, que afetam o desenvolvimento das plantas de vários modos, são chamadas de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), e estão incluídas nesse grupo vários gêneros, como: *Azospirillum*, *Azoarcus*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Pseudomonas*, e *Bradyrhizobium* entre outros (REIS et al. 2007). Essas bactérias ocorrem naturalmente no solo e atuam através de diversos mecanismos, de ação direta ou indireta, na promoção do crescimento vegetal (OLIVEIRA et. al., 2003).

Os mecanismos diretos proporcionados pela ação das BPCV incluem, por exemplo, a fixação biológica, produção de fitômonios, capacidade de solubilização de fósforo e até mesmo a aceleração dos processos de mineralização (OLIVEIRA et al., 2003). Já os mecanismos indiretos incluem a indução de resistência (biótica ou abiótica), diminuição de fatores de estresse como o etileno endógeno, produção de antibióticos,

e antagonismo a fitopatógenos, entre outros mecanismos já pesquisados. O resultado dessa ação é o favorecimento do crescimento vegetal aérea e principalmente das raízes, melhorando a absorção de nutriente e água (OLIVEIRA et al., 2003; REIS, 2007).

Para agricultura orgânica esses organismos são essenciais, sua premissa é que a fertilidade do solo ocorre em função da matéria orgânica contida ou fornecida ao mesmo, e para que essa matéria orgânica disponibilize os nutrientes é necessário a ação dos microrganismos decompositores e mineralizadores existentes ou adicionados ao solo durante o processo produtivo (ORMOND et al., 2002).

Um dos entraves na produção orgânica desde a década passada é a pouca disponibilidade de fontes eficazes de N, com baixo custo. O uso de esterco, compostos e resíduos orgânicos são as principais fontes de N. Entretanto, não conseguem suprir a agricultura orgânica atual, por isso o uso de adubação verde com leguminosas assumem uma relevância, devido a associação específica de bactérias fixadoras nitrogênio (ALMEIDA et al., 2008; ESPINDOLA et al., 2005). Entretanto, outras espécies de bactérias endofíticas já foram registradas com capacidade de fixação de nitrogênio, como *Herbaspirillum seropedicae* (BALDANI et al., 1986), *Acetobacter diazotrophicus* (CAVALCANTE & DÖBEREINER, 1988), *Azoarcus spp.* (REINHOLD-HUREK et al., 1993), *Alcaligenes faecalis* (YOU & ZHOU, 1989) e *Azospirillum* (BALDANI & BALDAN, 2005) em tipo de plantas variadas como cereais, arroz, gramíneas forrageiras, tubérculos, tomate entre outras (REIS et al., 2000).

Além disso, na fertilização orgânica o aporte de elementos fundamentais com P e K, se dá pelo uso de farinha de ossos, rochas moídas semi-solubilizadas ou tratadas termicamente (fosfato naturais), matérias naturais com baixa solubilidade, evidenciando a importância da ação de microrganismos mineralizadores e especialmente de solubilizadores de fosfato (DAROLT & NETO, 2002). Essa capacidade de solubilização de fosfatos inorgânicos, já foi apresentada por alguns estudos, com Henri et al. (2008) que identificou de forma eficaz a conversão de fosfato insolúvel inorgânico em uma forma solúvel pela inoculação de *Pseudomonas fluorescens* em condições de laboratório e El-Komy (2004) que apresentou resultados positivos na eficiência de solubilização do fosfato pelas espécies *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus megaterium* e diferentes cepas de *Azospirillum* em meio de

cultura, e nos indicadores produtivos quando inoculados o *Azospirillum lipoferum* sozinho e associados ao *B. megaterium*.

Embora centenas de espécies e fungos e bactérias já tenham sido identificadas como capazes de promover melhorias no crescimento das plantas, algumas espécies foram comercialmente exploradas (BALACHANDAR, 2012). Esses produtos comerciais que carregam os microrganismos vivos para utilização na promoção do crescimento vegetal são definidos como inoculantes (REIS, 2007).

3.5.1 Inoculantes na Agricultura

Os inoculantes segundo a legislação brasileira são “substâncias que contenham microrganismos com a atuação favorável ao desenvolvimento vegetal”, e “devem ser elaborados em suporte que forneça todas as condições de sobrevivências ao microrganismo” (Brasil, 1981; Brasil, 2011).

O uso de inoculantes comerciais no Brasil iniciou-se com a introdução da cultura da soja, que por ser uma espécie exótica, não possuía em solos brasileiros as bactérias fixadoras de nitrogênio compatíveis com a cultura pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*. Isso estimulou o desenvolvimento da pesquisa no Brasil, que desde 1960 veio desenvolvendo melhores estipes. Entretanto a indústria dos inoculantes se fortaleceu quando a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, passou a conduzir várias pesquisas em todas as regiões produtoras da cultura, e apresentando incrementos médios de até 8% nos rendimentos dos grãos, chegando ao ponto da substituição do inoculante sobre a adubação nitrogenada para a cultura (NOGUEIRA & HUNGRIA, 2013; HUNGRIA et al., 2001).

Estima-se que 95% dos inoculantes à base de bactérias promotoras de crescimento comercializados atualmente no Brasil destinam-se à cultura da soja. Entretanto, sabe-se por diversos estudos que a variedade de gêneros de bactérias promotoras de crescimento é grande, e que o mecanismo de ação delas podem ser específicas a grupos de plantas, ou podem proporcionar benefícios para as diversas gêneros ou espécies de vegetais (NOGUEIRA & HUNGRIA, 2013; OLIVEIRA et al., 2003).

Outro tipo de inoculante que vem ganhando o mercado, é o composto pelo gênero *Azospirillum*. Os estudos no Brasil sobre os efeitos desse gênero de bactérias, existe desde a década de 70, sendo uma das pioneiras a Dra Johanna Döbereiner em 1976. Apesar da maioria dos inoculantes de *Azospirillum* no Brasil serem recomendados e testados em gramíneas, existem uma diversidade de estudos pelo mundo com uso de isolados do gênero apresentando efeitos positivos à uma diversidade de espécies vegetais (REIS, 2007; PEREG et al., 2016)

3.5.2 *Azospirillum basiliense*

O gênero *Azospirillum* inclui no grupo das bactérias promotoras do crescimento, e caracteriza-se por ser uma bactéria de vida livre, podendo ter comportamento de endofítica facultativa, conforme demonstrado em alguns estudos, e pode ser encontrada na maioria dos solos, em condições aeróbias e anaeróbias. O gênero foi descoberto durante a década de 1970 pela Dra. Johana Döbereiner e seus colegas, e inicialmente anunciada como promotor de crescimento vegetal associativo para cereais. Em consequência, os primeiros inoculantes usado na produção agrícola eram para essas culturas (HUNGRIA, 2011; PEREG et al., 2016; DÖBEREINER & DAY, 1976). Entretanto os estudos com a associação de estipes de espécies de plantas forma avançando, ficando claro que muitos isolados desse gênero podem promover o crescimento e influenciar no metabolismo de muitas espécies de plantas anuais, perene, árvores, ornamentais e até mesmo microalgas de célula única (PEREG et al., 2016).

Apesar do gênero *Azospirillum* ter ficado conhecido pelos dois principais mecanismos de promoção de crescimento vegetal: fixação de nitrogênio atmosférico e produção de hormônios, entretanto os mecanismos de estímulo ao crescimento das plantas por esse gênero é variado (TIEN et al. 1979, e BASHAN & DE-BASHAN; 2010). Esses mecanismos consistem na produção de hormônios como ácido indol-3-acético e giberelinas e citocininas, na capacidade de fixação biológica no N₂ atmosférico, aumento da absorção de nutrientes pela planta, capacidade de solubilização e fosfato entre outros. Esses efeitos da bactéria sobre as culturas vão variar conforme as formas em que ocorre a associação entre elas (BASHAN & DE-BASHAN; 2010).

A associação entre as plantas e as bactérias do gênero *Azospirillum* são definidas como mutualísticas, com possível especificidade de hospedeiro com as bactérias em qualquer nível (gênero, espécie ou estirpe), e para uma espécie vegetal ser considerada hospedeira, a planta deve abrigar as bactérias ligadas ou internas aos seus tecidos. A colonização da superfície das raízes ocorre em pequenos agregados microbianos, preferencialmente em zonas de alongamento de raízes, de pelos radiculares e na região de emergência das raízes laterais, de forma interna ou externa a raízes, e podem estar presentes colonizando até mesmo o caule como na cultura do arroz (*Oryza Sativa*) (PEREG et al., 2016)

Atualmente são descritas 14 espécies do gênero *Azospirillum*, delas, apenas uma pequena variedade de estirpes das espécies *A. brasilienses* e *A. lipoferum* tem sido usualmente aplicada em ensaios de inoculação, e somente estirpes dessas espécies apresentam inoculantes comercialmente disponíveis no mercado para variedade de culturas (PEREG et al., 2016).

As estirpes das espécies *Azospirillum brasiliense* são as mais estudadas ao longo dos anos, e a pesquisa precursora citada anteriormente, teve como impulso a compreensão da capacidade dessa bactéria de fixação biológica de nitrogênio em cereais (PEREG et al, 2016; REIS, 2007). As pesquisas sobre o uso das espécies nas culturas gramíneas foram surgindo e verificaram resultados com médias 20 a 30% de incrementos na produção dos grãos proporcionados pela capacidade de FBN (REIS, 2007). No Brasil até 2001 aproximadamente 15% da área de leguminosas foram co-inoculadas com *Azospirillum brasiliense* e *Bradyrhizobium*, indicando o sucesso do uso do *Azospirillum* na produção de grãos (DOBBELARE et al., 2001).

Em experimento realizado por Galindo et al. (2016), com inoculação da cultura do milho com diferentes doses do fertilizante de cobertura em duas safras consecutivas, 2013/14 e 2014/2015, foram observados incrementos e efeitos em diversos fatores produtivos como o uso da inoculação. Desses fatores destacou-se as maiores concentrações de P e S, podendo ser resultado do aumento do desenvolvimento das raízes influenciada pela produção de hormônios como AIA, ou o próprio hormônio que pode influenciar na absorção dos nutrientes e promovendo maiores concentrações foliares. Outros resultados encontrados com a inoculação do *A. brasiliense* demonstrando a viabilidade da utilização da tecnologia, foram

incrementos no teor de clorofila, aumento na eficiência agrônômica nas doses de N aplicadas, indicando menor perda do N aplicado, e aumento de 22,9% do rendimento dos grãos.

Como a espécie já bem conhecida através dos estudos com gramíneas, as estirpes conhecidas, começaram a ser estudados em outras culturas no pelo mundo, com o objetivo de identificar a afinidade de gêneros/espécies de plantas como as estirpes do *Azospirillum* já estudadas, e se essa relação pode proporcionar incrementos como os observados nos grãos (PEREG et al, 2016).

Nesse contexto desenvolveu-se os estudos para as espécies de hortaliças, como por exemplo na cultura do tomate onde foram encontrados efeitos positivos no comprimento de raízes, estímulo no desenvolvimento de pelos radiculares e raízes laterais (BOTTA et al., 2013; BECKER et al., 2002) e incremento na biomassa (BOTTA et al., 2013), no pepino em sistema hidropônico a inoculação do *A. brasiliense* proporcionou a raiz inicial maior desenvolvimento (hipocótilo), e maior projeção da área de raiz da planta (PEREYRA et al., 2010).

Na cultura da alface, apesar de serem poucos os estudos, alguns já apresentaram resultados interessantes em relação aos possíveis efeitos na espécie. Barassi et. al. (2006) estudando parâmetros de germinação de mudas em condições salinas, observou que a inoculação com o *A. brasilienses* promoveu um aumento na germinação não só nos tratamentos expostos a salinidade, que variaram em 4,1%, 11,5% e 87,5%, nas doses respectivas de 30, 50 e 80mol m³ de NaCl, mas também um aumento de 10% para tratamento em condições normais. Além disso também foram observados incrementos no parâmetro de biomassa da planta com a inoculação em os tratamentos, incluindo em condições normais de salinidade, promovendo um aumento de 56% da biomassa, em plantas avaliadas ao 30 das.

Alguns estudos recentes relacionados a parâmetros de crescimento e desenvolvimento da planta de alface, já demonstraram efeitos positivos do uso da inoculação de *A. brasiliense*. Entre esses parâmetros estão o aumento do comprimento radicular, incremento de massa de parte área e raiz em mudas e plantas adultas (LIMA et al., 2017; FLORENTINO et al. 2017) além do incremento no diâmetro de cabeça para plantas já na fase de colheita (LIMA et al. 2017).

Apesar de alguns trabalhos mostrarem que o uso da BPCV do gênero *Azospirillum* proporcionam efeitos variados, na maioria desses estudos são usadas bactérias isoladas e propagadas em laboratório, dificultando o acesso dessas tecnologias ao produtor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização e condição do experimento

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília localizada em Brasília, DF (Latitude 15°44'6,13" S, Longitude 47°53'0,77" W e altitude de 1011m). O clima da região de tipo Aw segundo classificação Köppen (tropical estacional de savana), com período chuvoso de outubro a março e estação seca bem definida de abril a setembro. A precipitação pluviométrica e a temperatura média durante a condução do experimento estão representadas na Figura 1.

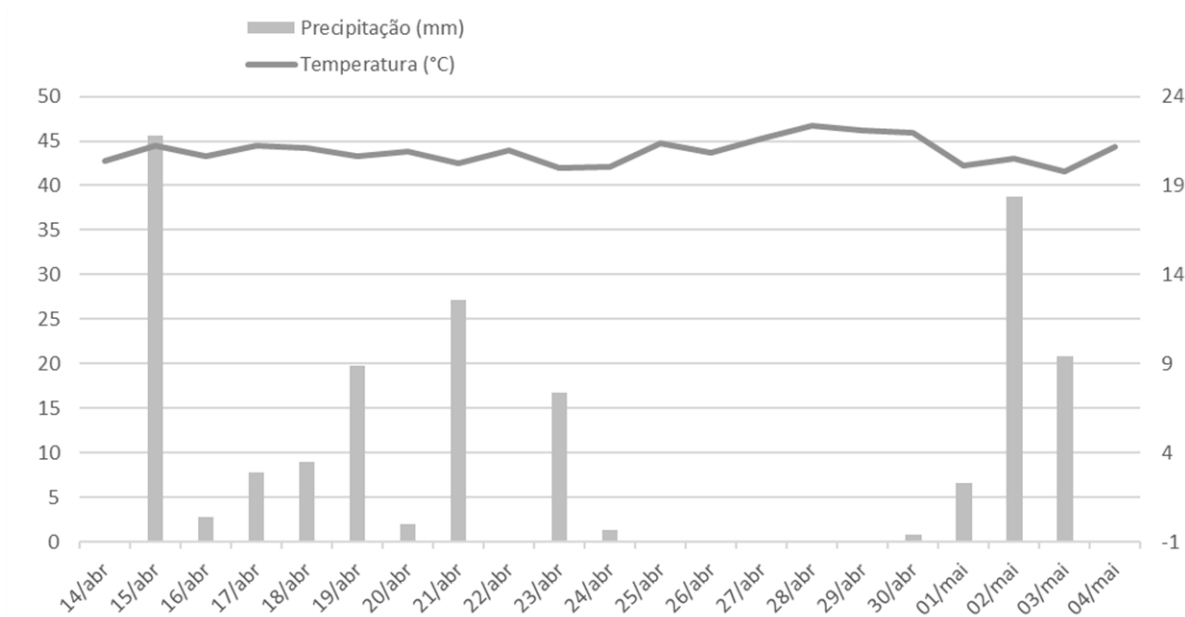


Figura 1: Dados de distribuição de precipitação e temperatura média da região onde foi realizado o experimento no período de 14 de abril a 04 de maio da estação experimental automática de Brasília, DF (Fonte: INMET).

As mudas foram produzidas em uma estrutura construída sobre uma bancada de ferro, com pé direito de 1,85 metros de altura, 3 metros de comprimento e 1,40 metros de largura, coberta com filme plástico transparente com 150 microns, e envolvidas por tela clarite (Figura 2). Na bancada de ferro foram estendidos arames de aço galvanizados possibilitando que as bandejas ficassem suspensas, proporcionando a poda natural das raízes pela luz e oxigênio (Figura 2).



Figura 2: Estrutura construída para abrigar as mudas de alface, e distribuição espacial das bandejas do experimento.

4.2 Condução do experimento

Para produção das mudas de alface foram utilizadas bandejas de polietileno de 200 células com dimensões de 53 cm de comprimento, 27 cm de largura e 4,2 cm de altura, e capacidade de 12,5 ml de substrato por célula. O substrato comercial utilizado para produção das mudas foi Carolina Soil, registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e aprovado pelo IBD, para a utilização na produção orgânica, e apresentam as características técnicas de condutividade elétrica de 1,5 dS/m diluição (1:5) variação 0,1 dS/m, pH: 5.65 variação de 0.25, 51% de CRA (capacidade de retenção de água), 76% de porosidade total, CTC (capacidade de troca catiônica): 1200 mmolc dm⁻³, com Sphagnum, vermiculita expandida, resíduo orgânico agroindustrial tipo Classe A , e calcário.

No substrato foi incorporado 1kg de Yoorin Master® (17,5% P₂O₅; 7% Mg; 20% Ca; 0,55% Zn; 0,1% B; 0,12% Mn; 0,006% Mo; 0,05% Cu), e 5 litros de água para um saco de 45 litros, misturando sobre uma lona e até obter umidade homogênea em

todo o material. Depois de úmido o substrato foi distribuído nas bandejas, manualmente uma por uma.

O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados com 4 tratamentos e 4 repetições, totalizando 16 unidades experimentais (UEs), sendo cada bandeja uma unidade experimental. Os tratamentos foram (T1) testemunha (sem aplicação de inoculante) e 3 doses do inoculante líquido Masterfix gramíneas L da Stoller (estirpes Ab V6 + Ab V5) na concentração de 5×10^8 células por mL de produto, produto autorizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para uso na produção orgânica.

As concentrações do inoculante para a inoculação das sementes foram calculadas baseadas na recomendação para milho, que consiste em 100ml/60000sementes, resultando em 0,333ml para 200 sementes, número de sementes equivalentes a cada unidade experimental. Como a semente utilizada foi peletizada, com presença do tratamento químico, foi adicionado 12% a mais resultando na dose de 0,375ml/bandeja. Dessa forma as doses foram definidas como (T2) 0,175ml/bandeja (meia dose), (T3) 0,375 ml/bandeja (similar a recomendada ao milho) e (T4) 0,750 ml/bandeja (dobro da dose).

A semeadura foi realizada no dia 13/04/2019 e as sementes de Alface cultivar Samira TOPSEED PREMIUM da AGRISTAR, foram distribuídas na quantidade de 1 semente/célula de forma manual, após a aplicação do inoculante.

Os tratamentos inoculados receberam a aplicação do inoculante previamente na semente e duas aplicações foliares aos 7 dias e aos 14 dias após semeadura. Como o fabricante do produto não apresenta recomendações de concentração de calda, para aplicações foliares as aplicações foram feitas em uma concentração de (T1) 0,175ml/200ml, (T2) 0,375ml/200ml e (T3) 0,750ml/200ml. Para realizar a aplicação via foliar do inoculante as bandejas foram retiradas da estrutura, dispostas sobre uma bancada e a aplicação foi feita com as quatro bandejas do mesmo tratamento juntas utilizando um pulverizador manual de com volume de dois litros.

Foi feita a complementação nutricional através da fertirrigação das mudas com insumos permitidos para uso em sistema de produção orgânica. Foi preparada a solução nutritiva estoque composta por TOP-N Nutriceler ($500\text{ml} \cdot 10\text{L}^{-1}$), Kmag ($150\text{g} \cdot 10\text{L}^{-1}$), sulfato de ferro ($4\text{g} \cdot 10\text{L}^{-1}$), sulfato de cobre ($2\text{g} \cdot 10\text{L}^{-1}$), sulfato de manganês ($4\text{g} \cdot 10\text{L}^{-1}$); sulfato de zinco ($3\text{g} \cdot 10\text{L}^{-1}$), resultando na concentração de nutriente de na tabela 1. Após a emergência das plantas, a fertirrigação foi conduzida

a cada 2 dias, utilizando regador de 10 litros para as 16 unidades experimentais com diluição de 600ml da solução estoque, resultando em $1,2 \text{ mS.cm}^{-1}$ de condutividade elétrica. A irrigação foi realizada todos os dias 2 vezes ao dia, com regador de 10 litros para as 16 bandejas, fornecendo 625ml de água para cada bandeja.

Tabela 1: Concentração dos nutrientes em g/L da solução nutritiva aplicada em fertirrigação nas mudas.

	N	K ₂ O	S	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
TOP-N	4,20	-	-	-	-	-	-	-
Kmag	-	3,95	3,95	1,88	-	-	-	-
Sulfato de Fe	-	-	-	-	0,12	-	-	-
Sulfato de Mn	-	-	0,07	-	-	0,12	-	-
Sulfato de Zn	-	-	0,05	-	-	-	0,10	-
Sulfato de Cu	-	-	-	-	-	-	-	0,05

O experimento teve uma duração de 21 dias, momento em que as mudas apresentaram as características de qualidades apropriadas para realização dos transplantio (Figura 3).

4.3 Avaliação das mudas

Para realização das análises dos parâmetros, foi feita a amostragem aleatória de dez mudas aos 11 dias e dez mudas aos 21 dias após semeadura por unidade experimental. Após a coleta as mudas foram levadas ao laboratório e as raízes foram lavadas com água de forma cuidadosa para a retirada do torrão. Foram realizadas as medições de comprimento de raiz (CR), comprimento de parte aérea (CPA), e comprimento total (CT) das mudas, com auxílio de um paquímetro.

As mudas de 21 dias foram separadas parte aérea das raízes e avaliadas com auxílio de balança analítica a massa úmida parte aérea (MUPA), massa úmida de raiz (MUR), massa úmida total (MUT) pela soma dos anteriores, em miligramas. Posteriormente foram embaladas em folhas de jornal e passaram pela estufa com ventilação forçada e temperatura de 65°C por 72 horas, para retirada de toda umidade

das amostras, e obtenção da massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST), em miligramas.



Figura 3: Aspectos das mudas aos 21 dias após a semeadura, fase em que foram conduzidas as análises.

Posteriormente os dados foram submetidos à análise de variância da significância pelo teste F, as e os parâmetros comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), com auxílio do software SISVAR.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comprimento de parte aérea (CPA), e comprimento de raiz (CR), em dois estágios de desenvolvimento das mudas estão apresentados na figura 4. Observou-se que aos 11 dias de desenvolvimento, as mudas não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos e a testemunha para o comprimento de parte aérea (CPA). No comprimento de raiz (CR) e comprimento total (CT), o tratamento com aplicação do dobro da dose (0,750ml/bandeja), apresentou resultados superiores significativos em comparação a testemunha e o tratamento com a metade da dose (0,175ml/bandeja), com aumentos respectivos de aproximadamente 17% e 14% no comprimento de raiz (CR) e 9 e 11 % de comprimento total (CT).

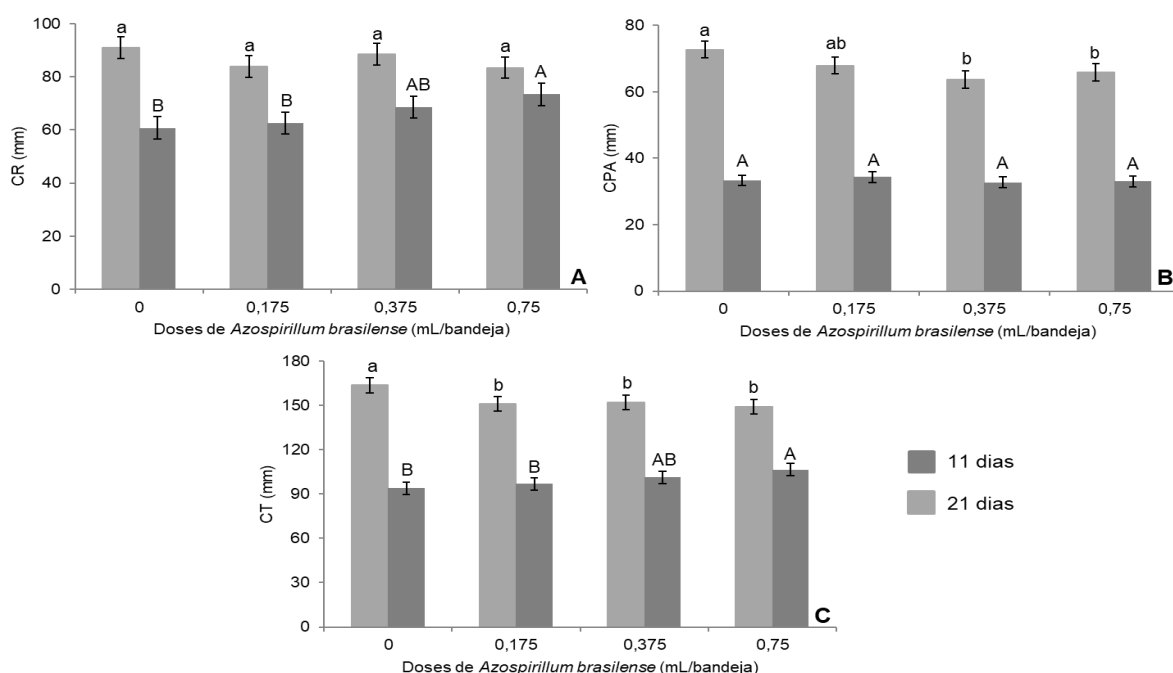


Figura 4: Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas, não diferem entre si na avaliação de 11 dias, e minúsculas, na avaliação de 21 dias, para (A) comprimento de raiz (CR), (B) comprimento de parte aérea (CPA) e (C) comprimento total (CT) de mudas de alface cv. Samira cultivadas com quatro doses (0; 0,175; 0,375; 0,750 ml/bandeja) do inoculante líquido de *Azospirillum brasilense* (estirpes Ab V5 + Ab V6) avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram obtidos por Floriano et al. (2017) ao avaliarem diversas estirpes de bactérias capazes de produzir 3-indol acético (AIA) hormônio vegetal, entre elas uma estirpe de *A. brasiliense* (Ab V5), que apresentou resultados superiores significativamente em comprimento de raiz em alface, para plântulas aos 7 e 15 dias de vida, período próximo aos avaliados neste experimento de 11 dias. Esses resultados ocorreram devido à capacidade da estirpe de produção do 3-indol acético (AIA), hormônio vegetal que participa de diversos mecanismos da fisiologia das plantas, entre eles a divisão, extensão e diferenciação de células e tecidos vegetais (BASHAN & DE-BASHAN, 2010).

Na fase final da muda (21 dias), observam-se resultados diferentes dos obtidos aos 11 dias. Não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos em relação ao parâmetro de comprimento de raiz (CR) (Figura 4). Esse resultado pode ter sido influenciado pelo processo de limpeza do torrão, na fase final da muda, devido ao grande volume de raízes em todos os tratamentos, apresentando dificuldade para desprender do substrato.

Em relação ao de comprimento de parte aérea (CPA), para as mudas com 21 dias a testemunha apresentou resultados superiores sobre os tratamentos inoculados com a dose recomendada (0,375ml/bandeja) e o dobro (0,750ml/bandeja).

Nas figuras 5 e 6, onde estão apresentados dados a massa seca (MS) e massa úmida (MU) das raízes, é possível observar que a dose de (0,375ml/bandeja) apresentou resultados semelhantes a testemunha para massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST), com resultados estatísticos superiores aos tratamentos de meia dose (0,175ml/bandeja) e dobro da dose (0,750 ml/bandeja) (Figura 5).

Os únicos parâmetros que não apresentaram esse comportamento foram os de massa úmida de parte aérea (MUPA) e consequentemente, massa úmida total (MUT) (Figura 6). Entretanto a massa úmida é um parâmetro muito sensível às oscilações hídricas, portanto para avaliar o desenvolvimento de uma planta o melhor parâmetro é o de massa seca.

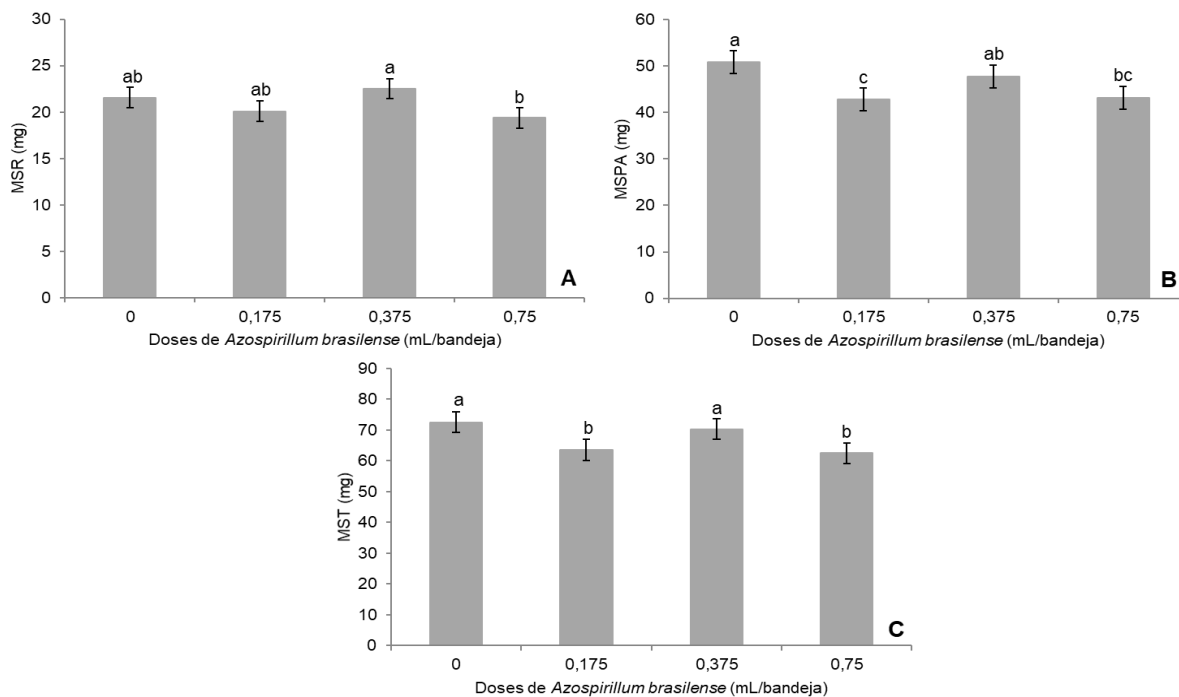


Figura 5: Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si na avaliação de 21 dias para (A) massa seca de raiz (MSR), (B) massa seca de parte aérea (MSPA) e (C) massa seca total (MST) de mudas de alface cv. Samira após semeadura, cultivadas com quatro doses (0; 0,175; 0,375; 0,750 ml/bandeja) do inoculante líquido de *Azospirillum brasilense* (estirpes Ab V5 + Ab V6) avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Esses resultados indicam que é possível que a dose de 0,375ml/bandeja do inoculante tenha favorecido o desenvolvimento das mudas. E em uma nova avaliação submetidas a melhores condições de proteção, como cultivo protegido em viveiros maiores, os resultados seriam mais significativos. No presente trabalho a estrutura e a alta precipitação em alguns dias durante a condução das mudas (figura 1), que podem ter causado os resultados observados.

Mesmo com essas variações de resultados em relação aos tratamentos com o *A. brasilense*, quando comparados com outros estudos com a cultura da alface, as médias dos parâmetros de qualidade de mudas apresentados no presente trabalho, ficaram semelhantes aos dados obtidos por outros autores. Em experimento realizado por Marques et al. (2003) avaliando a qualidade das mudas de alface em bandejas com 128, 200 e 288 células, observou que as médias de comprimento de raiz foram de 8.1, 6.3, 5 cm, valores inferiores aos obtidos neste estudo que variaram entre 8.3

e 9.0 cm desenvolvidas em bandejas de 200 células. Assim, a qualidade de mudas do atual estudo apresentou superioridade aquelas observadas em outros trabalhos como de Marques et al. (2003).

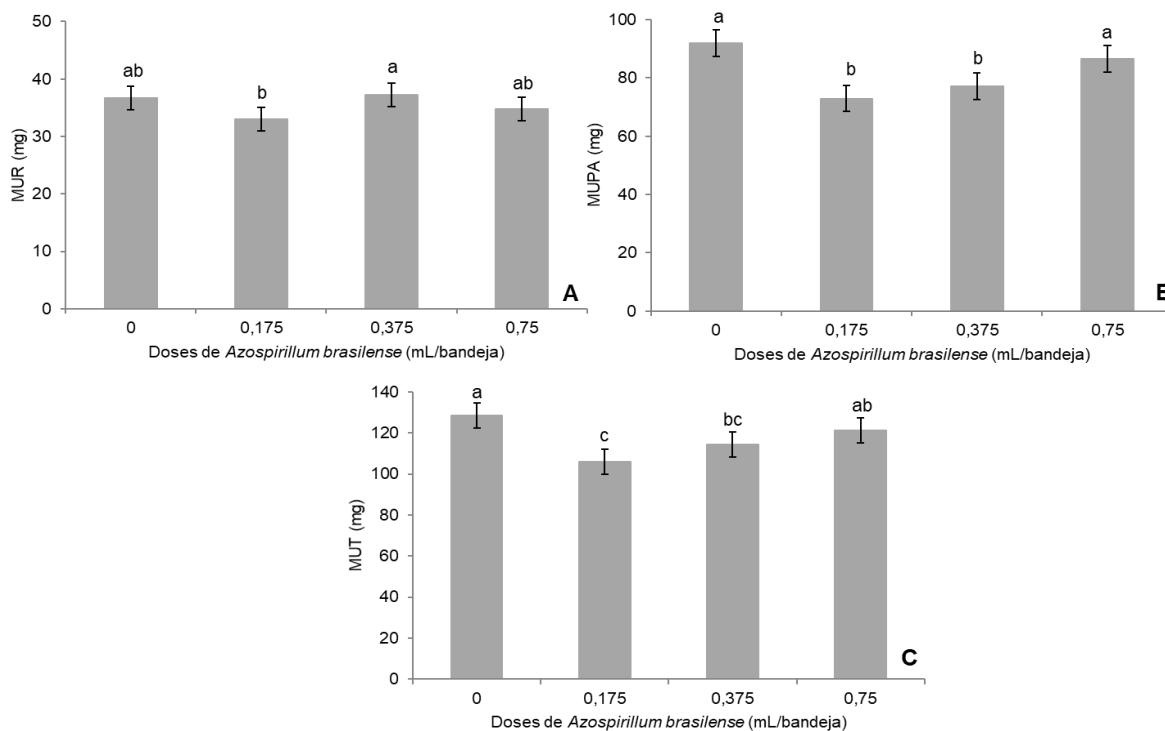


Figura 6: Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si na avaliação de 21 dias para (A) massa úmida de raiz (MUR), (B) massa seca de parte aérea (MUPA), (C) massa úmida total (MUT) de mudas de alface cv. Samira com 21 dias após semeadura, cultivadas com quatro doses (0; 0,175; 0,375; 0,750 ml/bandeja) do inoculante líquido de *Azospirillum brasilense* (estirpes Ab V5 + Ab V6) avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. .

Nos estudos da produção de mudas as principais avaliações são de desenvolvimento de raízes e parte aérea, pois estes interferem diretamente no desempenho da planta no campo. Segundo Nunes & Santos (2007) mudas com vigor vegetativo e bom desenvolvimento de raízes quando transplantadas apresentam melhor resistência às adversidades, melhor adaptação no campo, maior capacidade de expressar o potencial produtivo da cultura. Em estudo com diferentes condicionadores de substrato para produção de mudas de alface, Simões et al. (2015), apresentaram resultados que mostraram que o substrato com menores médias de massa seca de parte aérea e de raiz (MSPA, MSR) e índice de qualidade de mudas

(IQM) aos 21 dias, também resultou em plantas com médias de massa fresca comercial, massa fresca de parte aérea e produtividade estatisticamente menores no campo ao final do ciclo de 45 dias.

O número de estudos relacionados ao uso da inoculação de *Azospirillum* na produção de mudas de alface, e para sistemas de produção de hortaliças no Brasil é muito limitado, além disso, são estudos mais recentes. A maioria está relacionada a gramíneas, por isso os inoculantes disponíveis para uso na agricultura são fabricados para essa família de plantas.

Para a produção de mudas de alface, Floriano et al. (2017) observaram o efeito do aumento no comprimento radicular de plântulas aos 7 dias com a inoculação do *Azospirillum brasiliense*. Góes et. al. (2016), avaliando a inoculação de bactérias diazotróficas, entre elas uma estirpe de *Azospirillum brasiliense*, em plântulas de alface, observaram resultados estatisticamente superiores no comprimento de raízes e parte aérea do tratamento com a inoculação sobre as mudas não inoculadas. Em ambos esses trabalhos a promoção do crescimento das raízes está relacionado a capacidade da bactéria de produção de fitormônios, também avaliados nesses estudos.

Na produção de hortaliças, em geral, em pesquisas mais recentes realizadas em plataforma acadêmica foi encontrado um único estudo avaliando diretamente a inoculação do *Azospirillum brasiliense*. Lima (2018) avaliou o desempenho de duas variedades de tomate aos 30 e 60 DAT, em dois experimentos simultâneos, a campo e em casa de vegetação, sobre a inoculação de diferentes doses do inoculantes de *A. brasiliense*. Os resultados obtidos em casa de vegetação foram aumento da altura de plantas, diâmetro de caule e teor de clorofila e comprimento, volume e massa seca de raiz e massa seca de parte aérea com inoculação para as duas cultivares em 60 DAT. No experimento a campo os incrementos obtidos pela inoculação do *A. brasiliense* foram o aumento da altura de plantas em 30 e 60 DAT, e na produção de até 1,3Kg/planta para a variedade GM, e 0,604Kg/planta para variedade SM.

Apesar dos resultados encontrados não serem conclusivos em relação ao uso do inoculante comercial de *Azospirillum* na produção orgânica de mudas de alface, essa linha de pesquisa apresenta-se como promissora, pois os efeitos das bactérias desse gênero já encontrados nas plantas estão relacionados, principalmente, a promoção do desenvolvimento de parâmetros essenciais para obtenção de mudas de qualidade, além de, possivelmente poderem proporcionar a redução do uso de

insumos na fase de produção. Para isso é necessária a continuidade dos estudos e desenvolvimento de produtos que seja disponível para uso pelos produtores e estejam dentro dos padrões para certificação.

6. CONCLUSÕES / CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para as condições desenvolvidas no experimento, a inoculação do *Azospirillum brasiliense* apresentou promoção de crescimento em estado inicial de desenvolvimento apenas no comprimento de raízes. Para os outros atributos de crescimento das mudas de alface a inoculação não promoveu diferença em comparação as mudas sem inoculação.

Em relação as diferentes doses aplicadas, a de 0,350ml/bandeja, apresentou melhores efeitos na promoção de crescimento, se comparadas com as outras doses, entretanto os resultados encontrados são insuficientes para descrever a influência das doses avaliadas nos atributos de crescimento de mudas de alface.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCSEM – Associação Brasileira de Comércio de Sementes e Mudas. 2014. 2º levantamento de dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil. Disponível em . Acessado em 08 de junho de 2019.

ABREU, M. F.; ABREU, C. A. BATAGLIA, O. C. Uso da análise química na avaliação da qualidade de substratos e componentes. In: ENCONTRO NACIONAL DE SUBSTRATOS PARA PLANTAS, 3, Campinas, **Anais**, São Paulo: Instituto Agrônômico de Campinas, 2002. p. 17-28.

ALMEIDA, M. M. T. B.; LIXA, A. T.; SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H.; DUARTE, R. DE L. R. Fertilizantes de leguminosas como fontes alternativas de nitrogênio para produção orgânica de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.6, p.675-682, jun. 2008.

ALMEIDA, M. M. T. B.; LIXA, A. T.; SILVA, E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H.; RIBEIRO, R. L. D. Fertilizantes de leguminosas como fontes alternativas de nitrogênio para produção orgânica de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 43: 675-682, 2008.

Anuário Brasileiro de Hortaliças 2017. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 56 p., 2016.

BALACHANDAR, D. Biofertilizers – What next?. **Jornal of Biofertilizers and Biopesticides**, v. 3, 2012.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: Special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, vol. 77, p. 549–579, sept. 2005.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; SELDEJ, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a Root-Associated Nitrogen-fixing Bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.36, p. 86-93, jan. 1986.

BARASSI, C. A.; AYRAULT, G.; CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; SOBRERO, M. T. Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce. **Scientia Horticultura**, e. 109, p.8-14, 2006.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth – a critical assessment. **Advances in Agronomy** v.108, p 77-136, 2010.

BECKER D.; STANKE, R.; FENDRIK, I.; FROMMER, W. B.; VANDERLEYDEN, J.; KAISER, W. M.; HEDRICH, R. Expression of the NH_4^+ -transporter gene LEAMT_{1;2} is induced in tomato roots upon association with N_2 -fixing bacteria. **Planta**, v.215, p.424–429, jul. 2002.

BORGES, C. S. Rizóbios como promotores de crescimento de plantas olerícolas. 2016. 94 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

BORGUINI, R. G.; OETTERER, M.; SILVA, M. V. Qualidade nutricional de hortaliças orgânicas. Boletim SBCTA, v.37, n.1, p. 28-35, 2003

BOTTA, A. L.; SANTACECILIA, A.; ERCOLE, C.; CACCHIO, P.; DEL GALLO, M. In vitro and in vivo inoculation of four endophytic bacteria on *Lycopersicon esculentum*. **New Biotechnology**, v.30, p.666–674, set. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária Instrução Normativa Nº 13, de 24 de março de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretário de Defesa Agropecuária. Lei Nº 6.934, de 13 julho de 1981.

CAVALCANTE, V. A.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, v.108, p.23–31, may. 1988.

CHONGBIAO, Z. F. Y. Interaction between diazotrophic bacteria *Alcaligenes faecalis* and host plant rice. **Scientia Agricultura Sinica**, v.21, p.7–13, 1988.

DAROLT, M. R. As principais correntes do movimento orgânico e suas particularidades. Disponível em: www.planetaorganico.com.br. Acessado em 11 de junho 2019.

DAROLT, M. R.; NETO, F. S. Sistema de Plantio Direto em agricultura orgânica. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, N. 70, p. 28-30, jul/ago. 2002.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; TRY, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, F.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J.F.; KAPULINIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S.; OKON, Y. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v.28, p.871-879, 2001.

DÖBEREINER J.; DAY J. M. Associative symbioses in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen fixing sites. In: NEWTON, W. E., NYMAN C. J. Proceedings of the 1st International Symposium on Nitrogen Fixation. Edited by Washington State University Press, Pullman, Washington, vol. 2, p. 518–538, 1976.

EL-KOMY, H. M. A. Coimmobilization of *Azospirillum lipoferum* and *Bacillus megaterium* for Successful Phosphorus and Nitrogen Nutrition of Wheat Plants. **Food Technology and Biotechnology**, v.43, p. 19-27, 2005.

ESPINDOLA, J. A. A.; GUERRA, J. G. M.; DE-POLI, H.; ALMEIDA, D. L.; ANTÔNIO C. A. S. Adubação Verde com leguminosas. Brasília – DF: **Embrapa Informação Tecnologia**, 2005, 40 p.

FAO/WHO. Basic texts on food hygiene. Roma: **Codex Alimentarius Commission**, 1997. 57p.

FAOSTAT, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 26 junho de 2019.

FERRAZ, M. V.; CENTURION, J. F.; BEUTLER, A. N. Caracterização física e química de alguns substratos comerciais. **Acta Scientiarum, Biological Sciences**, vol. 27, n. 2, p. 209-214, abril/jun. 2005.

FIGUEIRA, F. A. R. Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3 ed. Viçosa: UFV, 2008, 421 p.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. Viçosa. MG: Ed. UFV, 2005. 412 p.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças-. 2. ed. UFV, Viçosa, Brasil. 2003

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

FONTANÉTTI, A.; CARVALHO G. J.; GOMES, L. A. A.; ALMEIDA, K.; MORAES S. R. G; TEIXEIRA C. M. Adubação verde na produção orgânica de alface americana e repolho. **Horticultura Brasileira**, v.24, p.146-150, abr/jun. 2006.

Galindo, F. S.; Teixeira Filho, M. C. M.; Buzetti, S.; Santini, J. M. K.; Alves, C. J.; Nogueira, L. M.; Ludkiewicz, M. G. Z.; Andreotti, M.; Bellote, J. L. M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.40, p.1-18, 2016.

GOES, L. M.; SANTOS, A. R.; TRANCHES, E. R; LIMA, J. A; LEITE, G. M.; FLORENTINO, A.; LANDGRAR, P. R. C. Inoculação de bactérias diazotróficas em plântulas de Alface. In: XIII Congresso Nacional de Meio Ambiente de Poços de Caldas, Poços de Caldas, 2016, **Anais**. Disponível em: <http://www.meioambientepocos.com.br/anais2016/378.%20Inocula%C3%A7%C3%A3o%20de%20bact%C3%A9rias%20diazotr%C3%B3ficas%20em%20pl%C3%A2ntulas%20de%20Alface.pdf>. Acessado em 06 de julho de 2019.

GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; MINAMI, K. Métodos de produção de mudas, distribuição de matéria seca e produtividade de plantas de beterraba. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 505–509, set. 2002.

HENRI, F.; LAURETTE, N. N.; ANNETTE, D.; JOHN, Q.; WOLFGANG, M.; FRANÇOIS-XAVIER, E.; Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated from acidic soils of Cameroon. **African Jornal of Microbiology Research**, v. 2, p.171-178, jul. 2008.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. Tipos de alface cultivados no Brasil. Brasília, DF: EMBRAPA, 2000, 7p. (Comunicado Técnico, n. 75).

HEYES, J.; BYCROFT, B. Handling and processing of organic fruits and vegetables in developing countries. FAO, 2002. Disponível em: [http:// www.fao.org](http://www.fao.org). Acesso em: 09 de junho 2019.

HF BRASIL - Hortifrúti Brasil. Anuário hortifrúti Brasil 2017-2018. 16.ed. São Paulo: HF Brasil, 2018. 54p.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: **Embrapa Soja**, 2. ed. 2011.

HUNGRIA, M., CAMPO, R. J., MENDES, I. C. Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja. Londrina: **Embrapa Soja**, 2001, 48p. (Circular Técnica, ISSN 1516-7860; n. 35)

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

LIMA, NEBERSON DE SOUZA ANTUNES. Inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do Tomate. 2018. Trabalho de conclusão do curso (Bacharelado em Engenharia Agrônômica), Universidade Federal da Fronteira, Laranjeiras do Sul, do Sul, Laranjeiras do Sul, 2018. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/2916/1/LIMA.pdf>. Acesso em: 6 jul. 2019.

LOURENÇO, A. V.; SCHNEIDER, S.; GAZZOLA, M. A. Agricultura Orgânica no Brasil: Um perfil a partir do Censo Agropecuário 2006. **Extensão Rural**, Santa Maria, v.24, n.1, jan/mar. 2017.

MARQUES, P. A. A.; BALDOTTO, P. V.; SANTOS, A. C. P.; OLIVEIRA, L. Qualidade de mudas de alface formadas em bandejas de isopor em diferentes números de células. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n.4, out/dez. 2003.

MELO, P. C.; VILELA, N. J. A importância da Cadeia Produtiva Brasileira de Hortaliças. In: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. Rio Branco, 2007. Disponível em:

<http://www.abhorticultura.com.br/downloads/cadeia_produtiva.pdf>. Acesso em: 08 de junho de 2009.

MINAMI, K. Produção de mudas de alta qualidade em horticultura. São Paulo: Fundação Salim Farah Maluf, 1995, 135 p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Mercado brasileiro de orgânicos fatura R\$ 4 bilhões. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/noticias/economia-e-financas/2019/04/mercado-brasileiro-de-organicos-fatura-r-4-bilhoes>. Acessado em 11 de junho de 2019.

NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. B. Produção de mudas de hortaliças. Brasília: **Embrapa**, 2016, p. 57-86.

NETO, S. E. S.; AZEVEDO, J. M. A.; GALVÃO, R. O.; OLIVEIRA, E. B. L.; FERREIRA, R. L. F. Produção de muda orgânica com diferentes substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.5, p.1408-1413, ago. 2009.

Nogueira M. A; Hungria, M. Oportunidades e ameaças à contribuição da fixação biológica de nitrogênio em leguminosas no Brasil. In: Iberoamerican conference on beneficial plant-microorganism-environment interactions, Microorganisms for future agriculture, Sevilha. 2013, **Anais**, CNPSO.

NUNES, M. U. C.; SANTOS, J. R. Tecnologia para produção de mudas de hortaliças e plantas medicinais em sistema orgânico. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2007, 8p. (Circular Técnica, 48).

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

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; VASCONCELLOS, L. A. B. C. Avaliação de mudas de maracujazeiro em função do substrato e do tipo de bandeja. **Scientia Agrícola**, v. 50, n. 2, p. 261-266, 1993.

ORMOND, J. G. P.; PAULA, S. R. L.; FAVERET FILHO, P.; ROCHA, L. T. M. Agricultura orgânica: quando o passado é futuro. **BNDES Setorial**, v.15, p.3-34, 2002.

PEREG, L.; DE-BASHAN, L.; BASHAN, Y. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. **Plant and Soil**, v. 399, p. 389-414, 2016.

PEREIRA, P. C.; MELO, B.; FREITAS R. S.; TOMAZ, M. A.; FREITAS C, J. P. Mudanças de tamarindeiro produzidas em diferentes níveis de matéria orgânica adicionada ao substrato. **Revista Verde**, Mossoró, RN, v.5, n. 3, p.152-159, jun/set. 2010.

PEREYRA, C. M.; RAMELLA, N. A.; PEREYRA, M. A.; BARASSI, C. A.; CREUS, C.M. Changes in cucumber hypocotyl cell wall dynamics caused by *Azospirillum brasilense* inoculation. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p.62–69, jan. 2010.

RAMOS, H. J. O.; RONCATO-MACCARI, L. D. B.; SOUZA, E. M.; SOARES-RAMOS, J. R. L.; HUNGRIA, M.; PEDROSA, F. O. Monitoring *Azospirillum*-wheat interactions using the gfp and gusA genes constitutively expressed from a new broad-host range vector. **Jornal of Biotechnology**, v.97, p.243–252, aug. 2002.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T.; GILLIS, M.; HOSTE, B.; VANCANNEY, M.; KERSTERS, K.; DE LEY, J. *Azoarcus* gen. nov., nitrogen-fixing proteobacteria associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca*, (L.) Kunth), and description of two species: *Azoarcus indigens* sp. nov. and *Azoarcus communis* sp. nov. **International Journal Systematic Bacteriology**, v.43, p.574–584, 1993.

REIS, V. M. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. Seropédica: **Embrapa Agrobiologia**, 22 p, 2007 (Documentos, 232).

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

RODRIGUES, E. T.; CASALI, V. W. D. Rendimento e concentração de nutrientes em alface, em função das adubações orgânica e mineral. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.17, n.2, p.125-128, jul. 1999.

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

SEDIYAMA, M. A. N.; SANTOS, I. C., LIMA, P. C. Cultivo de hortaliças no sistema orgânico. **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, p. 829-837, nov/dez. 2014.

SIMÕES, A. C.; ALVES, G. K. E. E. B.; FERREIRA, R. L. F.; NETO, S. E. A. Qualidade da muda e produtividade de alface orgânica com condicionadores de substrato. **Horticultura Brasileira**, v.33, n.4, out/dez. 2015.

SOUSA, J. A.; LEDO, F. J. S.; SILVA, M. R. Produção de mudas de hortaliças em recipientes. Rio Branco: **Embrapa CPAF/AC**, 1997. 19 p. (Circular Técnica, 19).

SOUZA, F.X. Materiais para formulação de substratos na produção de mudas e cultivo de plantas envasadas. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2000. 21p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 43).

SUINAGA, F. A.; BOITEUX, L. S.; CABRAL, C. S.; RODRIGUES, C. S. Desempenho produtivo de cultivares de alface crespa. Brasília, DF: **Embrapa Hortaliças**, 2013, 15p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 89)

TAVARES FILHO, J.; MELO, T. R.; MACHADO, W.; MACIEL, B. V. Structural changes and degradation of red latosols under different management systems for 20 years. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p.1293-1303, jul/aug. 2014.

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

VERDONCK, O.; VLEESCHAUWER, D.; PENNICK, R. Barckcompost, a new accepted growing medium for plants. **Acta Horticulturae**, v.133, p.221-226, 1983.

VILLAS BÔAS, R. L.; PASSOS, J. C.; FERNANDES, M.; BÜLL, L. T.; CEZAR, V. R. S.; GOTO, R. Efeito de doses e tipos de compostos orgânicos na produção de alface em dois solos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p.28-34, jan/mar. 2004.

YOU, C. B.; ZHOU, F. Y. 1989. Non-nodular endorhizospheric nitrogen fixation in wetland rice. **Canadian Journal of Microbiology**, v.35, p.403–408, nov. 1989.

YURI, J. E.; MOTA, J.; SOUZA, R. J.; RESENDE, G. M.; FREITAS, S. A. C.; RODRIGUES JUNIOR, J. C. Alface americana: cultivo comercial. **Universidade Federal de Lavras**, Lavras, 49p 2002. (Texto acadêmico, 13).

YURI, J.E.; MOTA, J.H.; RESENDE, G.M.; SOUZA, R.J.; RODRIGUES JUNIOR, J.C. Desempenho de cultivares de alface tipo americana em cultivo de outono no sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, p.284-288, 2004.