

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE AGRONOMIA**

PAULO CESAR FREITAS DO NASCIMENTO

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS (*Azospirillum brasilense*
e *Trichoderma harzianum*), NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DA CULTURA DA
ALFACE EM AMBIENTE CONTROLADO.**

LARANJEIRAS DO SUL

2022

PAULO CESAR FREITAS DO NASCIMENTO

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS (*Azospirillum brasilense*
e *Trichoderma harzianum*), NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DA CULTURA DA
ALFACE EM AMBIENTE CONTROLADO.**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção de Grau
de Bacharel em Agronomia da Universidade
Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Prof. MSc. Jean Carlos Zocche

LARANJEIRAS DO SUL

2022

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Nascimento, Paulo Cesar Freitas do
EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS (Azospirillum
brasiliense e Trichoderma harzianum), NO DESENVOLVIMENTO
INICIAL DA CULTURA DA ALFACE EM AMBIENTE CONTROLADO. /
Paulo Cesar Freitas do Nascimento. -- 2022.
30 f.

Orientador: Prof. Me. Jean Carlos Zocche

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Laranjeiras do Sul, PR, 2022.

1. Azospirillum brasiliense. 2. Trichoderma harzianum.
3. microrganismos promotores de crescimento em plantas.
4. microrganismos promotores de crescimento em plantas.
I. Zocche, Jean Carlos, orient. II. Universidade Federal
da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

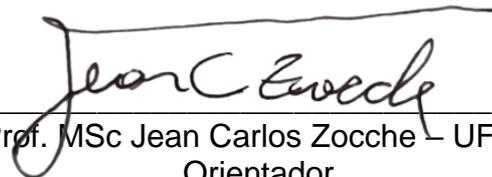
PAULO CESAR FREITAS DO NASCIMENTO

USO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE *Azospirillum brasilense*, EM ASSOCIAÇÃO COM *Trichoderma harzianum* NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DA ALFACE.

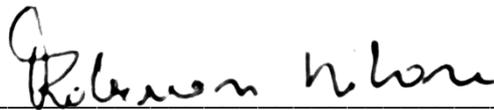
Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como requisito para obtenção de Grau de Bacharel em Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 25/08/2022.

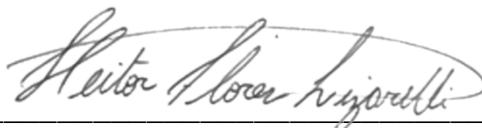
BANCA EXAMINADORA



Prof. MSc Jean Carlos Zocche – UFFS
Orientador



Prof. Dr.^a Roberson Dibax – UFFS
Avaliador



Eng. Agr. Heitor Flores Lizarelli – UFFS
Avaliador

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a minha mãe Judite Matoso de Freitas, que me apoiou em minhas decisões e acreditou em mim no decorrer do curso, a minha irmã Bruna Camila Bauermann e meu cunhado Junior Bauermann que me deram todo o apoio durante essa trajetória, ao Marcelo Louis de Ramos e a Dra. Ruth Abdulack Lima, que não pouparam esforços para me ajudar neste período de graduação, ao meu Pai João Rodrigues do Nascimento, que mesmo distante me deu a base necessária para que chegasse até aqui. Ao professor Dr. Roberson Dibax pelo apoio e incentivo para a realização desse trabalho da melhor forma possível, e ao professor Dr. Jean Carlos Zocche por ter aceitado me orientar no presente estudo. Agradeço a todos os técnicos laboratoriais que me ajudaram durante a implementação do experimento. Agradeço a todos os meus colegas que conheci durante esse tempo de universidade e que me auxiliaram de alguma forma para chegar a esse momento. A todos os professores pelos conteúdos, conhecimentos e experiências compartilhadas, as levarei para sempre na minha trajetória profissional. Sou muito grato a todos vocês!

RESUMO

A ação benéfica propiciada pela interação simbiótica entre espécies de plantas e microrganismos do solo é conhecida e relatada em diversos trabalhos, principalmente em se tratando de nutrição de plantas e condicionamento da rizosfera. Dentre esses microrganismos, destaca-se o gênero *Azospirillum*, com efeitos benéficos que vão desde a fixação biológica de nitrogênio (FBN) à síntese de hormônios como o ácido indolacético (AIA). Alguns fungos também podem apresentar benefícios agrícolas. A exemplo disso, os fungos do gênero *Trichoderma*, apresentam resultados positivos quanto ao crescimento vegetal, influenciando positivamente na germinação das sementes e no desenvolvimento geral da cultura. A cultura da alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta herbácea, anual, pertencente à família Asteraceae, ela representa 50% de toda a produção e comercialização nacional do segmento das olerícolas folhosas. A qualidade de germinação e emergência na cultura da alface é a principal característica produtiva, uma vez que o ciclo de vida da cultura é considerado curto. Dessa forma o presente trabalho teve por fundamento mensurar os efeitos da utilização destes microrganismos, sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Física do Solo, na Universidade Federal da Fronteira Sul em Laranjeiras do Sul - Paraná. De junho de 2022 a agosto de 2022. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), o qual contou com 10 tratamentos e 4 repetições, totalizando 40 unidades experimentais. Os tratamentos utilizados foram os seguintes: T0: Testemunha; T1; *Azospirillum* brasilense na proporção 1:100 ; T2: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:133 ; T3: *Azospirillum* brasilense na proporção : 1:200 ; T4: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:400 ; T5: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:100 + *Trichoderma harzianum* na proporção 1:100 ; T6: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:133 + *Trichoderma harzianum* na proporção 1:100 ; T7: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:200 + *Trichoderma harzianum* na proporção 1:100 ; T8 *Azospirillum* brasilense na proporção 1:400 + *Trichoderma harzianum* na proporção 1:100, T9 *Trichoderma harzianum* na proporção 1:100. As plântulas foram avaliadas quanto às medidas de área foliar, diâmetro, área e comprimento de raiz. Além disso foi avaliado a porcentagem de germinação e calculado o índice de velocidade de germinação. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância individual, sendo as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR® . A utilização de *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial da cultura do alface, promove resultados positivos para o sistema radicular e parte aérea. No que se refere ao *Trichoderma harzianum* o resultados sugerem efeito deletério para germinação e desenvolvimento inicial de plantas, dificultando o estabelecimento e desenvolvimento da alface. Em relação a associação entre *Azospirillum* e *Trichoderma*, os resultados evidenciaram pouca ação sinérgica entre bactérias.

Palavras-chave: *Azospirillum*, *Trichoderma*, Germinação, Hormônios.

ABSTRACT

The beneficial action provided by the symbiotic interaction between plant species and soil microorganisms is known and reported in several works, mainly in the case of plant nutrition and rhizosphere conditioning. Among these microorganisms, the genus *Azospirillum* stands out, with beneficial effects ranging from biological nitrogen fixation (BNF) to the synthesis of hormones such as indoleacetic acid (IAA). Some fungi may also have agricultural benefits. As an example, the fungi of the genus *Trichoderma*, present positive results in terms of plant growth, positively influencing the germination of seeds and the general development of the culture. Lettuce (*Lactuca sativa L.*) is an annual herbaceous plant belonging to the Asteraceae family, it represents 50% of all national production and commercialization of the leafy vegetable segment. The quality of germination and emergence in the lettuce crop is the main productive characteristic, since the life cycle of the culture is considered short. Thus, the present work was based on measuring the effects of the use of these microorganisms on the germination and initial development of lettuce seedlings. The research was conducted at the Laboratory of Soil Physics, at the Federal University of Fronteira Sul in Laranjeiras do Sul - Paraná. From June 2022 to August 2022. A completely randomized design (DIC) was used, with 10 treatments and 4 replications, totaling 40 experimental units. The treatments used were the following: T0: Control; T1; *Azospirillum brasilense* in a 1:100 ratio; T2: *Azospirillum brasilense* in the proportion 1:133 ; T3: *Azospirillum brasilense* in the proportion : 1:200 ; T4: *Azospirillum brasilense* in the proportion 1:400 ; T5: *Azospirillum brasilense* in the proportion 1:100 + *Trichoderma harzianum* in the proportion 1:100 ; T6: *Azospirillum brasilense* in the proportion 1:133 + *Trichoderma harzianum* in the proportion 1:100 ; T7: *Azospirillum brasilense* in the proportion 1:200 + *Trichoderma harzianum* in the proportion 1:100 ; T8 *Azospirillum brasilense* in the proportion 1:400 + *Trichoderma harzianum* in the proportion 1:100, T9 *Trichoderma harzianum* in the proportion 1:100. The seedlings were evaluated in terms of leaf area, diameter, area and root length. In addition, the germination percentage was evaluated and the germination speed index was calculated. The data obtained were submitted to individual analysis of variance, and the means were grouped by the Scott-Knott test, at 5% probability, using the SISVAR® statistical program. The use of *Azospirillum brasilense* in the initial development of the lettuce crop, promotes positive results for the root system and shoot. With regard to *Trichoderma harzianum*, the results suggest a deleterious effect on germination and initial development of plants, hindering the establishment and development of lettuce. Regarding the association between *Azospirillum* and *Trichoderma*, the results showed little synergistic action between bacteria.

Keywords: *Azospirillum*, *Trichoderma*, Germination, Hormones.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios para contagem da germinação ao 4 ^o e 7 ^o para alface (Lactuca sativa L.) e índice de velocidade de germinação (IVG) durante o ciclo de condução experimental, para os diferentes tratamentos com Azospirillum brasilense e Trichoderma harzianum, isolados e associados, aplicados em meio de cultura cultivado com alface.....	24
Tabela 2. Valores médios para os diferentes tratamentos, para as características agrônômicas diâmetro da raiz, comprimento da raiz, área da raiz e área foliar da raiz, para a cultura do alface, 2022.	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIA	Ácido indolacético
BPCP	Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
MPCV	Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal
SEAB	Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento
DERAL	Departamento econômico rural

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 OBJETIVO GERAL	12
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 IN VITRO	20
3.2 EX VITRO	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	23
5. CONCLUSÕES.....	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

1. INTRODUÇÃO

Desde o surgimento das plantas como as conhecemos, a interação com os microrganismos do solo decompositores de matéria orgânica, em sua totalidade sempre foi benéfica pela ação simbiótica entre as espécies, principalmente em se tratando de nutrição de plantas, promovendo a ciclagem de nutrientes e permitindo o reaproveitamento nutricional no formato de matéria orgânica para o solo. Para Leal et al. (2021), os estudos com microrganismos avançaram e passamos a compreender boa parte de suas interações com as plantas, denotado a importância, além da nutricional, mas também condicionadores da rizosfera para melhores resultados de absorção de água e elementos minerais.

Dentre os microrganismos, podemos destacar a utilização na agricultura de cepas bacterianas fixadoras de nitrogênio, o exemplo mais clássico e bem mais estudado em gramíneas é o gênero *Azospirillum*, considerado de vida livre e presente em quase todos os lugares da Terra. Esta bactéria sempre está associada simbioticamente ao sistema radicular das plantas, de modo a aproveitar as substâncias e ácidos orgânicos exsudados pelo sistema radicular, facilitando o processo de colonização radicular pelas bactérias. A resposta para esta associação, beneficia as plantas em diversas formas, dentre elas podemos destacar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a síntese de hormônios que promovem o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular em plantas (CUNHA, 2016).

Vale destacar os inúmeros estudos com microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV), encontrados na rizosfera das plantas, atraídos pelos exsudatos radiculares (ODOH, 2017), atuando de diversas formas, como por exemplo produzindo hormônios vegetais, fixando nitrogênio, solubilizando fósforo, controle de patógenos, entre outros (Suarez et al., 2014). A produção de hormônios vegetais realizada por esses microrganismos, auxilia o crescimento das plantas, ajudando na resposta a fatores ambientais, bióticos e abióticos (Dodd et al.; 2010). Portanto, dentre os hormônios destaca-se o ácido indolacético (AIA), do grupo das auxinas, responsável pela divisão celular, polarização, expansão e diferenciação celular, além do desenvolvimento de órgãos, como raiz lateral e adventícia e dominância apical (LUDWIG-MÜLLER, 2015).

Se valendo nas informações citadas no parágrafo anterior, alguns fungos também podem representar resultados positivos nos cultivos agrícolas. A exemplo disso, os fungos do gênero *Trichoderma*, apresentam resultados positivos quanto ao crescimento vegetal influenciando positivamente na germinação das sementes e no desenvolvimento geral da cultura, principalmente pela capacidade de solubilizar fósforo (OLIVEIRA et al., 2012; SILVA et al., 2012) e síntese de ácido indol acético (OLIVEIRA et al., 2012; CHAGAS et al., 2016), tendo grande importância econômica para a agricultura, também, por serem capazes de atuarem como agentes de controle de fitopatógenos de várias plantas cultivadas e indutores de resposta a tolerância de doenças nas plantas (CONTRERAS CORNEJO et al., 2009; SANTOS et al., 2012; SILVA et al., 2012; ASUMING BREMPONG, 2013).

Atualmente existem muitos estudos utilizando *Trichoderma* e *Azospirillum* em culturas agrícolas graníferas e que tem grande representatividade de produção no Brasil, a exemplo, destaca-se o milho, trigo, sorgo, cana de açúcar, algodão, soja e girassol. Dentre as culturas olerícolas, estes microrganismos podem contribuir com melhores resultados de produtividade e qualidade, por meio de técnicas menos onerosas no aspecto de adubação, influenciando no crescimento e desenvolvimento das plantas. E em se tratando de modo geral na produção de alimentos perecíveis, podendo ser acometidos por doenças, fato que pode inviabilizar a comercialização.

A alface (*Lactuca sativa L.*) é uma planta herbácea, anual, pertencente à família Asteraceae (Albuquerque Junior et al., 2016). Rica em vitaminas e sais minerais, a alface é uma das hortaliças mais populares no mundo e no Brasil (Santos et al, 2019), representando 50% de toda a produção e comercialização nacional do segmento das folhosas, com números que chegam a 1,5 milhões de toneladas por ano (EXAME, 2021).

Geralmente, essa hortaliça é produzida em pequenas propriedades na maioria das vezes por agricultores familiares, que buscam um menor custo de produção associado a melhoria das características do solo e o aumento da qualidade dos produtos oferecidos (Santos et al., 2019).

A alface é representada por diversas cultivares e de modo geral representa ciclo curto, variando de 45 a 60 dias, dependendo da cultivar e época, dessa forma necessita que os nutrientes, principalmente o Nitrogênio, por estar diretamente relacionado aos processos de síntese proteica e fotoassimilados, estejam prontamente disponíveis às necessidades das plantas no tempo certo. Tal fato é uma

das condições responsáveis pela utilização de altas doses de fertilizantes nitrogenados no cultivo das hortaliças folhosas (NASCIMENTO et al. 2017).

A cultura da alface tem obtido grandes ganhos genéticos quanto a resposta produtiva no campo e a grande variabilidade de cultivares adaptadas nas diversas condições climáticas brasileiras e em atendimento às necessidades da demanda consumidora da folhosa. Neste caso, ainda existem possibilidades para redução de custo no campo viabilizado pelo condicionamento do solo, em favor de atender as exigências de crescimento e desenvolvimento das plantas.

1.1 OBJETIVO GERAL

O trabalho de pesquisa tem por fundamento mensurar os efeitos da utilização de microrganismos, sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O trabalho objetivou avaliar a ação do *Azospirillum brasilense* em diferentes concentrações, e em associação com o fungo *Trichoderma harzianum* na germinação e desenvolvimento inicial de alface, em condições controladas.

Averiguar se a inter-relação entre *Azospirillum* e *Trichoderma* apresenta favorecimentos na germinação e desenvolvimento da alface.

Avaliar em qual dos tratamentos se observa os melhores resultados para o cultivo in vitro de alface.

1.3 JUSTIFICATIVA

O efeito dos compostos secundários produzidos em simbiose entre plântulas de alface e microrganismos apresentam poucos estudos e resultados. A qualidade de germinação e emergência na cultura da alface é a principal característica produtiva, uma vez que o ciclo de vida produtiva da cultura é considerado curto, em comparação com as demais olerícolas. Portanto, o estudo foi pertinente no intuito de trazer a discussão de resultados para uma das culturas mais importantes e consumidas no Brasil.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A alface é uma das hortaliças mais populares no mundo e no Brasil tem grande destaque pela facilidade de produzir e ótimos acompanhamentos para grande parte das refeições (PEREIRA et al, 2021), representando 50% de toda a produção e comercialização nacional do segmento das folhosas, com números que chegam a 1,5 milhões de toneladas por ano (EXAME, 2021). Segundo a Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento (SEAB), em 2018 a alface assumiu a quinta colocação no ranking das olerícolas mais produzidas, com 104 mil toneladas, ficando atrás apenas da batata, mandioca, repolho e tomate. No ranking das olerícolas de maior valor econômico ficou em 4ª colocação com R\$ 155 milhões.

No município de Laranjeiras do Sul - PR, segundo a SEAB/DERAL (2021), foi registrada uma produção de 12 toneladas, somando um total de R\$ 23.679,96 no mesmo ano. Segundo Brainer (2019), o cultivo de alface é uma fonte alternativa de renda para pequenos produtores, já que apresenta grande rentabilidade por área cultivada, o que é um fator relevante para a agricultura familiar de pequenos municípios.

Visto a grande preferência de consumo entre as hortaliças e facilidade de propagação, alguns manejos paralelos aos sistemas tradicionais de produção, podem melhorar a sanidade do solo e das plantas por meio dos efeitos secundários de bactérias promotoras do crescimento de plantas, refletindo em redução de custo para produção ao longo dos anos, pelas sequências de utilização de alguns microrganismos de multipropósitos.

Dentre estes microrganismos, podemos destacar aqueles representados pelo gênero *Azospirillum*, que segundo Hungria (2016), está englobado no grupo das bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), microrganismos que quando associados às plantas são benéficos devido a capacidade de colonizar superfícies radiculares, da rizosfera e da filosfera, bem como tecidos internos da planta. A autora ainda afirma que, estes podem promover o crescimento das plantas por meio de vários processos, incluindo a fixação biológica do nitrogênio (FBN), a síntese de hormônios de plantas.

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias promotoras de crescimento de plantas de vida livre, de ampla distribuição geográfica, há relatos, também, de que as bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas (Döbereiner & Pedrosa, 1987; Huergo et al., 2008). Os micro-organismos endofíticos vivem intra ou intercelularmente sem causar danos aparentes à planta (JOO et al., 2020; GOUVEIA et al., 2020)

A espécie *Spirillum lipoferum* foi inicialmente descrita por Beijerinck e, em 1978, foi proposta a sua reclassificação como *C*, juntamente com a descrição de duas espécies, *Azospirillum lipoferum* e *Azospirillum brasilense* (Tarrand et al., 1978).

No Brasil a eficiência agronômica do *Azospirillum* foi comprovado em 2004 pela Embrapa e somente em 2009 foi lançado o primeiro inoculante comercial (HUNGRIA, 2016). Desde então, segundo a autora, uma série de trabalhos com resultados vêm sendo publicados com as duas principais estirpes, *A. brasilense* Ab-V5 e AbV6, principalmente estudos com gramíneas como milho, trigo e arroz.

Vários trabalhos confirmam que *Azospirillum* produz fitohormônios e que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas (Hungria, 2016). Tien et al. (1979), conseguiram verificar que os responsáveis pelo estímulo do crescimento de raízes por *A. brasilense* eram o ácido indol-acético (AIA), giberelinas e citocininas.

Segundo a Embrapa (2016), O maior desenvolvimento das raízes pela ação do *Azospirillum* acaba resultando em outros fatores relatados em estudos, como o aumento na absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em plantas mais produtivas e saudáveis. Provavelmente pelo maior crescimento radicular e melhor nutrição das plantas, também há vários relatos de maior tolerância a agentes patogênicos de plantas (Correa et al., 2008).

Segundo Barassi et al. (2008), a inoculação com *Azospirillum* demonstrou em ensaios, uma melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo o teor de clorofila e condutância estomática, maior teor de prolina na parte aérea e raízes, melhoria no potencial hídrico, incremento no teor de água do apoplasto, maior elasticidade da parede celular, maior produção de biomassa, maior altura de plantas.

Bashan et al. (2006) relatam aumento em vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofila a, b, e pigmentos fotoprotetores auxiliares, como violaxantina,

zeaxantina, antoxantina, luteína, neoxantina e beta-caroteno, que resultam em benefícios para a região foliar, resultando em plantas mais verdes e com menor estresse hídrico.

Também em ensaios conduzidos pela EMBRAPA, várias dessas observações foram confirmadas, maior produção de raízes, maior altura de plantas e coloração mais verde pelo maior teor de clorofila, resultantes da inoculação com *Azospirillum*.

Em geral, a inoculação de *Azospirillum* promove alterações morfológicas nas raízes, influenciando no número e comprimento de raízes laterais, de pêlos absorventes e área de superfície de raízes, pois essa bactéria promove aumento nos de substâncias diretamente relacionadas ao crescimento, por exemplo a auxina, influenciando na promoção do crescimento (MOLLA et al., 2001; BASHAN et al., 2004)

Segundo a EMBRAPA (2011) As BPCP podem estimular o crescimento das plantas de diversas maneiras, sendo as mais relevantes: capacidade de fixação biológica de nitrogênio (Huergo et al., 2008); aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (Cassán et al., 2008); produção de hormônios como auxinas, citocininas (Tien et al., 1979), giberelinas (Bottini et al., 1989), etileno (Strzelczyk et al., 1994) e uma variedade de outras moléculas (Perrig et al., 2007); solubilização de fosfato (Rodriguez et al., 2004); e por atuarem como agentes de controle biológico de patógenos (Correa et al., 2008). Os benefícios decorrentes da associação de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) podem ser verificados em diversas culturas, dentre as quais se destaca o crescimento de raízes em alface (FREITAS et al., 2003)

Segundo a Embrapa (2011), os benefícios da inoculação com *Azospirillum* vão além da fixação biológica do nitrogênio, razão pela qual as bactérias são classificadas como promotoras do crescimento de plantas. Em trabalhos com sementes de alface inoculada com *Azospirillum*, Lima et al, (2017), obtiveram resultados positivos quanto ao crescimento de altura da planta, a bactéria promoveu um aumento médio de 9,86% em relação à testemunha.

Em um levantamento de ensaios conduzidos por 20 anos, Okon & Labandera-Gonzales (1994) relataram que em 60% a 70% dos experimentos foram obtidos incrementos na produtividade devido à inoculação, com aumentos estatisticamente significativos na ordem de 5% a 30%. Em outro levantamento realizado na Argentina,

com 273 ensaios de inoculação com *A. brasilense* em trigo (*Triticum aestivum* L.), em 76% dos casos houve aumento médio na produtividade de 256 kg ha⁻¹; em milho (*Zea mays* L.), 85% dos casos responderam positivamente, com um aumento médio na produtividade de 472 kg ha⁻¹ (Díaz-Zorita & Fernandez Canigia 2008). Os resultados de outros experimentos conduzidos na Argentina e no Brasil nas últimas décadas foram recentemente compilados e a grande maioria indica benefícios da inoculação com *Azospirillum* no crescimento das plantas e/ou no aumento da produtividade (Cassán & Garcia de Salamone, 2008).

O milho inoculado, o rendimento médio dos tratamentos inoculados foi de 3407 kg ha⁻¹, 24% superior ao do tratamento controle. Além da economia com insumos, o uso de inoculantes contendo *Azospirillum* contribui para o ambiente e pode ser objeto de negociações futuras no comércio de créditos de carbono Embrapa (2016). As perspectivas também são de que, nos próximos anos, a eficiência agrônômica da inoculação com *Azospirillum* seja confirmada em outras plantas.

Os efeitos positivos à produção de biomassa e ao crescimento de raízes atribuídos ao *Azospirillum brasilense* foram, também, relatados por Madhaiyan et al. (2010), os quais observaram a capacidade da bactéria em produzir auxina em meio de cultura, tendo aumentado significativamente o comprimento de raízes em tomate e pimentão em relação aos tratamentos controle.

Trichoderma é um fungo natural do solo que vem sendo amplamente estudado e frequentemente utilizado na produção agrícola. Algumas espécies de *Trichoderma* podem promover o crescimento de plantas, aumentar a germinação e auxiliar no processo de emergência de plântulas. Isso ocorre em uma relação aparentemente simbiótica e não parasitária entre o fungo e a planta, onde o fungo ocupa o nicho de nutrientes, podendo influenciar no crescimento ou desenvolvimento, ou ainda suprindo as necessidades nutricionais através da solubilização de fosfatos, e conseqüentemente influenciando positivamente na produtividade das culturas (Contreras-Cornejo et al., 2016; Bononi et al., 2020). A capacidade do fungo em colonizar as raízes é fator fundamental para sua interferência no crescimento e produtividade da planta (Junior et al., 2022).

Estudos laboratoriais e de campo com *Trichoderma* sp., realizados com diferentes culturas, mostraram redução dos sintomas causados por estresses abióticos, como deficiência hídrica, nutrientes e salinidade (Sofa et al., 2014;

Fiorentino et al., 2018). O *Trichoderma sp.*, influenciou positivamente em diversos ensaios no desenvolvimento da planta, aumento na taxa de emergência de plântulas, sistema radicular, parte aérea, teor de clorofila, produtividade, tamanho e número de flores e frutos (Mendoza-Mendoza et al., 2018; Aloisio et al. ., 2019a).

A velocidade de germinação e emergência de plântulas é influenciada pelas condições ambientais a qual o material vegetal está submetido, como também a população de microrganismos. Este índice é uma característica mensurada no período temporal entre a condição ideal para germinação e início do processo germinativo, com emissão de radícula (Sousa et al., 2014). Os valores ideais para velocidade de germinação variam conforme o material vegetal e condições sanitárias das doenças e estes valores determinam o tempo entre a semeadura e germinação de sementes, uma baliza importante para os produtores rurais na implantação da cultura (Conde et al., 2021.)

Dentre as alterações no sistema radicular ocasionadas pela presença do *Trichoderma sp.* destaca-se o aumento da área de absorção, favorecendo a assimilação e translocação de nutrientes, o que conseqüentemente intensifica a biomassa vegetal. O efeito promotor do crescimento vegetal também é atribuído ao papel do *Trichoderma sp.* na solubilização de fosfato e micronutrientes mediada pela liberação de sideróforos e metabólitos secundários, ou por alterações no conteúdo de etileno e auxina (Junior et al., 2015; Bononi et al., 2020).

Resultados significativos no aumento da biomassa vegetal foram relatados em culturas como soja (Aloisio et al., 2019), feijão (González-Marquetti et al., 2019), arroz (Chagas et al., 2017; Meyer et al., 2019), feijão-caupi (Junior et al., 2015, 2016; Chagas Junior et al., 2015),

Inúmeras hipóteses foram propostas para explicar essa observação, incluindo a melhoria da solubilização química, disponibilidade e absorção de nutrientes pela planta (Contreras-Cornejo et al., 2016), bem como a síntese de fitohormônios de crescimento (Zhang et al., 2013). Esses processos não apenas aumentam o crescimento das plantas, mas também estimulam a respiração, melhorando a fotossíntese ou eficiência fotossintética (Harman et al., 2021), além de aumentar a capacidade da planta de resistir a estresses abióticos, como seca, salinidade e alta temperatura (Sofo et al., 2014; Fiorentino et al., 2018).

Em estudos realizados com sementes de soja inoculadas com *Trichoderma* (Aloisio et al., 2022) registraram resultado positivos quanto o ganho de biomassa,

manutenção do estande e produtividade da cultura da soja em condições de campo em Gurupi e Porto Nacional, nas safras 2017/2108 e 2018/2019.

Em estudo realizado com sementes de alface inoculadas com *Trichoderma sp.* Comassetto (2011), registrou aumento da biomassa da parte aérea da planta. Em contrapartida, no mesmo experimento o autor relata uma diminuição do comprimento do sistema radicular de 34% em comparação à testemunha. A inoculação de sementes de alface com *Trichoderma* e com reguladores de crescimento promoveram aumento na emergência e no índice de velocidade de germinação das plântulas (Diniz et al, 2006.)

Segundo Aloísio et al. (2022), os fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma*, além de fungicidas reconhecidos, também podem ser classificados como biofertilizantes, bioestimulantes e potencializadores de resistência a estresses bióticos e abióticos. O resultado de todas as interações geralmente é a promoção do crescimento das plantas (WOO; PEPE, 2018), ou seja, mesmo quando não há doenças, quando o produto é utilizado, o produtor terá o benefício de aumentar a eficiência do uso de nutrientes e a produtividade. De acordo com Harman et al. (2021), o efeito mais notável do *Trichoderma*, é induzir maior crescimento de brotos e raízes, aumentando a produtividade das culturas, o que aumentará a produção futura de alimentos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida com auxílio nos Laboratórios de Germinação, Microbiologia e Física do Solo, na Universidade Federal da Fronteira Sul em Laranjeiras do Sul - Paraná. De junho de 2022 a agosto de 2022.

Para a montagem do experimento, foi realizada a diluição de 1 mL dos inoculantes em água destilada estéril nos volumes pré definidos de H₂O_d, sendo eles 100 mL, 133 mL, 200 mL e 400 mL. Os tratamentos utilizados foram os seguintes: T0: Testemunha; T1: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:100 ; T2: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:133 ; T3: *Azospirillum* brasilense na proporção : 1:200 ; T4: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:400 ; T5: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:100 + *Trichoderma harzianum* na proporção 1:100 ; T6: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:133 + *Trichoderma harzianum* na proporção 1:100 ; T7: *Azospirillum* brasilense na proporção 1:200 + *Trichoderma harzianum* na proporção 1:100 ; *Azospirillum* brasilense na proporção 1:400 + *Trichoderma harzianum* na proporção 1:100.

Foi utilizado o inoculante Rizospirillum®, com concentração de *Azospirillum* brasilense de 2×10^8 UFC/mL e TRICHODERMIL SUPER SC 1306® com concentração de *Trichoderma harzianum* de $2,0 \times 10^9$ conídios viáveis/mL)

As sementes foram submetidas à assepsia com hipoclorito de sódio (NaClO), posteriormente realizado o enxágue, com o auxílio de peneira e papel filtro em solução a base de água destilada com concentrações de 1% de NaClO. O passo seguinte foi reservar as sementes em recipiente estéril para secagem.

Após a secagem das sementes, o experimento foi dividido em duas partes, uma in vitro e outra ex vitro.

3.1 IN VITRO

Para a realização desta etapa, foram distribuídas 20 sementes para cada uma das 4 repetições dos tratamentos, sobre uma folha de papel germitest estéril em caixa tipo gerbox (11cm x 11cm x 4 cm). Em seguida, com o auxílio de uma pipeta, foram

aplicadas as soluções correspondentes com cada tratamento, na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel germitest.

As caixas foram armazenadas no escuro em uma incubadora na temperatura de 20° C, por 3 dias. Após esse período, foram mantidas sob fotoperíodo de 12h com temperatura de 25°C. As sementes foram avaliadas a partir do 3° dia até o 7° dia de tratamento. Para avaliação da germinação das sementes de alface tratadas, foram realizadas a contagem das sementes germinadas após 4 e 7 dias, conforme as regras para análise de sementes (BRASIL, 2009).

3.2 EX VITRO

Para a execução da segunda parte do experimento, foi preparado o meio de cultivo MS (Murashige e Skoog), marca Sigma®, com adição de 8g de ágar e 20g de sacarose para cada litro do preparado, posteriormente foi colocado 25 mL do meio de cultivo em tubos Falcon de 50 mL. Em seguida, após o endurecimento do meio, em câmara de fluxo laminar, foram colocadas sem pré-germinação 2 sementes por tubo, sendo posteriormente fechados com suas respectivas tampas e levados a estufa Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD) Novatecnica® por 5 dias. Após esse período foi desbastada a planta menor e aplicado o tratamento através da pipetagem dos 100 µL de cada diluição dos compostos, de acordo com os tratamentos. Após a pipetagem os tubos foram fechados com plástico filme PVC para manter o ambiente estéril e manter a troca gasosa, e então levados para incubadora e mantidos sob fotoperíodo de 12 horas a temperatura de 25°C por 10 dias. Após esse período as plantas foram avaliadas quanto às medidas de área foliar, diâmetro, área e comprimento de raiz. Além disso, foi avaliada a porcentagem de germinação e calculado o índice de velocidade de germinação.

Para obter-se o IVG, utilizou-se a porcentagem de plântulas germinadas, dividida pelo dia em que foi realizada a contagem das sementes, de acordo com a fórmula ($IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$) onde: G1, G2, Gn = porcentagem de

plântulas germinadas na primeira, segunda e última contagem; N1, N2, Nn= número de dias após a semeadura na primeira, segunda e última contagem.

Para a obtenção das medidas das plantas, as plantas foram retiradas cuidadosamente dos tubos e colocadas em bandeja com lâmina de água para que fosse realizada a digitalização das imagens das plantas em scanner (Epson®) e posteriormente trabalhadas no software Afsoft®. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância individual, sendo as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR® (FRREIRA,2019).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da análise de variância implicam que para as características qualitativas avaliadas no trabalho, houve diferença significativa em se tratando da germinação de sementes da alface aos 4^o e 7^o dias, após condicionada em ambiente propício para tal característica, além disso, influenciou no índice de velocidade de germinação. Também é observado pela análise de variância que $P > 0,05$ para as características da raiz tal como: Diâmetro, comprimento e área, onde o mesmo resultado é obtido para área foliar das plântulas.

Antes de iniciarmos a discussão propriamente dita, vale evidenciar o efeito negativo do *Trichoderma harzianum* (TH) para todas as características agrônômicas em questão neste trabalho, mesmo quando associado ao *Azospirillum brasilense*. Neste caso, o efeito positivo do *Azospirillum*, principalmente nas características que condicionam melhorar o sistema radicular e alguns aparatos fotossintéticos de plântulas, permite obter melhor vigor no cultivo de alface, e garante menores perdas para mortalidade de mudas. É importante mencionar, que os resultados obtidos neste trabalho, foram produzidos em ambiente controlado e estéril para a grande diversidade de microrganismos presente em nossa atmosfera.

A germinação é o processo inicial e crítico para qualidade e posterior cultivo a campo, e grande parte é influenciada pelo ambiente e interações com microrganismos. Para Bazzo et. al (2020), a aplicação de diferentes cepas de *Azospirillum*, propicia melhor o vigor das sementes devida a potencialização do desempenho fisiológico das reações bioquímicas das sementes. Na tabela 1, é possível observar a influência negativa do *Trichoderma* sobre a germinação de sementes, quando aplicado de forma isolada (TH), no entanto a utilização associativa com *Azospirillum*, pode ter anulado os efeitos negativos do *Trichoderma* e garantindo que todos os tratamentos respondam de forma semelhante a testemunha.

Tabela 1. Valores médios para contagem da germinação ao 4^o e 7^o para alface (*Lactuca sativa* L.) e índice de velocidade de germinação (IVG) durante o ciclo de condução experimental, para os diferentes tratamentos com *Azospirillum brasilense* e *Trichoderma harzianum*, isolados e associados, aplicados em meio de cultura cultivado com alface.

Germinação			
Tratamentos	Contagem 1*	Contagem 2*	IVG*
AZ (1/100)	13,5 a	18,5 a	0.546104 a
AZ (1/133)	12,5 a	16,7 a	0.522611 a
AZ (1/200)	13,2 a	17,5 a	0.537206 a
AZ (1/400)	14,0 a	19,0 a	0.556943 a
AZ (1/100) + TH	13,5 a	17,5 a	0.539829 a
AZ (1/133) + TH	15,7 a	17,7 a	0.568498 a
AZ (1/200) + TH	10,7 a	15,2 a	0.488922 a
AZ (1/400) + TH	12,7 a	16,7 a	0.525342 a
TH	5,25 b	11,0 b	0.372882 b
Testemunha	14,2 a	17,7 a	0.551259 a
CV	26,63	13,88	10,77

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. IVG índice de velocidade da germinação entre os dias 4 e 7 de germinação.

A velocidade da germinação em dias, característica atrelada à porcentagem de sementes germinadas entre os dias 4 e 7 da implantação, foi da mesma forma influenciada negativamente pelo uso de *Trichoderma*, aumentando o tempo para germinação em aproximadamente 37 %, quando comparado aos demais tratamentos. Alguns fatores ambientais, podem estar relacionados com a demora no processo germinativo, no entanto, fatores biológicos de interação com algumas plantas podem reduzir a velocidade de germinação, em decorrência da liberação de compostos orgânicos (Guerra e Torres, 2007); (Hungria, 2016).

Grande parte das bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Azospirillum*, tendem a ajudar na manutenção do fornecimento do nitrogênio em fases de desenvolvimento em que a demanda é maior, porém os efeitos da simbiose entre estas bactérias e plantas, podem promover efeitos condicionadores do estado

fisiológico das plantas, devido a síntese de alguns compostos orgânicos e até mesmo hormônios de crescimento e desenvolvimento para plantas, como é o caso da auxina e giberelina. Portanto, existem diversos efeitos positivos para a planta ao integrar microrganismos em sua rizosfera, podendo influenciar de forma indireta na produtividade e qualidade do produto final (PEREG et. Al, 2016).

Na tabela 2, identificamos efeito positivo para todas as características avaliadas com *Azospirillum*, independente da dose administrada. A presença de *Trichoderma* para o desenvolvimento das raízes e folhas foi negativo, observando reduções na área foliar, podendo dificultar a emergência de plântulas e produção de fotoassimilados nas folhas. Também é identificado que o *Trichoderma* isolado ou associado ao *Azospirillum* não garantiu resultados promissores para diâmetro de raiz, comprimento e área do sistema radicular, dificultando a formação e desenvolvimento do sistema radicular e em consequência podendo reduzir a capacidade de absorção de água e nutrientes para produção de folhas em alface.

Tabela 2. Valores médios para os diferentes tratamentos, para as características agrônômicas diâmetro da raiz, comprimento da raiz, área da raiz e área foliar da raiz, para a cultura do alface, 2022.

Tratamentos	Raiz			Área foliar*
	Diâmetro*	Comprimento*	Área*	
AZ 1/100	0,5625 a	42,75 a	0.754385 a	2,0932 a
AZ 1/133	0,5575 a	42,25 a	0.739470 a	1,9325 a
AZ 1/200	0,5750 a	42,25 a	0.768515 a	2,0250 a
AZ 1/400	0,5150 a	49,75 a	0.802270 a	2,0575 a
AZ 1/100 + TH	0,4850 a	39,00 b	0.514254 b	1,3342 b
AZ 1/133+ TH	0,5300 a	33,00 b	0.557821 b	1,5490 b
AZ 1/200 + TH	0,3425 b	35,25 b	0.386613 b	1,1507 b
AZ 1/400 + TH	0,3700 b	38,25 b	0.448078 b	1,2892 b
TH	0,4050 b	39,00 b	0.434027 b	1,1185 b
Testemunha	0,5325 a	37,75 b	0.636478 a	1,6495 b
CV	16,65	16,91	26,13	25,26

*Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott.

O principal benefício da utilização de *Azospirillum* e seu potencial de efeitos condicionadores está representado em todos os tratamentos em que se faz presente na forma individual. O tratamento testemunha apresentou resultados insatisfatórios para as características comprimento da raiz e área foliar, estas duas características são interacionadas para o desenvolvimento da planta. Portanto, Vale salientar que ao analisarmos os tratamentos com AZ em todas as doses, o comprimento radicular e a área foliar tiveram incrementos quantitativos diferentes e superiores quando comparado à testemunha, demonstrando mais uma vez que a utilização de AZ tem efeitos condicionadores do desenvolvimento de plantas, a iniciar na germinação. Resultados semelhantes foram obtidos por Lima et al (2017), avaliando efeitos do AZ em diferentes doses na cultura do alface, observando incremento de 56 % na área foliar e aumento da massa de raízes frescas.

Na cultura do alface, a área foliar é o produto comercialmente de interesse, porém, garantir a qualidade nutricional e parâmetros de suculência, necessitam de investimento em adubos e defensivos. Este trabalho, demonstra de forma concisa a influência positiva da simbiose entre alface e *Azospirillum*, incrementando os fatores condicionadores das bactérias.

5. CONCLUSÕES

A utilização de *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial da cultura do alface, promove resultados positivos para o sistema radicular e parte aérea, possibilitando plantas com potencial de maior vigor para o desenvolvimento, esse efeito pode ser observado para todos os tratamentos que foram administrados *Azospirillum* na forma isolada em meio de cultura.

No que se refere ao *Trichoderma harzianum* o resultados sugerem efeito deletério para germinação e desenvolvimento inicial de plantas, dificultando o estabelecimento e desenvolvimento da alface.

Em relação a associação entre *Azospirillum* e *Trichoderma*, os resultados evidenciaram pouca ação sinérgica entre bactérias e que estatisticamente desqualifica a utilização conjunta em meio de cultura, com ambiente totalmente controlado.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALOISIO, Freitas Chagas Junior et al. Efficiency of *Trichoderma asperellum* UFT 201 as plant growth promoter in soybean. **African Journal of Agricultural Research**, v. 14, n. 5, p. 263-271, 2019a.
- ALOISIO, Freitas Chagas Junior et al. *Trichoderma asperellum* (UFT201) functions as a growth promoter for soybean plant. **African Journal of Agricultural Research**, v. 14, n. 33, p. 1772-1777, 2019b.
- BASHAN, Yoav; HOLGUIN, Gina; DE-BASHAN, Luz E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian journal of microbiology**, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.
- BAZZO, J. H. B.; MONTEIRO, J.; MARINHO, J. L. Inoculação e coinoculação de azospirillum e bradyrhizobium, via sementes e em cobertura, na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v.29, n.4, p.426-436, 2020.
- BONONI, Laura et al. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma spp.* from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020.
- BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*. *Plant Physiology*, v.90, p.45-47, 1989.
- BRAINER M. S. C. P. Informe setorial de hortaliças. Ano 4, Nº205. 2019. Disponível em: <https://www.melhorparaasuaempresa.com.br/s482-dspace/handle/123456789/214> Acesso em: 21 jun. 2022.
- CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. **Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología**, 2008.
- CHAGAS, L. F.; OROZCO, B. S.; RODRIGUES, G. Rice growth influence by *Trichoderma spp.* with natural phosphate fertilization under greenhouse conditions. **IJDR**, v. 7, p. 13147-13152, 2017.
- COMASSETTO, Fernanda Ferreira. Interferência do tratamento de sementes de alface com formulados comerciais de *Trichoderma harzianum* na produção de mudas. 2022. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Universidade Federal do Pampa, Itaquí, 2011.
- Conde, T. T., Codognoto, L. da C., Faria, G. A., & Maltoni, K. L. (2021). Resposta fisiológica de sementes de alface imersas em águas destilada e piscicultura / Physiological response of imperial lettuce seeds in waters distilled and pisciculture. *Brazilian Journal of Development*. 2021.
- CONTRERAS-CORNEJO, Hexon Angel et al. Ecological functions of *Trichoderma spp.* and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. **FEMS microbiology ecology**, v. 92, n. 4, p. fiw036, 2016.

CONTRERAS-CORNEJO, Hexon Angel et al. Mitogen-activated protein kinase 6 and ethylene and auxin signaling pathways are involved in Arabidopsis root-system architecture alterations by *Trichoderma atroviride*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 28, n. 6, p. 701-710, 2015.

CORREA, O. S. et al. Azospirillum brasilense-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. **Azospirillum sp.: Cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Buenos Aires: **Asociación Argentina de Microbiología**, p. 85-94, 2008.

Cunha, M. H. Azospirillum: um velho novo aliado. Reunião brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas. Outubro, 2016.

Cunha, M. H. Azospirillum: um velho novo aliado. Reunião brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas. Outubro, 2016.

DÍAZ-ZORITA, M.; FERNANDEZ CANIGIA, M. V. Análisis de la producción de cereales inoculados con Azospirillum brasilense en la República Argentina. **Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: **Asociación Argentina de Microbiología**, p. 155-166, 2008.

DINIZ, Kênia Almeida et al. Incorporação de microrganismos, aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento em sementes de alface pela técnica de peliculização. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, p. 37-43, 2006.

DOBEREINER, Johanna; PEDROSA, Fábio O. **Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants**. Science Tech Publishers, 1987.

EXAME. Mercado de alface cresce continuamente no Brasil. 2021. Disponível em: <https://exame.abril.com.br/negocios/dino/mercado-de-alface-cresce-continuamente-no-brasil.html/>. Acesso em: 21 jun. 2022.

EXAME. Mercado de alface cresce continuamente no Brasil. 2021. Disponível em: <https://exame.abril.com.br/negocios/dino/mercado-de-alface-cresce-continuamente-no-brasil.html/>. Acesso em: 21 jun. 2022.

FERREIRA, D. F. sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista brasileira de biometria**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019

FIORENTINO, Nunzio et al. *Trichoderma*-based biostimulants modulate rhizosphere microbial populations and improve N uptake efficiency, yield, and nutritional quality of leafy vegetables. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 743, 2018.

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

GONZÁLEZ-MARQUETTI, Ivonne et al. Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304. **Revista de Protección Vegetal**, v. 34, n. 2, 2019.

GOUVEIA, M. J.; ARAÚJO, R. S.; MELLO, M. R. F.; LEITE, T. C. C.; SENA, A. R. GUERRA, A. M. N. M.; TORRES, S. B. Alelopatia do extrato aquoso de folhas de aroeira na germinação de sementes de alface. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.2, n.2, p.96 – 100, 2007.

HARMAN, G. E. et al. Endophytic strains of *Trichoderma* increase plants' photosynthetic capability. **Journal of applied microbiology**, v. 130, n. 2, p. 529-546, 2021.

HUERGO, Luciano F. et al. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. **CASSÁN, FD; GARCIA DE SALAMONE, I. Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología**, p. 17-35, 2008.

HUNGRIA, Mariangela. *Azospirillum*: um velho novo aliado. 2016. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1057259>. Acesso em: 21 jun. 2022.

HUNGRIA, Mariangela. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. 2011.

Isolamento e avaliação qualitativa de bactérias endofíticas e epíficas quanto à habilidade de utilizar ácido tânico. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 95524-95533, 2020.

JOO, H. S.; DEYRUP, S. T.; SHIM, S. H. Endophyte-produced antimicrobials: a review of potential lead compounds with a focus on quorum-sensing disruptors. **Phytochemistry Reviews**, p. 1-26, 2020.

JUNIOR, Aloisio Freitas Chagas et al. Combined inoculation of rhizobia and *Trichoderma spp.* on cowpea in the savanna, Gurupi-TO, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 27-33, 2015.

JUNIOR, Aloisio Freitas Chagas et al. Efficiency of *Trichoderma asperellum* as a promoter of vegetable growth and soybean productivity. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e50711629200-e50711629200, 2022.

LEAL, M. L. de A. .; CHAVES, J. da S.; SILVA, J. A. da .; SILVA, L. S. da .; SOARES, R. B. .; NASCIMENTO, J. P. S. do . .; MATOS, S. M. de .; TEIXEIRA JÚNIOR, D. L. .; BRITO NETO, A. F. de . Effect of management systems and land use on the population of soil microorganisms . **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 9, 2021.

LEAL, M. L. de A.; CHAVES, J. da S.; SILVA, J. A. da.; SILVA, L. S. da .; SOARES, R. B. .; NASCIMENTO, J. P. S. do . .; MATOS, S. M. de .; TEIXEIRA JÚNIOR, D. L. .; BRITO NETO, A. F. de . Effect of management systems and land use on the population of soil microorganisms . **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 9, 2021.

LIMA, A. A.; VENTUROSOS, L. R.; AZEVEDO SILVA, B. 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** V.12, Nº 2, p. 233-240, 2017.

MADHAIYAN, M. et al. Effect of co-inoculation of methylotrophic *Methylobacterium oryzae* with *Azospirillum brasilense* and Burkholderia pyrrocinia on the growth and nutrient uptake of tomato, red pepper and rice. **Plant and soil**, v. 328, n. 1, p. 71-82, 2010.

MENDOZA-MENDOZA, Artemio et al. Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots: role of the fungal secretome. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 62-85, 2018.

MEYER, Maurício Conrado; MAZARO, Sérgio Miguel; DA SILVA, Juliano Cesar. *Trichoderma*: uso na agricultura. **Embrapa Soja-Livro científico (Alice)**, 2019.

MOLLA, Abul Hossain; SHAMSUDDIN, Zulkifli H.; SAUD, Halimi Mohd. Mechanism of root growth and promotion of nodulation in vegetable soybean by *Azospirillum brasilense*. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, n. 13-14, p. 2177-2187, 2001.

OKON, Yaacov; LABANDERA-GONZALEZ, Carlos A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, n. 12, p. 1591-1601, 1994.

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, Amanda Eustachio; JUNIOR, Osvaldo Leite da Silva. Inoculação de bactérias Diazotróficas via vinhaça no cultivo de alface (*Lactuca sativa L.*). 2021.

RODRIGUEZ, Hilda et al. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum spp.* **Naturwissenschaften**, v. 91, n. 11, p. 552-555, 2004.

SEAB/DERAL. Olericultura - Análise da Conjuntura Agropecuária: 2021. Acessado em: https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2019-09/olericultura_2019_v1.pdf.

SOFO, Adriano et al. Control of biotic and abiotic stresses in cultivated plants by the use of biostimulant microorganisms. In: **Improvement of crops in the era of climatic changes**. Springer, New York, NY, 2014. p. 107-117.

STRZELCZYK, E.; KAMPERT, M.; LI, C. Y. Cytokinin-like substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources. **Microbiological Research**, v. 149, n. 1, p. 55-60, 1994.

SOUSA, T. P. DE; SOUSA, E. N. P. DE; SILVEIRA, L. R. DE S.; SANTOS FILHO, E. F. DOS; MARACAJÁ, P. B. Produção de alface (*Lactuca sativa L.*), em função de diferentes concentrações e tipos de biofertilizantes. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.9, p.168-172, 2014.

TARRAND, J.J.; KRIEG, N R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two

species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v.24, p.967-980, 1978.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, DH243341. 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, n. 5, p. 1016-1024, 1979.

WOO, Sheridan L.; PEPE, Olimpia. Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 1801, 2018.

ZHANG, Weixin et al. Two major facilitator superfamily sugar transporters from *Trichoderma reesei* and their roles in induction of cellulase biosynthesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 46, p. 32861-32872, 2013.