

## Componentes produtivos da alface ‘Vera’ cultivada em solo com aplicação de rizobactérias e nitrogênio

*Productive components of ‘Vera’ lettuce grown in soil with application of rhizobacteria and nitrogen*

Ana Paula Moraes Menezes<sup>1</sup>, Jorge Ferreira Kusdra<sup>2</sup>, Andreia de Lima Moreno<sup>3</sup>

**RESUMO:** No cultivo de hortaliças folhosas são necessários insumos alternativos para reduzir a aplicação ou potencializar o aproveitamento dos fertilizantes industriais utilizados na produção agrícola convencional. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio, aplicados ao solo de forma isolada e combinada, sobre os componentes produtivos da alface cultivar Vera. O experimento foi realizado em casa de vegetação considerando o delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 2 x 2 x 2, com cinco repetições. As variáveis avaliadas foram número de folhas, massa fresca da parte aérea e massas secas da parte aérea, da raiz e total como, também, o nitrogênio acumulado na parte aérea. Os efeitos isolados e combinados de *Bacillus subtilis* foram negativos para todas as variáveis. Por outro lado, *Azospirillum brasiliense* promoveu incrementos tanto na massa fresca da parte aérea quanto no número de folhas comerciais e, quando se efetuou a fertilização nitrogenada do solo, sua aplicação combinada com *Bradyrhizobium japonicum* resultou em maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea, sendo assim mais indicada tanto para aumentar o crescimento das plantas quanto potencializar o aproveitamento do nitrogênio pela alface.

**Palavras-chave:** *Azospirillum brasiliense*; *Bacillus subtilis*; *Bradyrhizobium japonicum*; *Lactuca sativa*; RPCP.

**ABSTRACT:** In the cultivation of leafy vegetables, alternative inputs are required to reduce the application or enhance the plant uptake of industrial fertilizers used in conventional agricultural production. This work aimed to evaluate the effect of *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum*, and nitrogen applied to the soil in an isolated and combined way on the production components of lettuce cultivar Vera. The experiment was carried out in a greenhouse using a completely randomized design, in a 2 x 2 x 2 x 2 factorial scheme, with five repetitions. The evaluated variables were number of leaves, fresh weight of shoots and dry weight of shoots, root and total as well as nitrogen accumulated in the shoot. The isolated and combined effects produced by *Bacillus subtilis* were negative for all variables. Conversely, *Azospirillum brasiliense* enhance the fresh weight of the shoot and the number of commercial leaves, and when nitrogen fertilization was carried out in the soil, its combined application with *Bradyrhizobium japonicum* resulted in a greater accumulation of nitrogen in the shoot, making this rhizobacteria more suitable for both increasing plant growth and enhancing nitrogen uptake by the lettuce.

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

---

**Autor correspondente:** Andreia de Lima Moreno

E-mail: andreiatantalo.lider@gmail.com

Recebido em: 2023-08-09

Aceito em: 2025-11-27

---

<sup>1</sup> Doutora em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Acre (UFAC), Rio Branco (AC), Brasil.

<sup>2</sup> Doutor em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). Professor Titular da Universidade Federal do Acre (UFAC) no curso de graduação em Engenharia Agronômica e no Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (PPGPV), Rio Branco (AC), Brasil.

<sup>3</sup> Doutora em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Acre (UFAC), Rio Branco (AC), Brasil.

## 1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é uma olerícola folhosa com alta demanda de consumo no mercado brasileiro de hortaliças e, em função disso, seu cultivo é realizado em todas as regiões do país. Visando garantir altas produtividades, a maioria dos produtores utiliza fertilizantes nitrogenados, principalmente ureia, como fonte de nitrogênio para as plantas, tendo em vista que este macronutriente é fundamental para o aumento do crescimento vegetativo, extensão da área fotossintética e melhoria do desempenho produtivo (Sylvestre *et al.*, 2019). Todavia, são necessárias práticas agrícolas alternativas na alfacultura que tenham como base a redução ou a substituição de fontes químicas industriais deste elemento, especialmente pelo risco ambiental devido seu uso intensivo, pois o nitrogênio apresenta baixo aproveitamento pelas plantas e cerca de 50% do que se aplica é perdido por lixiviação e volatilização (Ahmed *et al.*, 2017).

O emprego de fontes biológicas nos sistemas de produção de mudas e no cultivo de hortaliças, como os produtos biológicos à base de bactérias simbióticas e associativas disponíveis no mercado de inoculantes, tem representado importante avanço dos sistemas que preconizam o conservacionismo e sustentabilidade na agricultura (Clemente *et al.*, 2016; García-Fraile *et al.*, 2012; MangMang; Deaker; Rogers, 2015). Diferentes espécies de microrganismos têm contribuído para reduzir ou tornar desnecessário o uso de fertilizantes químicos, especialmente os nitrogenados, tanto por promoverem benefícios diretos e indiretos às plantas, quanto pelo baixo custo econômico e operacional que sua aplicação representa enquanto prática agrícola (Santos; Nogueira; Hungria, 2019).

As bactérias denominadas como rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs), em função de seus mecanismos de diazotrofia, síntese de fitohormônios, solubilização de nutrientes e controle de estresses biológicos e ambientais, além de destacarem-se como alternativa ao uso excessivo de fertilizantes de origem industrial, são consideradas como insumo agrícola adicional para ampliar os benefícios de sistemas de manejo tradicionalmente estabelecidos para o cultivo de diferentes espécies de interesse agronômico. Os efeitos positivos da utilização de rizobactérias associativas, como *Azospirillum brasiliense* e *Bacillus subtilis*, no cultivo da alface têm sido observados e estão relacionados à ampliação do crescimento em função da melhoria da eficiência de absorção de água e nutrientes (Garbi *et al.*, 2016; MangMang; Deaker; Rogers, 2015; Venancio *et al.*, 2019), resistência ao estresse salino (Fasciglione *et al.*, 2015) e biocontrole de fitopatógenos (Lima *et al.*, 2017; Segato *et al.*, 2016).

A utilização de espécies microbianas pertencentes à família Rhizobiaceae, genericamente conhecidas como rizóbios, como insumo biológico, embora restrinja-se mais a fabáceas nodulíferas, tem se mostrado promissora também na produção de hortaliças já tendo sido observadas respostas positivas para pimentão (Blanco *et al.*, 2018), tomate (García-Fraile *et al.*, 2012) e cenoura (Flores-Félix *et al.*, 2013). Entretanto, para a alface os resultados são incipientes necessitando-se, portanto, ampliar as pesquisas considerando esta hortaliça como planta teste, especialmente em relação a *Bradyrhizobium japonicum*, uma vez que esta é a espécie microbiana mais disponível no mercado de inoculantes por seu uso eficiente e generalizado na cultura da soja.

Em sistemas de cultivo de hortaliças a utilização de rizobactérias apresenta potencial tanto para introduzir, diversificar e disseminar microrganismos benéficos ao

crescimento vegetal quanto para melhorar e intensificar o efeito do fertilizante nitrogenado visando minimizar seu baixo aproveitamento pelas plantas e perdas para o ambiente. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito isolado e combinado do nitrogênio e das rizobactérias *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* aplicados ao solo e como estes influenciam no crescimento e produção da alface cultivar Vera.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada na área experimental da Universidade Federal do Acre, em Rio Branco, Acre, Brasil ( $9^{\circ}57'34.1''$  S,  $67^{\circ}52'08.9''$  W, 150 m de altitude). Foram avaliados 16 tratamentos, cada um destes com 5 repetições, provenientes de um arranjo fatorial do tipo  $2 \times 2 \times 2 \times 2$  disposto no delineamento experimental inteiramente casualizado, considerando-se como fatores *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio sendo estes aplicados (+) ou não (-) ao solo, conforme distribuição apresentada no Quadro 1.

A alface cultivar Vera foi produzida em vasos de policloreto de vinila, com diâmetro e altura de 14,5 cm e capacidade volumétrica de 2,4 L, contendo como substrato solo classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo coletado dos primeiros 20 cm de uma área em pousio, localizada no campus da Universidade Federal do Acre.

**Quadro 1.** Caracterização dos tratamentos considerando a aplicação (+) ou não (-) de nitrogênio e produtos biológicos ao solo para produção da alface ‘Vera’

Tratamentos	Rizobactérias (1 mL espécie <sup>-1</sup> vaso)			Nitrogênio (dose equivalente a 75 kg ha <sup>-1</sup> )
	<i>A. brasiliense</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. japonicum</i>	
1	-	-	-	-
2	+	-	-	-
3	-	+	-	-
4	-	-	+	-
5	+	+	-	-
6	+	-	+	-
7	-	+	+	-
8	+	+	+	-
9	-	-	-	+
10	+	-	-	+
11	-	+	-	+
12	-	-	+	+
13	+	+	-	+
14	+	-	+	+
15	-	+	+	+
16	+	+	+	+

A análise granulométrica do solo indicou que este apresentava 427 g kg<sup>-1</sup> de argila, 227 g kg<sup>-1</sup> de silte e 346 g kg<sup>-1</sup> de areia. Devido a quantidade de solo presente nos vasos ser restrita, visando não comprometer a disponibilidade de nutrientes para as plantas, adicionou-se em cada um destes 1,8 g de superfosfato simples (21% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e 0,6 g de cloreto

de potássio (52% K<sub>2</sub>O), correspondentes à dose de 100 mg kg<sup>-1</sup> para ambos os elementos. Posteriormente, efetuou-se amostragem composta do solo para análise dos seus respectivos atributos químicos e os resultados obtidos foram: pH (H<sub>2</sub>O) = 5,2; P = 12 mg dm<sup>-3</sup>; Na = 12 mg dm<sup>-3</sup>; Ca = 3,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg = 2,4 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; K = 0,4 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al = 0,4 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H + Al = 2,8 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; CTC = 8,8 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; matéria orgânica = 29 g dm<sup>-3</sup>; V = 68 % e m = 6%.

As fontes das rizobactérias foram inoculantes biológicos comerciais líquidos à base de *Azospirillum brasiliense* (estirpes AbV5 e AbV6), *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079 e 5080) e *Bacillus subtilis* (isolado UFPEDA 764). O número de células viáveis dos produtos foi estimado por diluição seriada e contagem de colônias em placas e os resultados obtidos foram de 2,01 x 10<sup>8</sup>, 6,45 x 10<sup>9</sup> e 1,11 x 10<sup>9</sup> células viáveis por mL de inoculante à base de *A. brasiliense*, *B. japonicum* e *B. subtilis*, respectivamente.

As mudas de alface foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido com 200 células contendo substrato composto por areia e vermiculita misturados considerando a proporção 1:1. Efetuou-se a adição de uma semente por célula. Aos 10 dias, quando as mudas apresentavam um par de folhas definitivas, foram transplantadas duas destas para cada vaso.

A aplicação isolada e combinada das rizobactérias e do nitrogênio ao solo foi efetuada no dia imediatamente posterior ao transplantio das mudas, em período com temperatura amena para minimizar seu impacto na sobrevivência e estabelecimento dos microrganismos. Procedeu-se a adição do inoculante à base de cada espécie de rizobactéria (isolada e combinada) com pipeta de 1 mL em sulcos abertos manualmente entre as duas mudas com profundidade aproximada de 1 cm. Nos tratamentos em que o nitrogênio foi considerado, adicionou-se dose correspondente à 75 kg ha<sup>-1</sup>, conforme recomendado por Milhomens *et al.* (2015) e Yuri *et al.* (2016), sendo utilizada a ureia (45 % de N) como fonte deste elemento e procedeu-se sua incorporação manual ao solo em profundidade aproximada de 2 cm. O desbaste foi efetuado dez dias após o transplantio mantendo-se a planta considerada mais vigorosa em cada vaso.

As irrigações foram realizadas regularmente visando a manutenção da umidade do solo em torno de 75 % da capacidade de campo. Além disso, durante a condução do experimento, monitorou-se a temperatura e a umidade relativa do ar no interior da casa de vegetação por meio de datalogger obtendo-se as médias de 27,1 °C e 71,3 %, respectivamente.

A avaliação do experimento foi realizada 53 dias após o transplantio das mudas, durante o período de máximo desenvolvimento vegetativo da alface, antes da fase de pendoamento. As alfaces foram cortadas ao nível do solo, abaixo das folhas basais. Para avaliação dos seus componentes produtivos foram consideradas as seguintes variáveis: número de folhas (total e comercial), massa fresca da parte aérea (total e comercial), massas secas da parte aérea, da raiz e total como, também, o nitrogênio acumulado na parte aérea.

As partes aérea e radicular foram acondicionadas em sacos de papel e, posteriormente, mantidas em estufa com circulação de ar a 65 °C até que em duas avaliações realizadas em dias consecutivos não houvesse variação do valor obtido em balança digital com 0,01 g de precisão caracterizando, assim, a obtenção de massa seca constante. A quantificação do nitrogênio acumulado na parte aérea da planta (NAPA) foi

efetuada por digestão úmida de acordo com o método semi-micro Kjeldahl descrito por Tedesco *et al.* (1995).

A análise estatística inicial consistiu na verificação da presença de dados discrepantes, normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias pelos testes de Grubbs, Shapiro-Wilk e Cochran, respectivamente. Pelo teste F da análise de variância verificou-se a significância dos efeitos isolados e combinados dos fatores. Para as interações significativas ( $p \leq 0,05$ ) efetuou-se o desdobramento dos graus de liberdade antes da comparação de médias para avaliar os efeitos dos níveis de um fator dentro do outro. Para duas ou mais interações significativas envolvendo a participação dos mesmos fatores foi considerada a de maior ordem. A análise de variância foi efetuada com auxílio do software Sisvar (Ferreira, 2011).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação isolada de *Azospirillum brasilense* no solo promoveu incremento de MFPAC e NFC (Tabela 1). Para a alface, cujo principal componente de interesse comercial são as folhas, a utilização desta espécie microbiana demonstrou sua potencialidade como insumo biológico a ser utilizado para o cultivo da hortaliça, tendo em vista que aumentou em 12,6 % o crescimento da parte aérea e em 6,5 % o número de folhas. Contribuiu também para reduzir a demanda das plantas por nitrogênio sem comprometer seu crescimento e produção, tendo em vista que os incrementos foram obtidos no solo em que este elemento não foi adicionado via fertilização, evidenciando que esta rizobactéria.

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

<i>Azospirillum brasilense</i>	MFPAC	NFC
	g	unidades
Ausência	155,36 B	24,20 B
Presença	174,95 A	25,78 A
CV (%)	18,80	12,47
Valor F	7,96 <sup>**</sup>	5,11 <sup>*</sup>

Nota: CV: coeficiente de variação. Médias seguidas da mesma letra não diferem ( $p>0,05$ ) entre si pelo teste F.

Segundo Fukami, Cerezini e Hungria (2018), apresenta potencial para garantir o aporte de nitrogênio por fixação biológica e ainda beneficiar as plantas em função de atuar na solubilização de nutrientes e na síntese de hormônios vegetais e sideróforos. Oliveira *et al.* (2025) também observaram contribuições significativas de *Azospirillum brasilense* em variáveis indicadoras do crescimento de alface, porém, neste caso, em condições de hidroponia.

Um dos principais objetivos ao se utilizar as RPCPs para o cultivo de plantas de interesse agronômico é possibilitar que os microrganismos garantam ao menos parte do suprimento de nitrogênio para as culturas dispensando a necessidade de aplicação de grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados em todas as etapas do processo de produção (Santos; Nogueira; Hungria, 2019). Além disso, como entre os mecanismos de

ação destas rizobactérias incluem-se a síntese de hormônios vegetais e sideróforos, a solubilização de nutrientes, a fixação biológica do nitrogênio e o controle de organismos deletérios (Andrade *et al.*, 2023; Jakubowska; Gradowski; Dobrzański, 2025), os benefícios para as plantas resultantes da combinação entre RPCPs e nitrogênio podem ser equivalentes ou até superiores ao uso de altas doses deste fertilizante. Entretanto, neste experimento, nos tratamentos em que se considerou a aplicação combinada de *Azospirillum brasiliense* e nitrogênio, não foram observadas respostas significativas para a alface derivadas desta combinação indicando, assim, que a rizobactéria não melhorou o aproveitamento do fertilizante nitrogenado disponibilizado às plantas, sendo este resultado diferente do observado por Lima *et al.* (2017) ao utilizarem este mesmo insumo para o cultivo desta hortaliça em casa de vegetação e verificarem que *Azospirillum brasiliense* contribuiu tanto para dispensar a aplicação de doses de nitrogênio em cobertura quanto para aumentar a tolerância das plantas a viroses transmitidas por tripes.

Verificou-se que o efeito da aplicação isolada de *Bacillus subtilis* no solo (Tabela 2) diferiu do observado com o uso de *Azospirillum brasiliense* (Tabela 1), tendo em vista as reduções dos componentes produtivos MSPAT (10,3 %), MSPAC (10,3 %), MST (10,3 %), NFT (6,2 %), NFC (6,1 %) e NAPA (9,8 %) da alface.

**Tabela 2.** Efeito do *Bacillus subtilis* nas massas secas da parte aérea total (MSPAT) e comercial (MSPAC), massa seca total da planta (MST), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface

<i>B. subtilis</i>	MSPAT	MSPAC	MST	NFT	NFC	NAPA
	.....g .....	.....g .....		.....unidades .....		.....mg .....
Ausência	12,70 A	10,12 A	13,65 A	32,16 A	25,78 A	442,76 A
Presença	11,39 B	9,08 B	12,25 B	30,17 B	24,20 B	399,61 B
CV (%)	16,18	18,72	15,85	11,02	12,47	15,08
Valor F	9,07 **	6,69 *	9,29 **	5,15 *	5,11 *	9,24 **

Nota: CV: coeficiente de variação. Médias seguidas da mesma letra não diferem ( $p>0,05$ ) entre si pelo teste F.

Apesar dos resultados positivos de *Bacillus subtilis* como rizobactéria promotora do crescimento já terem sido demonstrados em outras pesquisas com alface (Oliveira *et al.*, 2025; Segato *et al.*, 2016; Venancio *et al.*, 2019), neste trabalho observou-se resposta contrária. Como naturalmente esta espécie microbiana apresenta alto potencial competitivo para se estabelecer na rizosfera (Hashem; Tabassum; Allah, 2019), possivelmente sua introdução no solo via inoculante impactou as relações entre populações de outras espécies de microrganismos pré-existentes. Ainda que, para seu crescimento e estabelecimento no sistema radicular tenha havido aumento da demanda dos nutrientes disponíveis no substrato contribuindo, assim, para reduzir a disponibilidade para as plantas. O efeito deletério de *Bacillus subtilis* observado na alface pode ainda ter sido resultado das substâncias antagônicas sintetizadas por esta bactéria para impedir a colonização de outras espécies microbianas nas raízes.

*Bradyrhizobium japonicum* produziu efeitos distintos nas plantas quando associado com nitrogênio (Tabela 3). Embora a combinação das fontes biológica e mineral não tenha interferido na MSR, NFT e NFC foi possível observar reduções destas variáveis quando *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio foram aplicados na ausência de um ou do outro.

**Tabela 3.** Massa seca da raiz (MSR), número de folhas total (NFT) e comercial (NFC) de alface em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio

Variáveis	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Nitrogênio		CV (%)	Valor F
		Ausência	Presença		
MSR (g)	Ausência	1,06 Aa	0,81 Ab	22,52	15,03**
	Presença	0,83 Ba	0,94 Aa		
NFT (unidade)	Ausência	33,80 Aa	30,45 Ab	11,02	4,04*
	Presença	30,60 Ba	30,35 Aa		
NFC (unidade)	Ausência	27,20 Aa	23,75 Ab	12,47	5,78*
	Presença	24,55 Ba	24,45 Aa		

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

Por outro lado, diferente do efeito observado para fabáceas em que a adubação nitrogenada normalmente limita a atividade rizobiana (Florentino *et al.*, 2018; Hungria; Nogueira; Araújo, 2013), para a alface verificou-se que a aplicação tanto do rizóbio quanto do fertilizante nitrogenado proporcionou respostas similares nos componentes produtivos avaliados. É importante destacar, no entanto, que os rizóbios quando utilizados para o cultivo de espécies não pertencentes à família Fabaceae não têm potencial para substituir a fertilização nitrogenada, como ocorre para a soja, mas sim reduzir o uso destas fontes e/ou melhorar seu aproveitamento pelas culturas por meio de seus múltiplos mecanismos de ação como RPCPs que, para estes microrganismos, não se limitam apenas à fixação biológica do nitrogênio. Neste sentido, o emprego destas rizobactérias no cultivo de hortaliças visa apenas o suprimento parcial da demanda de N para as plantas.

Houve interação entre *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio para as massas frescas da parte aérea total e comercial (Tabela 4). Observou-se que a aplicação combinada de *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* na ausência de fertilização nitrogenada do solo promoveu redução de 21,0% e 23,1% nas massas frescas total e comercial. A falta de sinergismo entre as espécies microbianas utilizadas provavelmente resultou da competição por nutrientes, especialmente nitrogênio, tendo em vista que quando este elemento foi adicionado ao solo via fertilizante não se observaram diferenças nas massas avaliadas. Porém, pelo fato de já terem sido obtidas respostas positivas quando estas espécies microbianas foram isoladamente empregadas para a produção de mudas (Segato *et al.*, 2016) e avaliação da germinação de sementes e crescimento inicial (Schlindwein *et al.*, 2008) de alface, esperava-se neste trabalho que ao serem combinadas sua atuação conjunta pudesse otimizar seus efeitos individuais e assim ampliar os benefícios para o crescimento e produção da hortaliça.

Verificou-se que na presença de *Bacillus subtilis* e ausência de *Bradyrhizobium japonicum* a fertilização nitrogenada reduziu em 21,8% a massa fresca da parte aérea total e em 24,0% a comercial. Além disso, *Bacillus subtilis* ao ser aplicada na ausência de *B. japonicum* e presença de nitrogênio reduziu em 17,5 % as massas frescas total e comercial da alface (Tabela 4). Considerando esta situação, *Bacillus subtilis* não se mostra recomendável para o cultivo da alface cultivar Vera devido ao seu efeito negativo observado em todos os componentes de produção avaliados quando este microrganismo foi utilizado tanto de forma isolada (Tabela 2) quanto combinada (Tabela 4).

**Tabela 4.** Massas frescas da parte aérea total (MFPAT) e comercial (MFPAC) de alface em função da interação entre *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio

Variáveis	Rizobactérias		Nitrogênio		CV (%)	Valor F
	<i>B. subtilis</i>	<i>B. japonicum</i>	Ausência	Presença		
MFPAT (g)	Ausência	Ausência	202,97 A <sub>AA</sub>	199,80 A <sub>AA</sub>	16,19	6,73*
	Presença	Ausência	210,65 A <sub>aa</sub>	164,81 B <sub>ab</sub>		
	Ausência	Presença	192,44 A <sub>AA</sub>	189,24 A <sub>AA</sub>		
	Presença	Presença	166,44 A <sub>ba</sub>	191,84 A <sub>aa</sub>		
MFPAC (g)	Ausência	Ausência	180,26 A <sub>AA</sub>	170,88 A <sub>AA</sub>	18,80	4,71*
	Presença	Ausência	185,30 A <sub>aa</sub>	140,86 B <sub>ab</sub>		
	Ausência	Presença	167,30 A <sub>AA</sub>	166,98 A <sub>AA</sub>		
	Presença	Presença	142,41 A <sub>ba</sub>	167,26 A <sub>aa</sub>		

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

Os resultados obtidos na presente pesquisa, no entanto, diferem dos verificados por Venancio *et al.* (2019) e Shehata *et al.* (2016) ao combinarem *Bacillus subtilis* e nitrogênio para o cultivo da alface e observaram aumentos em seus componentes de produção sendo os resultados positivos atribuídos à melhoria do aproveitamento do fertilizante pelas plantas e à síntese de fitormônios (auxinas e giberelinas) pela rizobactéria.

Também foi verificado que *Bradyrhizobium japonicum*, ao ser utilizada de forma isolada ou combinada com *Bacillus subtilis* e/ou nitrogênio, não interferiu nas massas avaliadas (Tabela 4). Neste sentido, Kozusny-Andreani e Andreani Junior (2014) observaram que *Bradyrhizobium japonicum* não se mostrou eficiente em colonizar as raízes de plântulas de alface sendo esta situação determinante para que os possíveis efeitos benéficos deste microrganismo não fossem evidenciados para esta espécie vegetal em particular.

O nitrogênio acumulado na parte aérea da alface foi reduzido quando *Bradyrhizobium japonicum* foi aplicada na ausência de *Azospirillum brasiliense* efetuando-se ou não a fertilização nitrogenada do solo (Tabela 5). Por outro lado, *Bradyrhizobium japonicum* ao ser combinada com *Azospirillum brasiliense* e com aplicação de nitrogênio incrementou em 15,9 % o acúmulo deste elemento (Tabela 5). Tendo em vista que a dose de nitrogênio utilizada ( $75 \text{ kg ha}^{-1}$ ) corresponde à recomendada por Milhomens *et al.* (2015) e Yuri *et al.* (2016) para o cultivo da alface, entende-se que as rizobactérias contribuíram para suprir parte da demanda deste nutriente para as plantas dispensando a necessidade de aplicação adicional do fertilizante, tendo em vista o acréscimo no teor de N na parte aérea.

Pode-se observar, portanto, que na presença de ambas as espécies microbianas houve melhor aproveitamento pelas plantas do fertilizante nitrogenado e, possivelmente também do N atmosférico devido à atividade diazotrófica exercida por estes microrganismos. O benefício da aplicação combinada destas fontes biológicas e mineral também ficou evidenciado pelo fato de ter sido verificado que *Bradyrhizobium japonicum* reduziu o NAPA em 13,3 % na ausência de *Azospirillum brasiliense* e presença de nitrogênio e em 17,5 % quando *Azospirillum brasiliense* foi aplicado e não se efetuou a fertilização nitrogenada do solo (Tabela 5).

**Tabela 5.** Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de alface em função da interação entre *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio

Variável	Rizobactérias		Nitrogênio		CV (%)	Valor F
	<i>A. brasilense</i>	<i>B. japonicum</i>	Ausência	Presença		
NAPA (mg)	Ausência	Ausência	404,33 A <sub>AA</sub>	459,84 A <sub>AA</sub>	15,08	8,66**
	Presença	Ausência	457,50 A <sub>aa</sub>	421,08 A <sub>aa</sub>		
	Ausência	Presença	413,59 A <sub>AA</sub>	398,46 A <sub>Ba</sub>		
	Presença	Presença	377,30 A <sub>bb</sub>	437,35 A <sub>aa</sub>		

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

Não foi observado efeito isolado do nitrogênio aplicado na forma de ureia em nenhuma das variáveis avaliadas. É provável que, no caso deste trabalho, o nitrogênio disponível no solo já atendesse a demanda das plantas por este elemento e, por este motivo, não tenham sido observadas melhorias produtivas derivadas da aplicação isolada do mesmo. Por outro lado, a dose de N utilizada, equivalente a 75 kg ha<sup>-1</sup>, mesmo sendo a recomendada, talvez não tenha sido suficiente, nas condições do solo utilizado, em proporcionar respostas produtivas superiores às obtidas. Segundo Amrouche, Zella e Smadhi (2019), embora com aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio já possam ser obtidos acréscimos produtivos na cultura da alface, obtém-se resultados mais promissores em doses superiores, atingindo seu máximo com 120 kg ha<sup>-1</sup>. Kottwitz e Silva (2024) também verificaram que a adubação nitrogenada na forma de ureia não resultou em aumentos nas variáveis avaliadas em alface crespa, mas sim a adubação orgânica à base de composto de aves.

#### 4 CONCLUSÃO

A massa fresca da parte aérea e o número de folhas comerciais da alface cultivar Vera são incrementados com a aplicação de *Azospirillum brasilense* ao solo. Além disso, quando esta espécie microbiana é combinada à *Bradyrhizobium japonicum* e fertilizante nitrogenado há maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea das plantas. Na ausência de fertilização nitrogenada *Bradyrhizobium japonicum* promove redução da massa seca da raiz e do número de folhas total e comercial e, ao ser combinado à *Bacillus subtilis*, reduz as massas frescas total e comercial da alface cultivar Vera. Isoladamente *Bacillus subtilis* diminui as massas secas, número de folhas e nitrogênio acumulado na parte aérea da alface. Efeito similar ocorre nas massas frescas da hortaliça quando esta rizobactéria é aplicada na ausência *Bradyrhizobium japonicum* e presença de nitrogênio. Portanto, dentre as rizobactérias utilizadas, *Azospirillum brasilense* apresenta maior potencial para melhorar o crescimento e produção da alface cultivar Vera ao ser utilizada tanto de forma isolada quanto combinada com o fertilizante nitrogenado e *Bradyrhizobium japonicum*.

## REFERÊNCIAS

- AHMED, M.; RAUF, M.; MUKHTAR, Z.; SAEED, N. A. Excessive use of nitrogenous fertilizers: an unawareness causing serious threats to environment and human health. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 35, p. 26983-26987, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0589-7>.
- AMIROUCHE, M.; ZELLA, L.; SMADHI, D. Influence of nitrogen fertilization on lettuce yields (*Lactuca sativa* L.) using the <sup>15</sup>N isotope label. **Agronomy Research**, v. 17, n. 3, p. 641-652, 2019. DOI: <https://doi.org/10.15159/ar.19.118>.
- ANDRADE, L. A. de; SANTOS, C. H. B.; FREZARIN, E. T.; SALES, L. R.; RIGOBELO, E. C. Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1-16, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>.
- BLANCO, E. L.; CASTRO, Y.; OLIVO, R. S.; BARRIOS, F. M. Germinación y crecimiento de plántulas de pimentón y lechuga inoculadas con rizobios e identificación molecular de las cepas. **Bioagro**, v. 30, n. 3, p. 207-218, 2018. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20203133317>.
- CLEMENTE, J. M.; CARDOSO, C. R.; VIEIRA, B. S.; FLOR, I. da M.; COSTA, R. L. Use of *Bacillus* spp. as growth promoter in carrot crop. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 35, p. 3355-3359, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11316>.
- FASCIGLIONE, G.; CASANOVAS, E. M.; QUILLEHAUQUY, V.; YOMMI, A. K.; GOÑI, M. G.; ROURA, S. I.; BARASSI, C. A. *Azospirillum* inoculation effects on growth, product quality and storage life of lettuce plants grown under salt stress. **Scientia Horticulturae**, v. 195, n. 15, p. 154-162, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.015>.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>.
- FLORENTINO, L. A.; FRANCO JUNIOR, K. S.; PAREDES FILHO, M. V.; OLIVEIRA T. E. de; SOUZA, F. R. C.; SILVA, A. B. Inoculação e aplicação de diferentes doses de nitrogénio na cultura do feijoeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 4, p. 963-970, 2018. DOI: <https://doi.org/10.19084/RCA17001>.
- FLORES-FÉLIX, J. D.; MENÉNDEZ, E.; RIVERA, L. P.; MARCOS-GARCÍA, M.; MARTÍNEZ-HIDALGO, P.; MATEOS, P. F.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; VELÁZQUEZ, M. de la E.; GARCÍA-FRAILE, P.; RIVAS, R. Use of *Rhizobium leguminosarum* as a potential biofertilizer for *Lactuca sativa* and *Daucus carota* crops. **Journal of Plant**

**Nutrition and Soil Science**, v. 176, n. 6, p. 876-882, 2013. DOI:  
<https://doi.org/10.1002/jpln.201300116>.

FUKAMI, J.; CEREZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 73, p. 1-12, 2018. DOI:  
<https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>.

GARBI, M.; CARLETTI, S.; SILLON, C.; VITA, F. Respuesta de plántulas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* L.) a la inoculación con una formulación compuesta por tres cepas de *Azospirillum brasiliense*. **Horticultura Argentina**, v. 35, n. 86, p. 19-28, 2016.

GARCÍA-FRAILE, P.; CARRO, L.; ROBLEDO, M.; RAMÍREZ-BAHENA, M. H.; FLORES-FÉLIX, J. D.; FERNÁNDEZ, M. T.; MATEOS, P. F.; RIVAS, R.; IGUAL, J. M.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; PEIX, A.; VELÁZQUEZ, E. *Rhizobium* promotes non-legumes growth and quality in several production steps: towards a biofertilization of edible raw vegetables healthy for humans. **PLOS ONE**, v. 7, n. 5, p. 1-8, 2012. DOI:  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038122>.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; FATHI ABD ALLAH, E. *Bacillus subtilis*: a plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, 2019. DOI:  
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801, 2013. DOI:  
<https://doi.org/10.1007/s00374-012-0771-5>.

JAKUBOWSKA, Z.; GRADOWSKI, M.; DOBRZYŃSKI, J. Role of plant growth-promoting bacteria (PGPB) in enhancing phenolic compounds biosynthesis and its relevance to abiotic stress tolerance in plants: a review. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 118, n. 123, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-025-02130-8>.

KOTTWITZ, D.; SILVA, V. N. Cultivo de alface crespa com diferentes fontes de nitrogênio. **Ciência Agrícola**, v. 22, e15815, 2024. DOI:  
<https://doi.org/10.28998/rca.22.15815>.

KOZUSNY-ANDREANI, D. I.; ANDREANI JUNIOR, R. Colonização rizosférica e promoção do crescimento por rizóbios em mudas de alface. **Nucleus**, v. 11, n. 2, p. 443-452, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3738/1982.2278.1108>.

LIMA, A. A. de; VENTUROSO, L. dos R.; SILVA, B. A. A.; GOMES, A. F.; SCHIMIDT, O. Eficiência da inoculação de *Azospirillum brasiliense* associado com enraizador no

crescimento e na produção de alface. **Revista Verde**, v. 12, n. 2, p. 233-240, 2017. DOI: <https://doi.org/0000-0001-6291-3049>.

MANGMANG, J. S.; DEAKER, R.; ROGERS, G. Early seedling growth response of lettuce, tomato and cucumber to *Azospirillum brasiliense* inoculated by soaking and drenching. **Horticultural Science**, v. 42, n. 1, p. 37-46, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17221/159/2014-HORTSCI>.

MILHOMENS, K. K. B.; NASCIMENTO, I. R. do; TAVARES, R. de C.; FERREIRA, T. A.; SOUZA, M. E. Avaliação de características agronômicas de cultivares de alface sob diferentes doses de nitrogênio. **Revista Verde**, v. 10, n. 1, p. 143-148, 2015. DOI: <https://doi.org/10.18378/rvads.v10i1.2940>.

OLIVERA, C. E. da S.; FERNANDES, G. C.; JALAL, A.; SANT'ANA, G. R.; AGUILAR, J. V.; CAMARGOS, L. S. de. Inoculation and concentration of *Bacillus subtili* and *Azospirillum brasiliense* to nitrogen metabolism, leaf gas exchange and plant growth in hydroponic lettuce. **International Journal of Vegetable Science**, v. 31, n. 5, p. 669-692, 2025 DOI: <https://doi.org/10.1080/19315260.2025.2520340>.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, v. 9, n. 205, p. 1-22, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>.

SCHLINDWEIN, G.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; AZAMBUJA, A. C.; GRANADA, C. E.; GABIATTI, N. C.; PRATES, F.; STUMPF, R. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 658-664, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000300010>.

SEGATO, S. B.; BETTIO, D. P.; CACEFO, V.; ARAUJO, F. F. de. Controle biológico de nematóides em alface com *Bacillus subtilis*. **Colloquium Agrariae**, v. 12, n. esp., p. 23-29, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5747/ca.2016.v12.nesp.000166>.

SHEHATA, S. M.; SCHMIDHALTER, U.; VALŠÍKOVÁ, M.; JUNGE, H. Effect of bio-stimulants on yield and quality of head lettuce grown under two sources of nitrogen. **Gesunde Pflanzen**, v. 68, n. 1, p. 33-39, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10343-016-0357-5>.

SYLVESTRE, T. de B.; BRAOS, L. B.; BATISTELLA FILHO, F.; CRUZ, M. C. P. da; FERREIRA, M. E. Mineral nitrogen fertilization effects on lettuce crop yield and nitrogen leaching. **Scientia Horticulturae**, v. 255, n. 1, p. 153-160, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.05.032>.

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

VENANCIO, W. S.; GOMES, J. M.; NAKATANI, A. S.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. Lettuce production under reduced levels of N-fertilizer in the presence of plant growth-promoting *Bacillus* spp. bacteria. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 13, n. 4, p. 1941-1952, 2019. DOI: <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.4.06>.

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