

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO
PAULO**

CÂMPUS BARRETOS

BACHARELADO EM AGRONOMIA

GUILHERME VINICIUS COSTA DE JESUS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE
FOSFATO NA CULTURA DA ALFACE (*Lactuca sativa* L.)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

BARRETOS

2022

GUILHERME VINICIUS COSTA DE JESUS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE
FOSFATO NA CULTURA DA ALFACE (*Lactuca sativa* L.)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo, do Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia de São
Paulo, Câmpus Barretos.

Orientador: Prof^a. Dra. Glauca Bethânia Rocha Moreira

Co-orientador: Prof. Dr. Antônio José Radi

BARRETOS

2022

J58a Jesus, Guilherme Vinicius Costa de
Avaliação do efeito de bactérias solubilizadoras de fosfato na
cultura da alface / Guilherme Vinicius Costa de Jesus. – 2022.
37 f. : il.; 30 cm

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Agronomia)
- Instituto Federal de São Paulo - Campus Barretos,
2022.

Orientação: Prof^a. Dra. Glaucia Bethânia Rocha Moreira

1.*Lactuca sativa* L. 2.Fósforo. 3.Solubilização. I.Título.

CDD: 632

Dedico este trabalho aos funcionários do IFSP Câmpus Barretos, que colaboraram muito com a minha trajetória. Também, à minha família, amigos e querida namorada, que me deram todo o suporte nos dias difíceis.

AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre essas palavras, mas elas podem estar certas que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão.

Agradeço a minha orientadora e co-orientador, Prof.^a Dra. Gláucia Bethânia Rocha Moreira e Prof. Dr. Antônio José Radi, pela vontade de transmitir o conhecimento e colaborar com esta jornada.

Gostaria de registrar o meu muito obrigado ao João Paulo e aos funcionários que me ajudaram na implantação e execução do experimento.

Ainda, devo agradecer imensamente a empresa Bioma e seus colaboradores, em especial ao Guilherme, profissional que possibilitou a conexão entre a instituição e a empresa, fornecendo o produto para o experimento.

Por fim, agradecer à minha família, amigos e namorada pela compreensão e apoio nesta trajetória.

“Sonhos determinam o que você quer. Ação determina o que você conquista.”

Aldo Novak

RESUMO

A alface é uma das hortaliças mais consumidas no Brasil, e a mudança dos hábitos alimentares da população colaborou com o aumento da produção destes vegetais. Para tanto, o aporte de fertilizantes nos campos de produção de hortaliças deve aumentar conforme a necessidade de se produzir mais vegetais. Microrganismos com diferentes mecanismos de ação, capazes de auxiliar o desenvolvimento dos cultivos e aumentar a produtividade das culturas têm sido amplamente pesquisados nos últimos anos, porém, sua aplicação fica restrita a culturas de maior interesse econômico, restando poucas opções para as *minor crops*. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi estudar o desenvolvimento da alface crespa, inoculada com o produto comercial BiomaPhos®, contendo *Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119, isolados estes com capacidade para solubilização de fosfatos. O experimento foi conduzido na área experimental do Câmpus Agrícola no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, município de Barretos, entre os meses de junho e julho de 2022. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 4 tratamentos e 6 repetições, totalizando 24 parcelas, sendo que cada parcela contava com 21 plantas, e dessas, 5 plantas centrais foram analisadas ao final do experimento. Os tratamentos consistiram em (Controle) sem inoculação (T0), (T1) inoculado na dose equivalente a 100ml/ha, (T2) inoculado na dose equivalente a 150ml/ha e (T3) inoculado na dose equivalente a 200ml/ha. O inoculante foi aplicado na bandeja das mudas, direcionado à raiz e posteriormente foram transplantadas. As plantas foram conduzidas no campo até o 30º dia após o transplântio, quando foram colhidas, sendo mensuradas as seguintes variáveis: altura de planta (AP), comprimento da raiz principal (CRP), diâmetro do caule (DC), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR). Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste Tukey a 5% de probabilidade, além de se verificar o efeito das doses mediante análise de regressão. A inoculação realizada com o produto, não promoveu efeitos positivos, sendo que para todas as variáveis analisadas não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L.. Fósforo. Solubilização. BiomaPhos®.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Transplântio das mudas de alface.....	21
Figura 2 - Ferramentas, utilizadas na avaliação dos parâmetros a) paquímetro manual, b) balança de precisão, c) estufa.....	22
Figura 3 – Altura das plantas de alface em função das doses do inoculante BiomaPhos®.....	24
Figura 4 – Comprimento da raiz principal em função das doses do inoculante BiomaPhos®.....	25
Figura 5 – Diâmetro do caule em função das doses do inoculante BiomaPhos®.....	25
Figura 6 – Massa fresca da parte aérea em função das doses do inoculante BiomaPhos®.....	26
Figura 7 - Massa fresca da raiz em função das doses do inoculante BiomaPhos®.....	26
Figura 8 - Massa seca da parte aérea em função das doses do inoculante BiomaPhos®.....	27
Figura 9 - Massa seca da raiz em função das doses do inoculante BiomaPhos®.....	27
Figura 10 - Raiz apresentando sintomas de intumescimento possivelmente ocasionado por nematoide das galhas (<i>Meloidogyne</i> spp.), Câmpus Barretos (2022).....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação de médias das variáveis pelo teste Tukey a 5%.....	23
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Análise de solo coletada antes do início do experimento.....	30
Gráfico 2 - Análise de solo coletada após a realização do experimento.....	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 CULTURA DA ALFACE	14
2.2 FERTILIZANTES FOSFATADOS	15
2.3 MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO	16
2.4 INOCULANTE COMERCIAL.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA	19
3.2 IMPLANTAÇÃO E CONDUÇÃO	19
3.3 VARIÁVEIS ANALISADAS.....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5 CONCLUSÃO.....	32
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de hortaliças tem aumentado significativamente na última década, em consonância com a crescente demanda da população por alimentos mais saudáveis (BETTIO *et al.*, 2016).

Dentre as hortaliças, a alface é uma das espécies olerícolas cultivada e comercializada em grande parte do território nacional. Seu consumo ocorre predominantemente *in natura* e sua produção se concentra nas proximidades de áreas urbanas, em regiões denominadas cinturões-verdes, tendo em vista a alta perecibilidade desta folhosa (HENZ e SUINAGA, 2009).

A China atualmente é o maior produtor de alface do mundo, responsável por 23,6 milhões de toneladas colhidas anualmente, equivalente a 52% do total produzido, seguida por Estados Unidos e Índia. A produção brasileira ocupa a sétima posição dentre os maiores países produtores, alcançando os 1,5 milhões de toneladas produzidas anualmente. Em nível nacional, os maiores estados produtores se localizam na região centro sul com destaque para São Paulo, Paraná e Minas Gerais, totalizando juntos mais de 12 mil hectares cultivados (CAMPO E NEGÓCIOS, 2021).

Não diferente das demais culturas, a alface é extremamente exigente no macronutriente fósforo, em especial na fase final de seu ciclo, quando a assimilação deste nutriente é maior (KANO, *et al.*, 2012). De acordo com (KATAYAMA, 1993) a deficiência do fósforo nas plantas de alface pode provocar colorações verde opaca nas folhas velhas, além de má formação da cabeça.

O Brasil é o país que possui a maior capacidade para expansão agrícola no mundo, incluindo a produção de hortaliças. Com isso, para suprir a atual demanda de nutrientes na agricultura, o país importa cerca de 70% dos fertilizantes fosfatados e nitrogenados utilizados nacionalmente (ANDA - Associação Nacional para Difusão de Adubos, 2021; GlobalFert, 2021). Nesse sentido, a dependência da importação de fertilizantes, em especial os fosfatados, coloca o agronegócio em situação vulnerável, por conta das oscilações dos preços no mercado externo, além da redução da competitividade da agricultura brasileira (PAIVA *et al.*, 2021). Uma alternativa, está nos avanços em desenvolvimento de produtos biológicos, os quais têm gerado grande

interesse no setor agrícola nos últimos anos, uma vez que são tecnologias que podem incrementar a produtividade, reduzir os custos e mitigar os impactos ao meio ambiente (PAIVA *et al.*, 2021).

Dessa forma, objetivou-se com o presente trabalho avaliar parâmetros fitométricos de plantas de alface submetidas a diferentes doses de um inoculante comercial contendo *Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119, isolados estes com capacidade para solubilização de fosfatos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CULTURA DA ALFACE

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças mais consumidas no Brasil, presente em todas as regiões independente do clima e costume. O tipo predominantemente cultivado no país é a alface crespa (COSTA; SALA, 2005). Originária das regiões do sul da Europa e Ásia Ocidental, essa hortaliça tem preferência por temperaturas mais amenas, entre 12 e 22 °C, e com dias longos (LOPES, 2002). Pode ser cultivada durante todo o ano, por possuir cultivares com adaptação ao verão e inverno. As cultivares de verão costumam apresentar atributos inferiores em relação as cultivares de inverno, como cabeças menos compactas e número menor de folhas. (HENZ; SUINAGA, 2009).

Pertencente à família Asteraceae, da subfamília Cichorioideae, a alface é uma planta anual, de hábito herbáceo, sendo considerada delicada. Suas folhas são extensas com crescimento em roseta, lisas ou crespas e coloração verde ou roxa (JÚNIOR, 2020). Seu sistema radicular é bem ramificado, atingindo em média 25 centímetros. Possui maior desenvolvimento em solos de textura média, respondendo muito bem a adubação orgânica, necessitando de uma faixa de pH entre 6,0 e 6,8, e saturação de bases 70% (FILGUEIRA, 2008).

A absorção de nutrientes da alface é mais intensa durante a fase final de cultivo, próximo a colheita, quando o acúmulo de biomassa, bem como de nitrogênio, fósforo e potássio atinge seu máximo potencial (KANO, *et al.*, 2012). A absorção de nitrogênio pela alface se intensifica principalmente cerca de quarenta dias após a semeadura, sendo que para fósforo, cálcio e magnésio essa intensificação ocorre em torno de quarenta e cinco dias. De acordo com (LOPES, *et al.* 2021), a exigência nutricional da alface tende a seguir uma ordem para macro e micronutrientes, sendo ela: potássio (K), nitrogênio (N), cálcio (Ca), fósforo (P) e magnésio (Mg), e para os micronutrientes: ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e cobre (Cu).

2.2 FERTILIZANTES FOSFATADOS

As regiões tropicais muitas vezes possuem solos ricos em fósforo, porém, boa parte deste nutriente encontra-se na fração mineral indisponível e não assimilável pelas plantas (TSAI; ROSSETO, 1992). De acordo com (SIQUEIRA; FRANCO, 1988), o fósforo disponível para as plantas encontra-se apenas nas formas de P monobásico (H_2PO_4^-) e P dibásico (HPO_4^{2-}), enquanto que o fósforo indisponível no solo pode estar nas seguintes formas: fósforo na forma sólida, subdividido em fósforo orgânico ou inorgânico, ou fósforo em forma de solução inorgânica. Ainda, este fósforo pode estar indisponível devido as ligações ou fixação com óxidos de ferro e alumínio em solos ácidos, ou ligados ao cálcio em solos de caráter neutro e alcalino, ocasionando a formação de fosfatos pouco solúveis, situação muito comum nos solos brasileiros. Para (TAIZ; ZIEGER, 2006) o fósforo é fundamental nas etapas de fotossíntese, respiração, atuando também na formação de nucleotídeos e fosfolípidios presentes na membrana.

Dessa forma, segundo (RAIJ, 1991), esses fatores são os principais limitantes da absorção de fósforo pelas plantas, além de implicar em um aporte excessivo das fontes de fosfato no solo, superiores as reais necessidades da cultura. Com isso, o aporte de nutrientes no solo por meio de fertilizantes, em especial os fosfatados, corresponde à um fator de extrema importância para o bom desenvolvimento das culturas.

Para suprir tamanha demanda, o Brasil, juntamente com China, Índia e Estados Unidos, lidera o ranking dos principais países consumidores de fertilizantes do planeta, em especial os fosfatados e potássicos, sendo que destes, o Brasil importa 70 e 95% respectivamente (PAIVA, 2021).

O Brasil possui importância à nível global na produção de alimentos, e seu impacto na economia mundial intensifica a necessidade de se adotar práticas que possam otimizar o aporte de fertilizantes no solo, principalmente os fosfatados. Uma técnica promissora consiste na possibilidade de se adicionar microrganismos que possam atuar maximizando a absorção e liberação de fósforo no solo, oriundo de formas pouco solúveis, de modo a reduzir tamanha dependência sobre a importação

de fertilizantes e garantir a segurança da produção de alimentos nacional e mundial (PAIVA, 2021).

2.3 MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO

Nas últimas décadas, diversos trabalhos evidenciaram a capacidade que alguns grupos de microrganismos possuem, em solubilizar nutrientes em formas pouco solúveis, disponibilizando-os de modo que as plantas possam assimilá-los mais facilmente, como os fosfatos (ALVES, 2006).

Existem alguns gêneros de microrganismos já conhecidos e estudados pelo homem, que podem solubilizar o fósforo de uma forma mais eficiente, dentre eles destacam-se os: *Bacillus*, *Azobacter*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Rhizobium* (ZAIDI *et al.*, 2009).

Grande parte dos microrganismos solubilizadores de fosfato estão inseridos no grupo de solubilizadores de fosfato inorgânico, e, portanto, possuem uma afinidade maior com a solubilização a partir de fosforitas, apatitas, fosfatos bicálcicos e tricálcicos. Com isso, o principal mecanismo se dá por meio da liberação de ácidos orgânicos, e estes ácidos, podem facilmente dissolver fosfatos de rocha ou quelar íons de cálcio, disponibilizando assim o fósforo na solução do solo para absorção dos vegetais. Mesmo que em menores proporções, outros mecanismos também podem colaborar com a disponibilidade de fósforo na solução do solo, entre eles a excreção de íons H, produção de enzimas fosfatases e produção de sideróforos (SOUTO, 2020).

De acordo com (PAIVA, *et al.* 2021), os microrganismos solubilizadores de fosfato ainda podem disponibilizar P na solução por meio de mais alguns mecanismos, como a solubilização de P sobre as partículas de cálcio, ferro e alumínio, bem como na mineralização de P orgânico por meio das enzimas fitase e fosfatase.

Mas ainda existem outros fatores externos, que podem colaborar ou comprometer a eficiência da solubilização de fosfato por parte dos microrganismos, a depender da condição ambiental e do estresse em que se encontram. Por isso, sua inoculação no ambiente de cultivo, quando bem realizada, pode agregar vantagens e

garantir que o adequado processo de solubilização de fósforo se desenvolva (JÚNIOR, 2020).

2.4 INOCULANTE COMERCIAL

O primeiro inoculante a base de *Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119 comercialmente registrado, foi lançado em novembro de 2021 após diversos anos de pesquisa, contendo cerca de 4×10^9 células viáveis/mL. Até o momento, apenas fungicidas biológicos estavam registrados com o gênero *Bacillus*, com destaque para os fungicidas biológicos: Kodiak a base de *Bacillus subtilis* GB03, Subtilex e Premier Pro a base de *Bacillus subtilis* MBI 600 e Serenade a base de *Bacillus subtilis* QST 713, todos com registro no órgão americano United States Environmental Protection Agency (USEPA) para as culturas de milho, algodão, soja, amendoim e tomate (JÚNIOR, 2020).

BiomaPhos® é um inoculante registrado apenas para as culturas de soja e milho, o que favorece a expansão de pesquisas para outras culturas, em especial as *minor crops*, abrindo espaço para este mercado de inoculantes biológicos (PAIVA, *et al.* 2021).

Nesse sentido, de modo geral os passos para obtenção de um inoculante comercial tendem a seguir uma ordem já descrita na literatura, em um ambiente controlado, como por exemplo: isolamento dos microrganismos, caracterização fisiológica, caracterização molecular, *screenings* desenvolvidos em laboratório ou casa de vegetação, testes de viabilidade em diferentes veículos de inóculo, finalizando com os testes de eficiência agrônômica à nível de campo para as culturas que se pretende registrar o inoculante. Uma importante observação, é assegurar que o inoculante contenha o adequado número de células viáveis após todos os procedimentos, estabelecido pelo adequado posicionamento do veículo industrial, substância esta que irá garantir o tempo de prateleira do produto, fornecendo um ambiente para os microrganismos vivos presentes no produto se manterem viáveis durante o prazo delimitado (PAIVA, *et al.* 2021).

Em relação aos veículos de inóculo, os comumente utilizados pela indústria podem conter formulações líquidas, a base de géis e as liofilizadas. As formulações líquidas são substratos aquosos esterilizados com potencial de fornecer energia na forma de amido por exemplo, para que microrganismos se movimentem e estejam viáveis após longos períodos, veículo a base de géis também compartilham do mesmo mecanismo, e os liofilizados são mais utilizados para turfas, contendo um pó molhável que necessita ser hidratado antes da inoculação (REIS, *et al.* 2020)

Com isso, a utilização racional dos inoculantes a base de microrganismos, podem proporcionar economia ao produtor, bem como atenuar a crescente demanda por fertilizantes importados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA

O experimento foi conduzido na área experimental do Câmpus Agrícola no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, município de Barretos (latitude 20°30'00.3" S, longitude 48°33'53.0" W), entre os meses de junho e julho de 2022.

De acordo com Köppen, o clima do local, é classificado em Aw, com temperatura média de 23.6 °C e pluviosidade média anual de 1363 mm. O município está a uma altitude de 530 metros acima do nível do mar. O mês mais seco do ano é julho, com precipitação média de 14 mm, enquanto o mês de maior precipitação é janeiro, com uma média de 265 mm. Em relação a temperatura, o mês com a média mais quente do ano é outubro com 25.8 °C, e o mês com a menor média de temperatura é junho, com 20.5° C ("Clima Barretos: Temperatura, Tempo e Dados climatológicos Barretos - Climate-Data.org", 2021).

O município apresenta solo classificado como Latossolo Vermelho ou Vermelho-Amarelo, Distrófico típico A moderado ou fraco textura média álico ou não álico, fase relevo suave ondulado (ROSSI, 2017).

3.2 IMPLANTAÇÃO E CONDUÇÃO

Foi realizada análise de solo na profundidade de 0 a 20 centímetros setenta dias antes da implantação do experimento. Outra análise foi realizada dois dias após a colheita do material vegetal, com o intuito de promover uma quantidade maior de indicadores para o experimento.

O preparo dos canteiros ocorreu cinco dias antes do transplante, com o auxílio da encanteiradora. As plantas foram dispostas em 3 linhas por canteiro, espaçadas de 25x25 centímetros, sendo que as dimensões eram de 2x1 metros por canteiro. As mudas de alface crespa cultivar Vanda foram adquiridas de viveiro certificado e

transplantadas quando apresentaram dois pares de folhas definitivas (figura 1). Antes do transplântio, as mudas receberam os tratamentos com o solubilizador de fósforo BiomaPhos®. Este produto foi resultado de uma parceria entre a EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e a empresa privada Bioma. Trata-se de um inoculante líquido com o objetivo solubilizar o fósforo retido nas partículas de alguns minerais presentes no solo. Em sua composição há duas cepas, BRM 119 (*Bacillus megaterium*) e BRM 2084 (*Bacillus subtilis*). Seu funcionamento se baseia na colonização da rizosfera da planta, logo após a interação.

Os tratamentos foram divididos em: Controle (sem produto); Tratamento 1 (dose equivalente 100ml/ha); Tratamento 2 (dose equivalente 150ml/ha); e Tratamento 3 (dose equivalente 200ml/ha). Seguindo a recomendação do fabricante, utilizou-se a dosagem indicada para a cultura com a menor população de plantas, nesse caso, o milho, com recomendação de 100ml do produto para 60.000 mil sementes, portanto, considerando uma muda de alface como uma semente de milho, cada muda do T1 recebeu 0,00166ml do inoculante para se alcançar a dosagem de 100ml/ha, sendo que para o tratamento T2 essa dosagem foi incrementada em 50% e 100% para T3. Assim, foram diluídos 0,420 ml do produto em 252 ml de água destilada como veículo para o Tratamento 1. Houve acréscimo de 50% na dose e foram diluídos 0,630 ml do produto em 252ml de água destilada para o Tratamento 2. Novamente, houve um acréscimo de 100% na dose em relação ao T1 e foram diluídos 0,840 ml do produto em 252 ml de água destilada para o Tratamento 3. Todas as vidrarias e instrumentos utilizados foram previamente esterilizados com álcool 70% durante 7 minutos e enxaguados em água destilada corrente. Para a inoculação na bandeja, foi utilizada uma micropipeta automática de 100 - 1000 uL, sendo que cada planta recebeu um jato direcionado à raiz, com 1ml do produto diluído na água destilada.

O controle de plantas daninhas ocorreu de forma manual, ao 20º e 27º dia respectivamente. Ao 12º dia foi necessário a implantação de um sistema para afastar pássaros, confeccionado com o auxílio de discos compactos (Conhecidos popularmente como CD's) e linha de pesca, amarrados e dispostos em cada um dos 3 canteiros. Para irrigação, foi utilizada o método por gotejamento, com 2 fitas de gotejadores dispostas em cada canteiro, a suplementação hídrica ocorreu durante todos os dias de experimento, sendo acionada somente no período da manhã.

Após trinta dias do transplântio, foi realizada a colheita manual das parcelas. As plantas foram retiradas do solo com o auxílio de uma espátula e colocadas em um recipiente com água emergindo apenas as raízes, de modo a evitar a perda de água no caminho até o laboratório. Das vinte e uma plantas presentes em cada parcela, cinco plantas centrais foram coletadas para análise. Posteriormente as raízes foram lavadas em água corrente, sempre evitando a perda de material vegetal.

Figura 1 - Transplântio das mudas de alface. IFSP, Câmpus Barretos (2022).



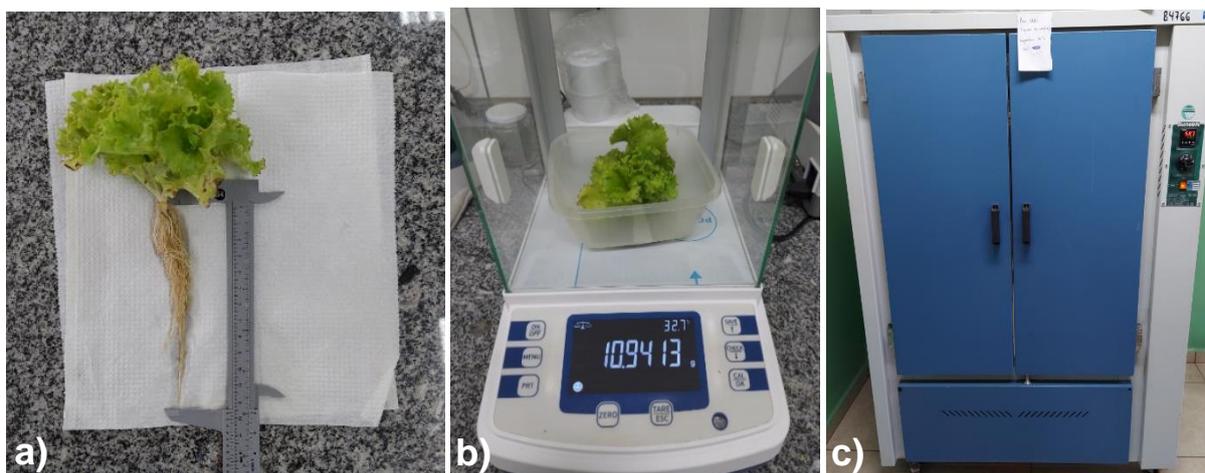
Fonte: Autor (2022).

3.3 VARIÁVEIS ANALISADAS

As variáveis estudadas foram: Altura de planta (AP) obtida com uma régua, iniciando a medição da base do caule da planta até a última folha expandida; Comprimento raiz principal (CRP) obtida com o auxílio de um paquímetro manual, iniciando da extremidade da raiz mais longa até a base do caule da planta; Diâmetro do caule (DC) obtido com o paquímetro manual, mensurando a base do caule; sendo que para as variáveis de massa fresca da parte aérea e massa fresca raiz (MFPA e MFR) foram pesadas em balança digital de precisão. Após a pesagem das variáveis com peso fresco, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel Kraft devidamente identificados e colocados na estufa, por um período de 48 horas a uma temperatura constante de 60° C (figura 2). Dessa forma foi possível a pesagem na

balança digital para a mensuração da massa seca da parte aérea e massa seca da raiz (MSPA e MSR).

Figura 2 – Ferramentas utilizadas na avaliação dos parâmetros a) paquímetro manual, b) balança de precisão, c) estufa. IFSP, Câmpus Barretos (2022).



Fonte: Autor (2022).

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com seis blocos (repetições), quatro tratamentos (Controle, Tratamento 1 com dose equivalente a 100 ml/ha, Tratamento 2 com dose equivalente a 150 ml/ha e Tratamento 3 com dose equivalente a 200 ml/ha), sendo 21 plantas por parcela. Dessa forma o experimento contou com um total de 504 plantas ($6 \times 4 \times 21 = 504$).

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), as médias foram comparadas pelo teste Tukey e ajustadas a curvas de regressão, ambos com nível de significância de 5%, com o auxílio do Software R versão 4.2.1 (R Core Team, 2022).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação as variáveis avaliadas, a tabela 1 evidencia a comparação de médias realizada a partir do teste Tukey 5%.

Tabela 1 - Comparação de médias das variáveis pelo teste Tukey a 5%, Barretos (2022).

Variável	Tratamento (ml/ha)			
	0	100	150	200
Altura de planta (cm)	8,1767 a	8,2733 a	7,4367 a	7,5183 a
Comprimento da raiz principal (cm)	13,0333 a	13,1867 a	13,0533 a	13,2967 a
Diâmetro do caule (cm)	0,4267 a	0,4600 a	0,3933 a	0,4133 a
Massa fresca da parte aérea (g)	9,9358 a	11,5330 a	8,8378 a	8,9780 a
Massa fresca da raiz (g)	1,7208 a	1,9337 a	1,6010 a	1,6348 a
Massa seca da parte aérea (g)	0,9605 a	1,7008 a	1,2413 a	0,7715 a
Massa seca da raiz (g)	0,1732 a	0,2520 a	0,2038 a	0,1480 a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% significância.

Fonte: Autor (2022)

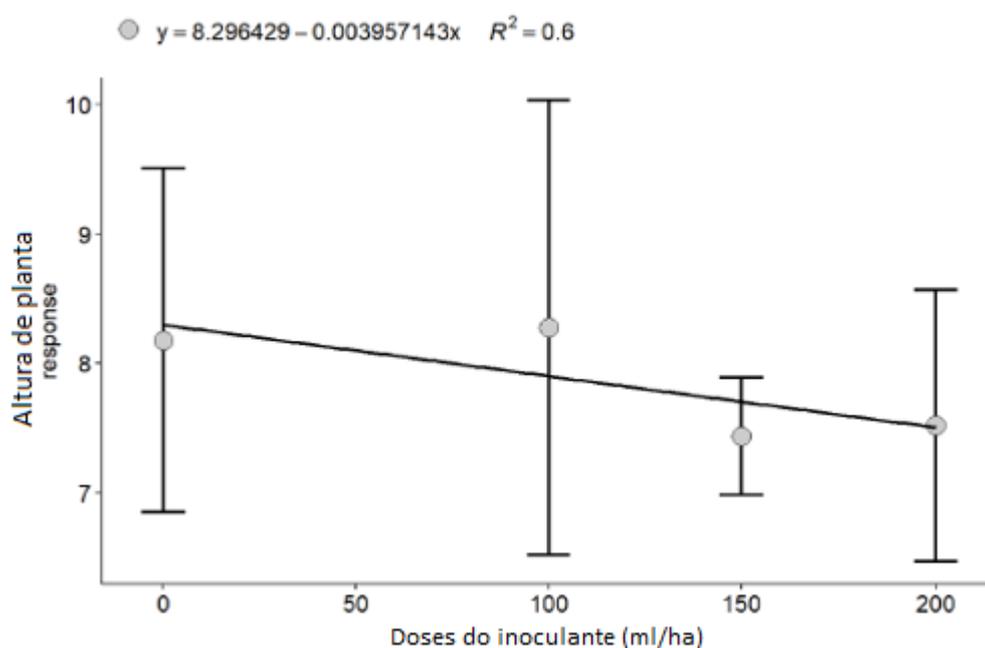
Os resultados apresentados na tabela 1 demonstram a média das plantas avaliadas submetidas as diferentes dosagens para todas as variáveis. Dessa forma, observa-se que todos os resultados seguidos de mesma letra, não são estatisticamente diferentes entre si, indicando que nenhum tratamento proporcionou vantagem em relação aos demais.

Apesar da colheita ocorrer ao 30º dia, as plantas não apresentaram bom desenvolvimento durante o experimento, mesmo manejadas com a devida irrigação e clima favorável. A partir das médias, não se observa diferença significativa entre os tratamentos. Dessa forma, as médias encontradas são inferiores, quando comparadas com as médias encontradas por (SOUZA, *et al.*, 2020). (JÚNIOR, 2020) trabalhando

com microrganismos solubilizadores de fosfato na cultura da alface também obteve médias superiores quando em comparação com as médias do presente trabalho. Ainda, (SILVA, *et al.*, 2018) observou efeitos positivos nos valores das médias dos atributos comerciais de plantas de alface inoculadas com microrganismos capazes de promover crescimento a partir da solubilização de fosfatos.

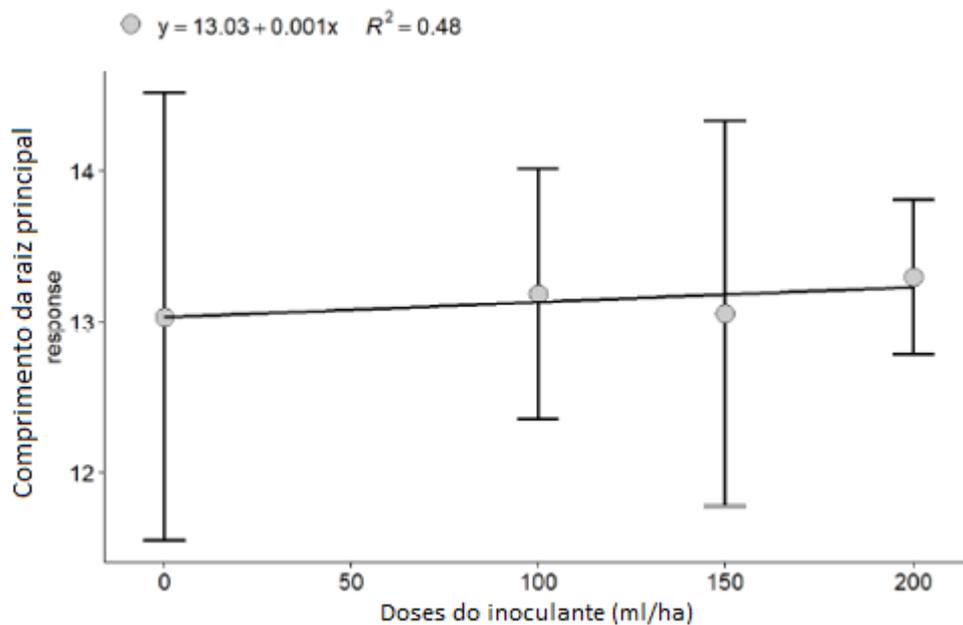
A sequência de figuras a seguir, exibe os resultados da análise de regressão para cada variável analisada no experimento.

Figura 3 - Altura das plantas de alface em função das doses do inoculante BiomaPhos®, Barretos (2022).



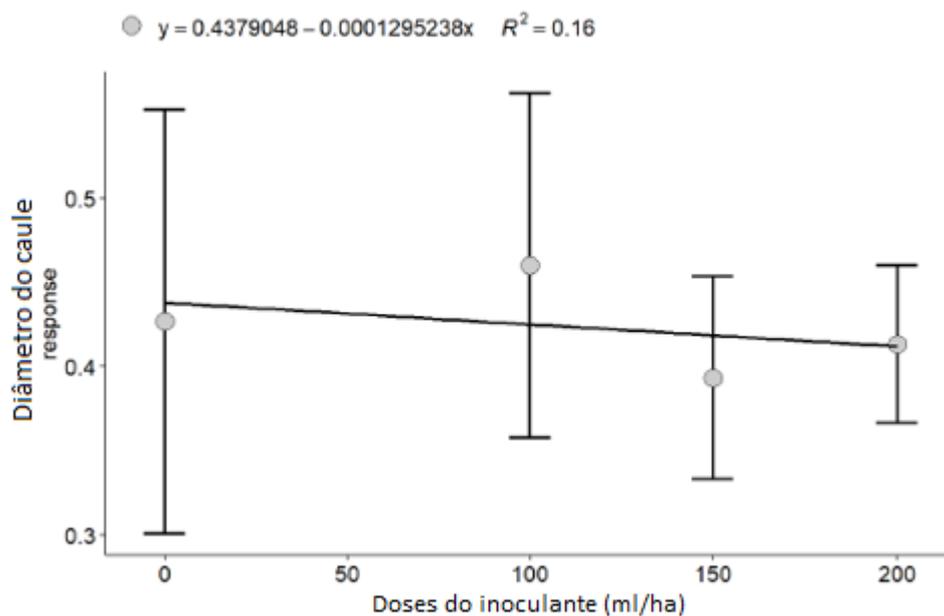
Fonte: Autor (2022).

Figura 4 – Comprimento da raiz principal em função das doses do inoculante BiomaPhos®, Barretos (2022).



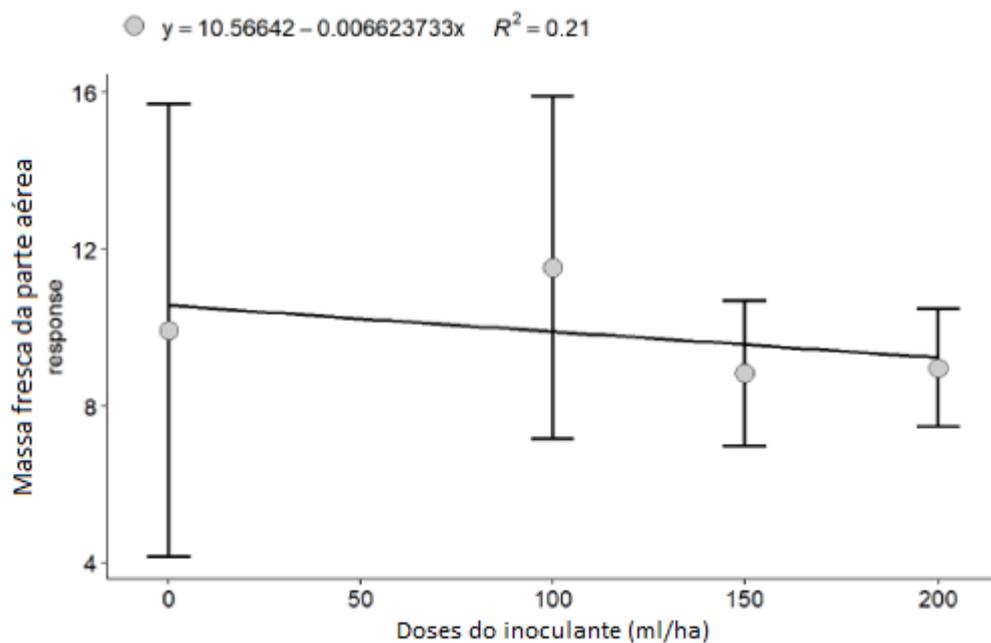
Fonte: Autor (2022).

Figura 5 – Diâmetro do caule em função das doses do inoculante BiomaPhos®, Barretos (2022).



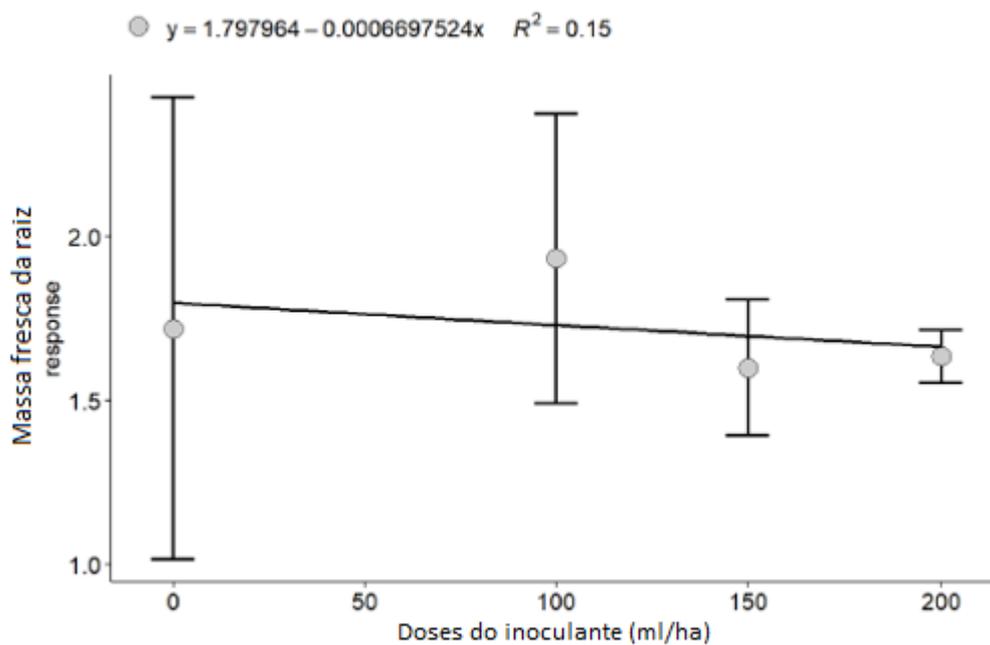
Fonte: Autor (2022).

Figura 6 – Massa fresca da parte aérea em função das doses do inoculante BiomaPhos®, Barretos (2022).



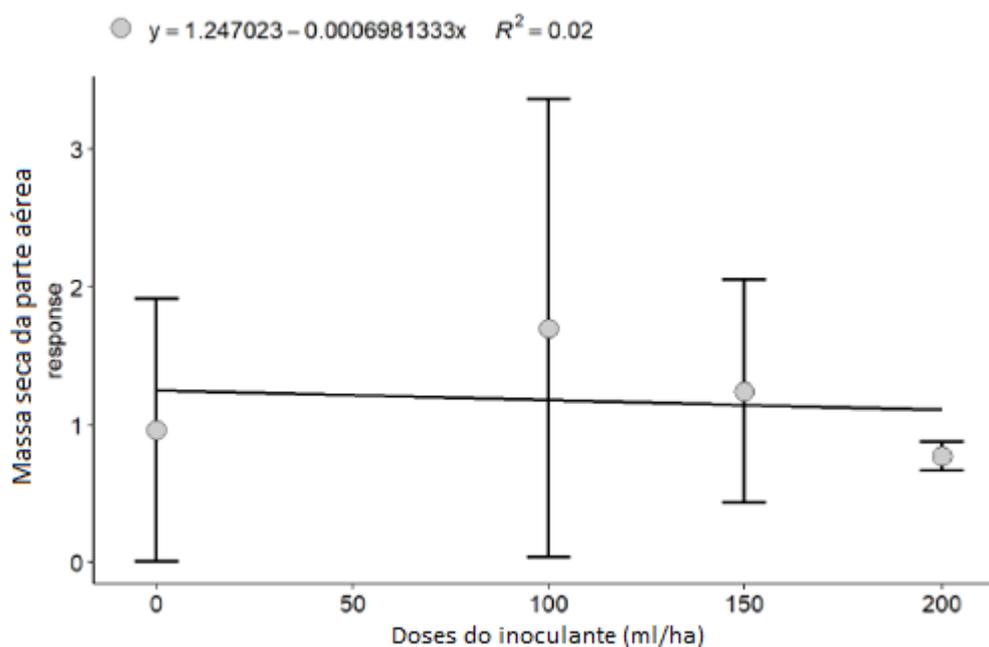
Fonte: Autor (2022).

Figura 7 – Massa fresca da raiz em função das doses do inoculante BiomaPhos®, Barretos (2022).



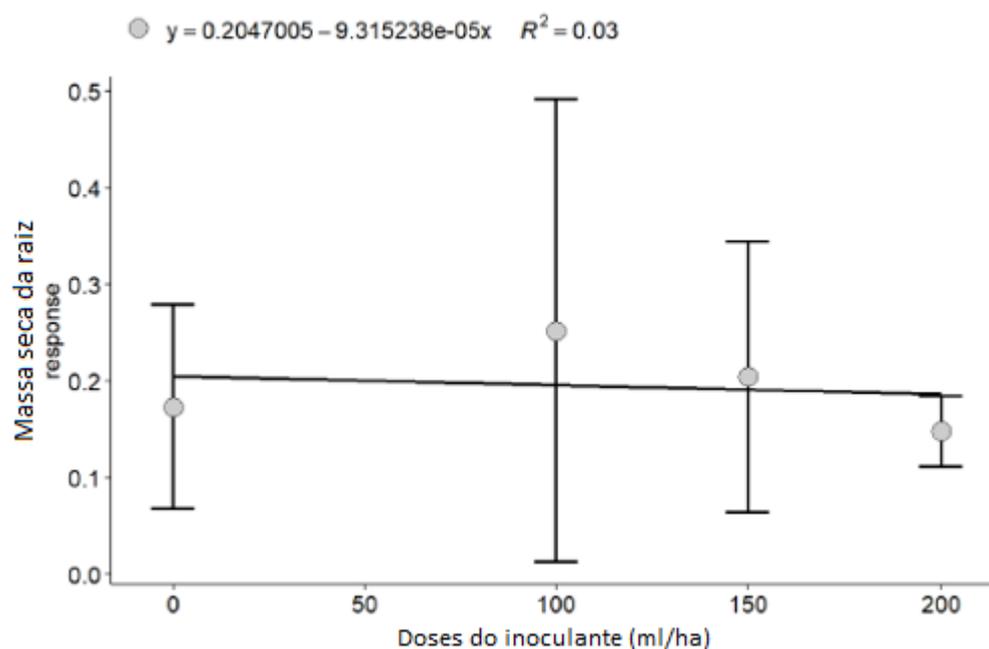
Fonte: Autor (2022).

Figura 8 – Massa seca da parte aérea em função das doses do inoculante BiomaPhos®, Barretos (2022).



Fonte: Autor (2022).

Figura 9 – Massa seca da raiz em função das doses do inoculante BiomaPhos®, Barretos (2022).



Fonte: Autor (2022).

A partir da interpretação das análises de regressão, confirma-se que não houve diferença significativa das diferentes doses do inoculante para cada variável, observado pela tendência das retas à um decréscimo.

Uma das explicações plausíveis para o ocorrido, diz respeito a possível presença de nematoides na área de cultivo. Conforme demonstra a figura 10, grande parte das raízes apresentavam estruturas que se assemelham com sintomas de intumescimento causado por nematoide das galhas (*Meloidogyne spp.*). De acordo com (OLIVEIRA; ROSA, 2014) algumas espécies do gênero *Meloidogyne* desenvolvem sintomas de nanismo quando associadas as raízes das plantas de alface. Ainda, podem ocasionar menor tamanho de cabeça na planta, bem como aumentar a incidência de folhas mais leves e soltas, sendo que todos estes sintomas foram presenciados durante o experimento.

Outro sintoma da presença desse gênero de nematoide em plantas de alface pode ser facilmente identificado pela presença de plantas com as folhas amareladas, normalmente em reboleira, porém, a pesada adubação com torta de filtro que essa cultura recebeu, mascara o amarelecimento das folhas, dificultando a identificação, fato este presenciado na condução do experimento, uma vez que mesmo demonstrando sintomas de nanismo, as plantas apresentavam as folhas verdes, devido ao ótimo fornecimento de nutrientes, em especial o fósforo, a partir da aplicação da torta de filtro 21 dias antes do início do experimento.

Figura 10 - Raiz apresentando sintomas de intumescimento possivelmente ocasionado por nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.), Câmpus Barretos (2022).



Fonte: Autor (2022).

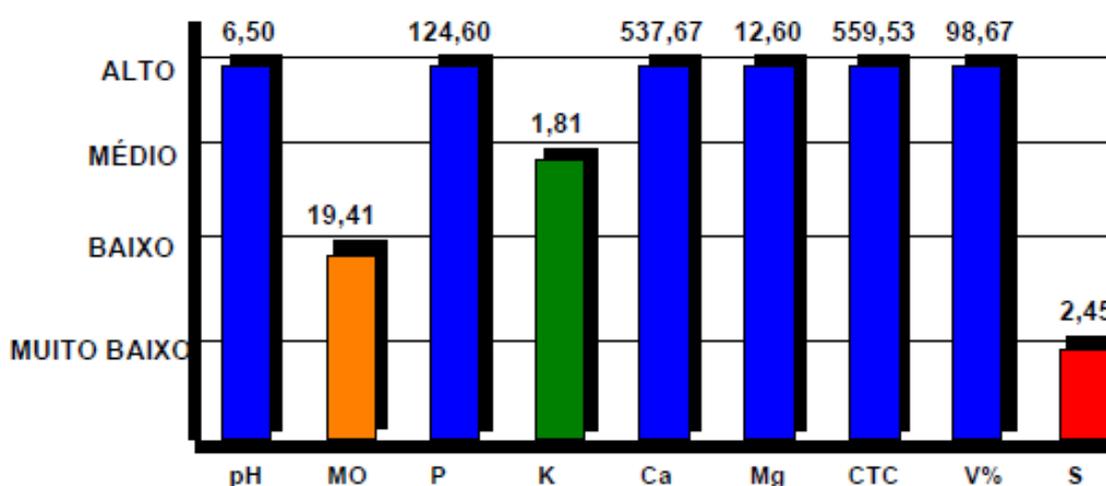
Conforme demonstrado por (DOMINGUES, *et al.*, 2022) e (FILHO, 2022), apesar de alguns microrganismos apresentarem mecanismos de controle biológico contra a ação de alguns gêneros de nematoides, como é o caso de *Bacillus* spp. ao liberarem substâncias que degradam a cutícula do nematoide, este fator não impediu a ação e infecção dos nematoides nas plantas de alface durante o experimento.

(PEIXOTO, *et al.* 2011) estudando as interações de nematoides do gênero *Meloidogyne* em plantas de alface nos diferentes tipos de solos, concluiu que esse gênero possui preferência por solos de textura arenosa ou média, por conta de suas propriedades porosas, aumentando a taxa de dano e infecção dos nematoides. Dessa forma, devido as características do solo da região do experimento, pode ter ocorrido uma interferência positiva no comportamento e potencial de dano por parte dos nematoides nas plantas de alface.

Assim, para (FERREIRA, *et al.*, 2018) os prejuízos causados pela infestação de nematoide das galhas podem chegar a 100%, a depender da cultivar de alface plantada.

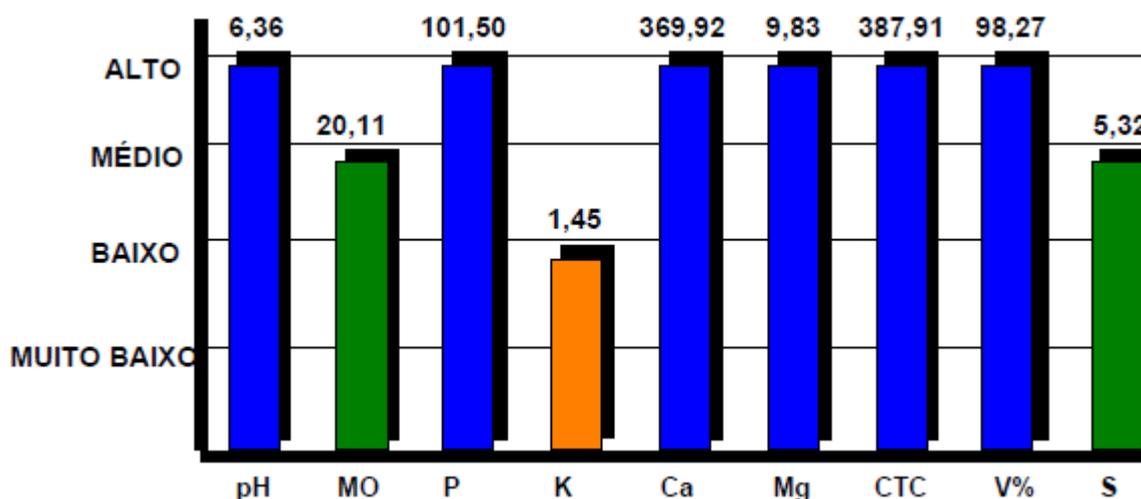
Os gráficos abaixo demonstram os resultados das análises de solo coletadas antes da implantação do experimento indicada pelo gráfico 1 e após a colheita pelo gráfico 2, ambos expressos em mg/dm³. Dessa forma, estes resultados apontam uma grande quantidade de fósforo presente no solo (124,60mg/dm³) e (101,50mg/dm³), evidenciando a presença de fontes de P como substrato para que as bactérias pudessem desempenhar seu papel na solubilização do fosfato disponível.

Gráfico 1 - Análise de solo coletada antes do início do experimento, Barretos (2022).



Fonte: Micellium análises agrícolas (2022).

Gráfico 2 - Análise de solo coletada após a realização do experimento, Barretos (2022).



Fonte: Micellium análises agrícolas (2022).

Com relação a testemunha, esperava-se que os tratamentos inoculados proporcionassem diferença significativa para todas as variáveis, o que não foi observado no experimento. Isso muito provavelmente se deve ao fato da aplicação de torta de filtro antes do início do experimento, proporcionando altíssimos níveis de fósforo no solo, conforme demonstra os gráficos 1 e 2. De acordo com (MARTINS, *et al.*, 2020), após a análise da composição da torta de filtro, evidenciou-se que de modo geral, a adubação do solo por meio da aplicação da torta fornece grandes quantidades de fósforo ao solo, o que é observado ao interpretar a análise solo no gráfico 1 e gráfico 2. O mecanismo responsável foi descrito por (SANTIAGO; ROSSETO, 2009), indicando que cerca de 50% do fósforo presente na torta de filtro se encontra prontamente disponível para absorção da planta, sendo os 50% restantes liberados de forma gradual, por mineralização. Dessa forma, a excessiva quantidade de fósforo presente no solo da área onde foi conduzido o experimento, permite deduzir que os efeitos da inoculação foram prejudicados e possivelmente mascarados pela alta concentração de fósforo atingida por meio adição da torta de filtro anterior ao início do experimento.

5 CONCLUSÃO

A inoculação das plantas de alface por meio do inoculante comercial contendo cepas de *Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119 capazes de solubilizar fosfato, não se mostrou benéfica no desenvolvimento das plantas para todas as dosagens e variáveis analisadas.

Dessa forma, dadas as condições do experimento, são necessárias a realização de novos trabalhos em diferentes condições na tentativa de evidenciar os efeitos benéficos da inoculação com o produto para a cultura da alface.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L. **Solubilização de nutrientes contidos em rochas por fungos ectomicorrízicos**. 2006. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis: UFSC, 2006.

ANDA, Associação Nacional Para Difusão de Adubos. Principais indicadores da importação e exportação de fertilizantes. Disponível em: https://anda.org.br/wp-content/uploads/2022/03/Principais_Indicadores_2021.pdf. Acesso em: 12 ago. 2022.

BETTIO, D. P.; CACEFO, V.; ARAUJO, F. F. Controle biológico de nematóides em alface com *Bacillus subtilis*. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 12, p. 2329, 2016.

BIOMAPHOS®. Ficha técnica. Disponível em: <https://www.bioma.ind.br/produto/bioma-phos>. Acesso em: 14 ago. 2022.

CAMPO & NEGÓCIOS, 2021. Folhosas: Em destaque no cenário nacional. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/folhosas-em-destaque-no-cenario-nacional/>. Acesso em: 20 ago. 2022.

CLIMA BARRETOS. Temperatura, Tempo e Dados climatológicos Barretos, Climate-Data.org. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/sao-paulo/barretos-4232/>. Acesso em: 14 ago. 2022.

COSTA, C. P.; SALA, F. C. A evolução da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**. Brasília, DF, v. 23, n. 1, 2005.

DOMINGUES, S. C. O.; *et al.* Ação de agentes biológicos no controle de fitonematóides em alface. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 10, n. 2, p. 157–166, 1 ago. 2022.

LOPES, E. M. C.; MACEDO, P. H. S.; SOUZA, C. F. Uso racional de nutrientes no cultivo de alface hidropônica. **CoPICT**, UFScar. Araras, SP. XXVII CIC e XII CIDTI. 2021.

FERREIRA, T. A.; *et al.* Reação de cultivares de alface a *Meloidogyne* raça 1 e 2, em condições de temperatura elevada. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**. Guarapuava, PR. v.11, n.3, p.31-39. 2018.

FILGUEIRA, F. A. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna para a produção de hortaliças**. 3. ed. Viçosa, MG. UFV. 2008.

FILHO, A. C. P. **Utilização de nematicidas biológicos para o controle de nematoides na cultura da alface**. 2022. Dissertação (Mestrado em Olericultura). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. Morrinhos, GO. 2022.

GLOBAL FERT. Importação de fertilizantes bate recorde em 2020. Disponível em: <https://globalfert.com.br/analises/importacao-de-fertilizantes-bate-recorde-em-2020/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

HENZ, G.; SUINAGA, F. Tipos de Alface Cultivados no Brasil. Comunicado técnico 75. **EMBRAPA**. Brasília, DF, vol. 75, 7 p. 2009.

JÚNIOR, PORFIRIO PONCIANO DE OLIVEIRA. **Bacillus subtilis na produção de alface**. 2020. Dissertação (Doutorado). UNESP, Ilha Solteira. 2020.

KANO, C.; CARDOSO, A. I. I.; BÔAS, R. L. V. Acúmulo de nutrientes e resposta da alface à adubação fosfatada. **Biotemas**, v. 25, n. 3, p. 39–47, 8 jun. 2012.

KATAYAMA, M.; *et al.* Nutrição e adubação de alface, chicória e almeirão. (Ed.). Nutrição e adubação de hortaliças. Piracicaba, SP. **Potefos**, p. 141-148. 1993.

LOPES, S. J. **Modelos referentes à produção de sementes de alface sob hidroponia**. 2002. Dissertação (Doutorado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MARTINS, M. B. F. *et al.* Biofertilizante de torta de filtro e bactéria promotora do crescimento em plantas na produção de mudas de alface. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9. 14 set. 2020.

OLIVEIRA, C. M. G. de.; ROSA, J. M. O. **Nematoides parasitos da alface**. Instituto biológico. São Paulo, SP. 14p. 2014.

PAIVA, C. A de O.; *et al.* **Validação da recomendação para o uso do inoculante BiomaPhos® na cultura de soja**. Sete Lagoas, MG. p. 19. 2021.

PEIXOTO, L. A.; *et al.* Quantificação de danos em alface causado por diferentes níveis de *meloidogyne* em diferentes tipos de solo. **Enciclopédia biosfera**. Centro Científico Conhecer. Goiânia, GO. vol.7. N.12. 2011.

RAIJ, B. V. Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba, SP. **Potefos**, 1991.

R CORE TEAM. Versão 4.2.1. Disponível em: <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/>. Acesso em: 31 ago. 2022.

REIS, V. A. M.; *et al.* Sobrevivência de rizóbio em sementes de feijão-caupi tratadas com fungicida e inoculante formulado com polímero goma xantana. **Cointer PDVAGRO**. Vitória de Santo Antão, PE. 16p. 2020

ROSSI, MARCIO. **Mapa pedológico do estado de São Paulo**. São Paulo, SP: Instituto Florestal. p. 122. 2017.

SANTIAGO, A.D.; ROSSETTO, R. Adubação: resíduos alternativos. 2009. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_39_711200516717.html. Acesso em: 16 ago. 2022.

SILVA, W. D.; *et al.* Desenvolvimento de plantas de alface sob diferentes concentrações de biofertilizante. **Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 1, 2018.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A Biotecnologia do solo: Fundamentos e perspectivas. Brasília. **FAEPE - ABEAS**, 236 p. 1988.

SOUTO, L. A. **Microrganismos solubilizadores de fosfato: usos e potencialidades na agricultura**. 2020. Monografia. Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo: UFU. 2020.

SOUZA, W.; *et al.* Efficient Microorganisms in lettuce cultivation. **Revista Agrogeoambiental**, v. 12, n. 2, 2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 4. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2006, 719p.

TSAI, S. M.; ROSSETO, R. Transformações microbianas do fósforo. **SBCS Microbiologia do solo**. Campinas. p 231 - 242, 1992.

ZAIDI, A.; KHAN, M. S.; AHEMAD, M.; OVES, M. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**. Budapest. v. 56, n. 3, p. 263–284, 2009.