

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

**MAIARA DOS SANTOS SOUSA**

**INOCULAÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA  
CULTURA DA BETERRABA**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ  
2022**

**MAIARA DOS SANTOS SOUSA**

**INOCULAÇÃO DE MICROORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA  
CULTURA DA BETERRABA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia de Moraes Echer.

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ  
2022**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

dos Santos Sousa, Maiara

INOCULAÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA CULTURA DA BETERRABA / Maiara dos Santos Sousa; orientador Márcia de Moraes Echer. -- Marechal Cândido Rondon, 2022.  
53 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2022.

1. Agronomia. 2. Promotores de crescimento vegetal. 3. Cultura da beterraba. I. de Moraes Echer, Márcia, orient. II. Título.

**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.



## MAIARA DOS SANTOS SOUSA

Inoculação de microrganismos promotores de crescimento na cultura da beterraba

Dissertação apresentada à distância, de forma síncrona e por videoconferência, conforme Resolução nº 052/2020 – CEPE, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Sistemas de Produção Vegetal Sustentáveis, APROVADO pela seguinte banca examinadora:

Orientadora - Márcia de Moraes Echer

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Tatiane Ohland

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Daniel Fernandes da Silva

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Tiago Luan Hachmann

Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná)

Neumárcio Vilanova da Costa  
Coordenador Especial do Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Marechal Cândido Rondon, 7 de março de 2022

*A Deus.*

*Minha mãe Maria Lúcia Faustino dos Santos  
In memoriam a meu querido pai Antonio Pereira de  
Sousa*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus, por me proporcionar tantas alegrias e vitórias alcançadas nesta caminhada, por me manter com fé, força, perseverança e determinação por chegar até aqui;

À Universidade pelo ensino gratuito e de qualidade e ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, por serem excelentes profissionais, e pelo ensinamento repassado, à assistente de coordenação Sra. Leila Dirlene Allievi Werlang por todo apoio e contribuição, pela gentileza, simpatia e prontidão, aos técnicos de laboratório que não mediram esforços para atender e ajudar no que foi possível, as meninas da limpeza, aos guardas e aos trabalhadores de campo da Universidade.

À CAPES, pelo suporte intelectual e apoio financeiro.

Agradeço a orientadora Prof. Dra. Márcia de Moraes Echer, mulher íntegra de grande sabedoria, pela disponibilidade, ensinamentos, incentivos, conselhos, paciência e compreensão mediante as limitações e ajuda para a construção deste trabalho. Gratidão.

Agradeço grupo de estudo em hortaliças (GEH), em especial à Fabiana Tonin e sua irmã e Letícia Cunha por toda ajuda na implantação do experimento e demais colegas.

À minha família pelo apoio, em especial a minha mãe Maria Lúcia Faustino dos Santos e in memoriam a meu querido pai Antonio Pereira de Sousa pelo amor incondicional, ensinamentos transferidos, por acreditarem no meu esforço, por serem o pilar e razão pela qual me levanto e luto todos os dias, e aos demais componentes familiares (irmãos e sobrinhas que fizeram meus dias se tornarem menos estressantes e tristes, me trazendo alegrias que me proporcionaram altas gargalhadas);

Enfim, sou grata à todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Obrigada!

**Muito Obrigada!**

As grandes oportunidades não são vistas com os olhos. São vistas com a mente.

Pai Rico Pai pobre

## RESUMO

SOUSA, Maiara dos Santos. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Fevereiro — 2022. **Inoculação de microrganismos promotores de crescimento na cultura da beterraba.** Orientador: Márcia de Moraes Echer.

O uso dos microrganismos promotores de crescimento apresenta-se como uma alternativa sustentável à produção agrícola para o aumento da produtividade de diversas culturas. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi estudar os efeitos da aplicação de diferentes insumos biológicos, nas características agrônômicas na cultura da beterraba (*Beta vulgaris* L.), inoculada via semente. O experimento foi conduzido no Centro de Controle Biológico e Cultivo Protegido Prof. Dr. Mário César Lopes, pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais do Centro de Ciências Agrárias da UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, PR, no período de junho a setembro de 2021. O experimento foi conduzido em delineamento experimental em blocos ao acaso com oito tratamentos e quatro repetições, com parcelas constituídas de três plantas. A cultivar estudada foi a Tall Top Early Wonder. Os tratamentos utilizados foram T1 = *Bacillus megaterium* (cepa BRM-119) + *Bacillus subtilis* (cepa BRM-2084); T2 = *Bacillus subtilis* + *Bacillus megaterium* + *Bacillus thuringiensis* (cepa BRM-116); T3 = *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 + AbV6); T4 = *Azospirillum brasilense* (cepa HM0-53); T5 = *Azospirillum brasilense* (cepa HM-210); T6 = *Pseudomonas fluorescens* (cepa ATCC-13525) e T7 = *Thichorderma harzianum* – (cepa CCT-7589) e T8 = testemunha. Avaliou-se altura de plantas, índice SPAD, diâmetro da raiz tuberosa, comprimento da raiz tuberosa, presença de anéis, índice de formato da raiz, massa fresca da raiz tuberosa, massa seca da raiz tuberosa, número de folhas, área foliar, massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea, teor de antocianinas e carotenoides. A altura da planta e o índice SPAD foram avaliadas aos 60 e 85 DAS e as demais avaliações foram realizadas no final do ciclo aos 85 DAS. A inoculação de sementes de beterraba com *A. brasilense* (cepa HM-210) proporcionou incremento na altura de planta, índice SPAD, diâmetro da raiz, comprimento da raiz, massa fresca da raiz tuberosa. A maior massa fresca de raiz tuberosa foi constatada no tratamento com *A. brasilense* (cepa HM-210) com massa média de 321,63 g, não diferindo dos tratamentos com *A. brasilenses* (cepas AbV5 + AbV6) (279 g) e *T. harzianum* obtendo como resultados



(285,65 g). Beterrabas inoculadas com *P. fluorescens* apresentaram maior massa seca de raiz (44,41 g), porém não se diferiram das inoculadas com *A. Brasilenses*. A massa fresca da parte aérea apresentou diferença entre os tratamentos promovendo incremento aqueles em que as sementes foram inoculadas com *B. megaterium* (cepa BRM-119) + *B. subtilis* (cepa BRM-2084) e *P. fluorescens* (cepa ATCC-13525), apenas se diferindo do tratamento *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringienses* (cepa BRM-116). O maior teor de antocianina (45,56 mg 100 g<sup>-1</sup>) foi verificado na inoculação *B. megaterium* + *B. subtilis*, se diferindo dos tratamentos inoculados com *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringienses* (cepa BRM-116), *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 + AbV6), *A. brasilense* (cepa HM0-53) e *A. brasilense* (cepa HM-210). A inoculação de *A. brasilense* (cepa HM-210) via semente na cultura da beterraba possibilita uma maior massa fresca da raiz antes do fim do ciclo da cultura, dessa forma, este microrganismo pode ser usado para antecipar a colheita do tubérculo.

Palavras-chave: Promotores de crescimento. Alternativa sustentável. *Beta vulgaris*.

## ABSTRACT

SOUSA, Maiara dos Santos. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, February – 2022. **Inoculation of microorganisms that promote growth in the beet crop.** Advisor: Márcia de Moraes Echer.

The use of growth-promoting microorganisms is presented as a sustainable alternative to agricultural production to increase the productivity of several crops. In this context, the objective of the present work was to study the effects of the application of different biological inputs, in the agronomic characteristics in the culture of beet (*Beta vulgaris* L.), inoculated via seed. The experiment was conducted at the Center for Biological Control and Protected Cultivation Prof. Dr. Mário César Lopes, belonging to the Experimental Stations Nucleus of the Agricultural Sciences Center of UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, PR, from June to September 2021. The experiment was carried out in a randomized block design with eight treatments and four replications. , with plots consisting of three plants. The cultivar studied was Tall Top Early Wonder. The treatments used were T1 = *Bacillus megaterium* (strain BRM-119) + *Bacillus subtilis* (strain BRM-2084); T2 = *Bacillus subtilis* + *Bacillus megaterium* + *Bacillus thuringiensis* (strain BRM-116); T3 = *Azospirillum brasilense* (AbV5 + AbV6 strains); T4 = *Azospirillum brasilense* (strain HM0-53); T5 = *Azospirillum brasilense* (strain HM-210); T6 = *Pseudomonas fluorescens* (strain ATCC-13525) and T7 = *Thichorderma harzianum* – (strain CCT-7589) and T8 = control. Plant height, SPAD index, tuberous root diameter, tuberous root length, presence of rings, root shape index, tuberous root fresh mass, tuberous root dry mass, number of leaves, leaf area, shoot fresh mass, shoot dry mass , anthocyanin and carotenoid content. Plant height and SPAD index were evaluated at 60 and 85 DAS and the other evaluations were performed at the end of the cycle at 85 DAS. Inoculation of beet seeds with *A. brasilense* (strain HM-210) provided an increase in plant height, SPAD index, root diameter, root length, tuberous root fresh mass. The highest fresh mass of tuberous root was observed in the treatment with *A. brasilense* (strain HM-210) with an average mass of 321.63 g, not differing from the treatments with *A. brasilenses* (strains AbV5 + AbV6) (279 g) and *T harzianum* obtaining as results (285.65 g). Beetroot inoculated with *P fluorensces* had higher root dry mass (44.41 g), however they did not differ from those inoculated with *A.*

Brasilenses. The fresh mass of the aerial part showed a difference between the treatments, promoting an increase in those in which the seeds were inoculated with *B. megaterium* (strain BRM-119) + *B. subtilis* (strain BRM-2084) and *P. fluorescens* (strain ATCC-13525) , differing only from the treatment *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringiensis* (strain BRM-116). The highest anthocyanin content (45.56 mg 100 g<sup>-1</sup>) was observed in the inoculation of *B. megaterium* + *B. subtilis*, differing from the treatments inoculated with *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringiensis* (strain BRM-116) , *Azospirillum brasilense* (strains AbV5 + AbV6), *A. brasilense* (strain HM0-53) and *A. brasilense* (strain HM-210). The inoculation of *A. brasilense* (strain HM-210) via seed in the beet crop allows a greater fresh mass of the root before the end of the crop cycle, in this way, this microorganism can be used to anticipate the harvest of the tuber.

Keywords: Growth promoters. Sustainable alternative. *Beta vulgaris*.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Descrição dos tratamentos avaliados no experimento e suas respectivas dosagens.....17
- Tabela 2.** Altura de planta (AP) e índice de SPAD aos 60 e 85 DAS na cultura da beterraba em função dos microrganismos promotores de crescimento. UNIOESTE-Marechal Cândido Rondon/PR -2021.....20
- Tabela 3.** Diâmetro e comprimento da raiz (DR e CR), Anéis (Presença ou ausência), índice de formato da raiz (IFR), massa fresca da raiz tuberosa (MFRT) e seca da raiz tuberosa (MSDRT) da beterraba, em função dos microrganismos promotores de crescimento. UNIOESTE - Marechal Cândido Rondon/PR, 2021.....22
- Tabela 4.** Número de folhas (NF), área foliar (AF), massa fresca parte aérea (MFPA) e massa seca parte área (MSPA) da beterraba, em função dos microrganismos promotores de crescimento. UNIOESTE - Marechal Cândido Rondon/PR, 2021.....25
- Tabela 5.** Teores de antocianina ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ ) e carotenoides ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ ) em beterraba submetidos a diferentes tratamentos com inoculantes. UNIOESTE - Marechal Cândido Rondon/PR – 2021.....27

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
2.1 CULTURA DA BETERRABA .....	3
2.2 MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM PLANTAS.....	4
2.2.1 <i>Azospirillum</i> .....	6
2.2.2 <i>Bacillus</i> .....	8
2.2.3 <i>Pseudomonas</i> .....	9
2.2.4 <i>Trichoderma</i> .....	11
2.3 PRODUÇÃO DE FITORMÔNIOS .....	13
2.4 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN).....	15
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	16
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	20
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	29
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	30

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura beterraba (*Beta vulgaris* L.) desempenha um papel fundamental dentre as hortaliças nos sistema de produção brasileiro. Segundo o Censo Agropecuário (IBGE, 2020) existiam 24.870 estabelecimentos agrícolas que produziram 134.469 toneladas de beterraba em 2017 no país. Os estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Bahia e Goiás totalizam juntos mais de 80 % da produção brasileira.

É uma hortaliça bianual onde ocorre o engrossamento do hipocótilo na primeira fase do ciclo e, posteriormente, em condições climáticas adequadas, o florescimento e formação de sementes. A propagação pode ser feita pela semeadura direta ou por meio de mudas. Quando propagada por mudas o sistema radicular deve estar bem desenvolvido o que confere qualidade a mesma (FILGUEIRA, 2013). A produção de mudas em bandejas proporciona resultados positivos, como mudas mais uniformes, maior número de plantas por área, além de melhor controle fitossanitário (GOMES, 2008).

A produtividade varia com o sistema de cultivo e condições climáticas, girando em torno de 30 toneladas por hectare (TIVELLI et al., 2011). No Paraná, a produção chegou a 89.897 toneladas em 2018, ocupando 3.294 hectares (DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL, 2019). Suas raízes tuberosas possuem propriedades nutraceuticas, com diversos benefícios associados ao seu consumo (FILGUEIRA, 2013).

Visando a produtividade da cultura da beterraba, deve-se estimular o desenvolvimento do sistema radicular (FILGUEIRA, 2013; SIMÕES et al., 2016). Este fator está ligado diretamente ao estabelecimento adequado da cultura, podendo ser propagada diretamente via sementes ou por mudas (FILGUEIRA, 2013). Neste contexto, estudos dão enfoque à diferentes sistemas de estabelecimento (GUIMARÃES, et al., 2002), manejos (COUTINHO, 2016), adubação (MARQUES et al., 2010; BARRETO et al., 2013) e aplicação de fitoreguladores (SANDRI et al., 2012).

Novas tecnologias vêm sendo incrementadas para a produção agrícola. Um exemplo disso são os bioestimulantes (ARAUJO et al., 2016). Os bioestimulantes são definidos como substâncias naturais ou sintéticas, oriundos da mistura de dois ou mais biorreguladores vegetais ou destes com outras substâncias (aminoácidos,

nutrientes e vitaminas), que podem ser aplicados diretamente nas plantas ou em tratamento de sementes (KLAHOLD et al., 2006).

Segundo Calvo et al. (2014) a utilização de produtos como bioestimulantes podem atuar de forma positiva na formação do sistema radicular de forma que haja uma melhor produção de mudas, além de aumentar a resistência a stresses bióticos e abióticos, sendo seus efeitos associados a presença de hormônios de crescimento vegetal. Os bioestimulantes podem ser uma alternativa para agricultores devido ao seu suporte economicamente viável.

A utilização de bioestimulante tem sido realizada em diversas culturas. Sua preparação é feita a partir da fermentação anaeróbica, em estado líquido da matéria orgânica ou vegetal, a qual será submetida por processos anaeróbicos ou aeróbicos, dependendo do composto utilizado, resultando em uma comunidade microbiana (BERNARDO; BETTIOL 2010).

Entre os manejos empregados à cultura, buscam-se técnicas pouco agressivas ao meio ambiente, que possibilitem uma menor dependência de agroquímicos e com baixo custo. Neste sentido, tem-se visado a utilização de agentes biológicos, que beneficiem as culturas em detrimento de pragas e fitopatógenos e/ou que estimulem o desenvolvimento vegetal. Entre esses agentes, as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) têm efeitos conhecidamente benéficos em diversas culturas, como soja, milho, trigo (HUNGRIA, 2011), alface (LIMA et al., 2017). No entanto, são raros os trabalhos utilizando esta prática para beterraba.

Em hortaliças, a inoculação de *A. brasilense* em sementes na cultura da alface, promoveu aumento significativo na germinação e no desenvolvimento radicular (LIMA et al., 2017). Mrkovacki et al. (1997) que estudaram a associação entre bactérias fixadoras de nitrogênio e beterraba açucareira (*B. vulgaris* var. *altíssima*), observando especificidade destes microrganismos com os híbridos testados, estes autores obtiveram um efeito positivo para as variáveis de área foliar e crescimento da planta com a utilização de bactérias promotoras de crescimento. No Egito, resultados concisos são apresentados por Kandil et al. (2004), que com aplicação de rizobactérias, espécie esta não citada no trabalho, obtiveram efeitos positivos nas taxas de assimilação líquida, crescimento relativo, índice de área foliar de beterraba açucareira.

Assim, a utilização de microrganismos promotores de crescimento apresenta-se como uma alternativa sustentável à produção agrícola. Porém ainda são escassos trabalhos envolvendo microrganismos dos mais diferentes gêneros no cultivo de beterraba. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito de diferentes microrganismos nas características agrônômicas da beterraba.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 CULTURA DA BETERRABA**

A espécie *Beta vulgaris* é pertencente à família Quenopodiaceae. Originária de regiões européias e norte-africanas de clima temperado. A planta é bienal, cuja parte comestível é uma raiz tuberosa de formato globular, arredondada e alongados de sabor acentuadamente doce, mesmo na beterraba olerácea (FILGUEIRA, 2000). Em sua raiz tuberosa a cor vermelho-arroxeadada é devido à presença de betalaínas as quais são ótimos antioxidante. Além de possuir substâncias químicas importantes, a beterraba vem se destacando entre as hortaliças, pelo seu conteúdo em vitaminas do complexo B e os nutrientes potássio, sódio, ferro, cobre e zinco (TIVELLI et al., 2011).

A beterraba é uma importante espécie de hortaliça, que apresenta as raízes como o mais importante produto comercial. No Brasil, seu cultivo intensificou-se grandemente com a imigração europeia e asiática, sendo cultivadas exclusivamente variedades de mesa, mesmo assim, em pequena escala comercial, quando se compara com tomate, cebola, alho e outras hortaliças mais tradicionais. Existe um aumento crescente na procura por esta hortaliça, tanto para utilização nas indústrias de conservas e alimentos infantis, como para consumo in natura (TIVELLI et al., 2011).

Caracteriza-se pelo melhor desenvolvimento em solos de textura média, ricos em matéria orgânica, com pH variando de 6,0-6,8 e com boa exigência nutricional. Na fase vegetativa há o desenvolvimento de folhas alongadas, que crescem aos pares, do centro do diminuto caule. O sistema radicular é do tipo pivotante, com alcance de 60 cm da raiz principal e com poucas ramificações laterais. O ciclo varia de 65 dias no verão até 100 dias no inverno, dependendo da cultivar e do modo de plantio (TIVELLI et al., 2011).



Segundo Jarek (2015) a beterraba não apresenta grandes problemas fitossanitários, sendo os mais comuns à mancha da folha ou cercosporiose (*Cercospora beticola*), doença que atinge a parte aérea, sendo prejudicial quando comercializada as raízes tuberosa com as folhas (FILGUEIRA, 2000).

Muitas tecnologias vêm sendo implementadas na produção de hortaliças como o uso de bioestimulantes como no caso do método de inoculação. Monteiro et al. (2019) em seu estudo sobre efeito do número de aplicação e concentrações de bioestimulante na cultura da beterraba constatou que o aumento no número de aplicações de bioestimulante durante o desenvolvimento da cultura contribuiu na melhora das características vegetativas da planta e conseqüentemente na produção da cultura. O autor ainda ressalta em seu estudo que a produção total sofreu influência nas aplicações das diferentes concentrações de bioestimulante, onde os tratamentos que receberam três aplicações foram superiores se comparados aos que receberam apenas duas aplicações.

## 2.2 MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM PLANTAS

Segundo dados apresentados pela FAO (2020), a população mundial estimada para 2050 será em torno de 9,7 bilhões de pessoas, o que significa aumento de mais de 2 bilhões de seres humanos quando comparado à população atual que está em torno de 7,7 bilhões. Junto a esse crescimento, a demanda por alimentos deve aumentar expressivamente, sendo necessário produzir cerca de 3,2 milhões de toneladas a mais que a produção atual para suprir a demanda da população.

Devido à explosão populacional e a busca acelerada pela produção de alimentos, o uso de insumos químicos, defensivos e fertilizantes tornaram-se as práticas mais utilizadas para elevar a produção agrícola. Entretanto, muitos malefícios vêm sendo causados, como a poluição do solo e da água, a degradação do solo e as mudanças climáticas, afetando diretamente toda a cadeia produtiva (VANDENBERGHE et al., 2017).

Nas últimas décadas, algumas alternativas foram discutidas a fim de amenizar os efeitos de produtos que degradem diretamente o ambiente como a introdução de insumos à base de microrganismos, como bioprotetores, bio controladores, biofertilizantes ou bioestimulantes (REBAH et al., 2007).

O uso desses insumos trouxe benefícios, desde a promoção do crescimento vegetal, a melhoria na nutrição de plantas, o controle de doenças de plantas, a resistência aos estresses ambientais, além da melhoria na qualidade biológica do solo (GARCIA; KNAAK; FIUZA, 2015).

A promoção do crescimento vegetal advinda do uso de insumos biológicos está diretamente relacionada à produção e à exsudação de fitormônios, como as auxinas, que ao interagirem com as plantas são capazes de promover o crescimento e o alongamento celular, refletindo em crescimento do sistema radicular e da parte aérea da planta (SILVA et al., 2018).

A melhoria do estado nutricional das culturas está associada à capacidade desses microrganismos em solubilizar nutrientes do solo, como fosfatos e micronutrientes, além de fixar nitrogênio atmosférico. Para realizar tais atividades, esses microrganismos utilizam o seu aparato bioquímico e fisiológico para produzir e liberar ácidos orgânicos e enzimas, sendo capazes de reduzir o pH do meio, deixando os nutrientes nas formas assimiláveis às plantas. São também capazes de transformar o nitrogênio atmosférico em amônio, forma essa prontamente assimilável (RIBAS et al., 2016; SILVA et al., 2018) pelas plantas. Esses e outros fatores tendem a melhorar o estado nutricional das culturas, favorecendo o crescimento e o desenvolvimento vegetal.

Os benefícios causados pelas 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). As RPCPs mais conhecidas são as do gênero *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Rhizobium* as quais, apresentam, como principais características, capacidade de fixação biológica de N, aumento da atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas e produção de hormônios promotores de crescimento (XIA et al., 2015).

Outro benefício bastante conhecido oriundo do uso de microrganismos é o controle de doenças de plantas. Os mecanismos que ajudam a explicar é o processo de antibiose, no qual são produzidos metabólitos, como os fungicidas, os antibióticos e os nematicidas, sendo estes capazes de degradar a membrana celular do patógeno, causando sua morte (FERREIRA, 2019). Além desses, há o parasitismo, o processo de competição, a predação e a indução de resistência (WU et al., 2015; FERREIRA, 2019).

### 2.2.1 *Azospirillum*

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), são microrganismos de vida livre encontrado em quase todos os lugares da terra; há relatos, também, de que as bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas (HUERGO et al., 2008).

As bactérias desse gênero são comercializados na forma líquida e turfosa, sendo constituídos pelas estirpes AbV5 e/ou AbV6 (HUNGRIA et al., 2010). Sua aplicação é realizada normalmente na forma de inoculação de sementes. Porém, são também aplicadas nas folhas e diretamente no solo ou outro substrato por ocasião da semeadura (HUNGRIA, 2011; PORTUGAL et al., 2013).

Na literatura existem vários trabalhos confirmando que *Azospirillum* produz fitormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas. Tien et al. (1979), em seu trabalho verificaram que os componentes responsáveis pelo estímulo do crescimento de raízes liberados por *A. brasilense* eram os fitormônios.

O maior desenvolvimento das raízes pela inoculação com *Azospirillum* pode implicar em vários outros efeitos. Já foram relatados incrementos na absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (BASHAN et al., 2006). 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).

Em uma revisão de trabalhos sobre as respostas fisiológicas induzidas por *Azospirillum*, Barassi et al. (2008) relatam a melhoria nos 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 incremento em vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofila a, b, e pigmentos fotoprotetivos auxiliares, como violaxantina, zeaxantina, aeroxantina, luteína, neoxantina e beta-caroteno, que resultariam em plantas mais verdes e sem estresse hídrico.

Dentro do grupo deste gênero ganha destaque *A. brasilense* que, de acordo com Melegari (2016), são bactérias associativas promotoras de crescimento de plantas que têm se mostrado uma das alternativas mais promissoras para melhoria

da qualidade física, química e biológica do solo. Quando feito o manejo correto, esta alternativa pode resultar em maior produtividade e qualidade do produto, além de diminuir os custos de produção. Lima et al. (2012) observaram em seu estudo que nos tratamentos inoculados com algumas bactérias, valores mais elevados de massa de parte aérea foram apresentados em relação aos investigados no tratamento nitrogenado.

Uma das alternativas para o fornecimento de nitrogênio as plantas é a utilização de inoculantes à base de bactérias, principalmente do gênero *Azospirillum* (MILLÉO; CRISTÓFOLI, 2016). Segundo Fukami et al. (2016), dentre as bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum*, a de maior potencial é *A. brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6, que pode gerar diversos estímulos para o crescimento das plantas, destacando-se a produção de hormônios, como auxinas, e estimulando o enraizamento.

O interesse por bactérias desta espécie tem crescido entre os pesquisadores da área de microbiologia agrícola como, também por produtores que utilizam produtos biológicos à base de *A. brasilense* inoculados nas sementes de várias espécies vegetais.

A bactéria *A. brasilense* possui uma série de benefícios, dentre eles: influenciam significativamente na capacidade de fixação biológica de nitrogênio; elevam a atividade do nitrato redutase, quando cultivada endofiticamente nas plantas; promovem produção de hormônios como auxinas (favorece o desenvolvimento radicular), giberelinas; auxiliam na solubilidade do fosfato; favorecem associações micorriza-plantas benéficas e podem agir indiretamente sobre o crescimento fungos do solo ou bactérias fitopatogênicos, protegendo a planta (HUNGRIA, 2011).

Bulegon et al. (2017), afirmaram que o uso da inoculação com *A. brasilense* é bastante estudado no Brasil em culturas anuais voltadas diretamente à produção de grãos, principalmente as gramíneas, como o milho, trigo, arroz e cana-de-açúcar, e mais recentemente em algumas leguminosas como a cultura da soja. Nestas culturas, os resultados são satisfatórios, elevando várias características biométricas e, principalmente, a produtividade de grãos. Em contrapartida existem poucos estudos em hortaliças.

### 2.2.2 *Bacillus*

O gênero *Bacillus* tem se destacado entre os microrganismos promotores de crescimento de plantas, composto por, aproximadamente, 360 espécies que apresentam características metabólicas, fenotípicas e fisiológicas distintas. Espécies desse gênero têm sido relatadas com potenciais de promotoras de crescimento de plantas em razão das características multifuncionais como a solubilização de fosfato (BAHADIR et al., 2018), fitormônios e pela produção de ácido indol-acético (AIA) (MOHITE, 2013), a produção de sideróforos-quelantes específicos de íons ferro (BJELIĆ et al., 2018).

Além disso, inoculantes contendo cepas de *Bacillus* são considerados mais estáveis no ambiente por causa da capacidade de formação de endósporos, permitindo adaptação a condições abióticas extremas, como temperaturas, pH ou exposição a pesticidas (BAHADIR et al., 2018). Entretanto, nem todas as cepas de *Bacillus* possuem as mesmas características. Com base em resultados de laboratório e de casa de vegetação, os selecionados cepas B119 (*Bacillus megaterium*) e B2084 (*Bacillus subtilis*), se demonstraram mais eficientes na solubilização e mineralização de fósforo e promoção de crescimento de plantas (OLIVEIRA et al., 2009, RIBEIRO et al., 2018) o que desde então foram recomendados para a produção de inoculantes industriais.

A bactéria *Bacillus subtilis* é habitante natural do solo, produz enzimas, e fitormônios que proporcionam benefícios para as plantas, é descrita como promotora de crescimento de plantas pode produzir os antibióticos bulbiformina, micosubtilina, bacilomicina, bacilizina e funginicina e podem inibir fitopatógenos (ARAÚJO, 2008).

O *B. subtilis* de acordo com alguns trabalhos favorece o aumento da solubilização de nutrientes, fixação de nitrogênio, síntese de fitormônios e melhoria das condições do solo. Manjula e Podile. (2005) avaliaram esta bactéria em sementes de feijão, e verificaram que a síntese de auxina, citocinina e giberelina levou a semente a uma rápida germinação, emergência e aumento (29 a 33%) do peso seco das plântulas. Além disso, Araujo (2008) mostra que sementes de algodão, milho e soja expostas à inoculação com *B. subtilis* tiveram incremento na emergência das plântulas.

Outro espécie dentro deste grupo é a *B. megaterium* que se caracteriza por atuar na solubilização do fósforo, apresentando mecanismos que auxiliam o

crescimento, como a solubilização de potássio, produção de fitormônios, enzimas, bioproteção contra patógenos, e por meio de mecanismos secundários, aumentando a absorção de outros nutrientes e água pelo estímulo ao sistema radicular (GUPTA et al., 2015; RIBEIRO et al., 2018).

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

### 2.2.3 *Pseudomonas*

As espécies do gênero *Pseudomonas* possuem forma de bacilos, gram-negativos, aeróbios e móveis, que pertencem à classe das gammaproteobacteria. Estas bactérias possuem baixa necessidade nutricional e sobrevivem em uma variedade de ambientes distintos, a exemplo de solo, água e no interior de animais e vegetais (GOMILA et al, 2015).

As *Pseudomonas* spp. são muito conhecidas na literatura como bactérias denominadas de promotoras de crescimento de plantas (BPCV), microrganismos com características de produzir substâncias benéficas que atuam em três vias para favorecer o desenvolvimento vegetal: na fitoestimulação, biofertilização e no biocontrole (DORJEY et al, 2017).

A produção de compostos como o fitormônios, antibióticos, sideróforos, enzimas e ácidos orgânicos, ajuda no desenvolvimento das plantas associadas, que em troca desses compostos, oferecem fotoassimilados para a nutrição bacteriana, o que contribui para promover o crescimento vegetal da espécie (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Outra característica das *Pseudomonas* é o biocontrole de fitopatógenos, estas bactérias que possuem um potencial de ação antimicrobiana onde conseguem mitigar o crescimento de fungos ou bactérias que causam doenças nas plantas (TIAN et al., 2017). A produção de sideróforos por estas bactérias pode favorecer o potencial inibitório de patógenos pelo antagonismo por ferro, mas também, são conhecidas pelo desencadeamento da indução sistêmica de resistência a patógenos (IRS), seja pela

liberação de lipossacarídeos, sideróforos ou por flagelos sensoriais (AGISHA et al., 2017).

O crescimento de plantas pode ser favorecido pela produção de fitormônios que estimulam a divisão e diferenciação celular, mas também, a solubilização de fosfatos inorgânicos por ácidos orgânicos liberados próximos ao sistema radicular das plantas, e a produção de sideróforos quelantes de ferro, podem ajudar a planta na nutrição de fósforo e ferro, nutrientes necessários para suprir as necessidades metabólicas dos vegetais e pouco móveis no solo (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Para a produção desse hormônio vegetal duas rotas biosintéticas podem ser utilizadas: as vias dependentes do triptofano como precursor [indol-3-acetamida (IAM), indol-3-pirúvico (AIP), triptamida (TAM), indol-3-acetonitrila (IAN)], e as vias não dependentes do aminoácido (indol-3-glicerol fosfato). Plantas e bactérias possuem um alto grau de similaridades em rotas biosintéticas do AIA, por exemplo, ambas plantas e bactérias produzem o AIA pela rota do ácido indol-3-pirúvico, no entanto, bactérias benéficas ao crescimento vegetal podem sintetizar auxina através de rotas alternativas dependentes e não dependentes de triptofano, utilizando mais de uma rota biosintética do AIA (PATTEN; GLICK, 2002; SPAEPEN et al, 2007).

A rota dependente de triptofano indol-3-acetamida (IAM), relatada em bactérias patogênicas de plantas, não é observada nos vegetais e pouco encontrada em promotoras do crescimento vegetal (PGPB), contudo, já foi característica em algumas bactérias benéficas importantes para plantas, inclusive bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* (KOCHAR et al., 2011). Nesta rota o triptofano é convertido para AIA em duas etapas com o auxílio de duas enzimas a triptofano-2-monooxigenase e a IAM hidrolase codificadas pelos genes *iaaM* e *iaaH*, respectivamente. Primeiramente o triptofano é convertido para IAM com o auxílio da triptofano-2-monooxigenase, depois transformado em AIA pela IAM hidrolase (DUCA et al, 2018).

Dentre as bactérias promotoras de crescimento vegetal, em especial as pertencentes ao grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas*, são muito estudadas. Segundo Cipriano et al. (2013), isolados de *Pseudomonas fluorescens* produzem metabólitos que beneficiam o crescimento de plantas de alface e têm potencial para controle biológico de *Pythium aphanidermatum* e promoção de crescimento de plantas de alface cultivadas em sistema hidropônico.

Estudos realizados com a inoculação do *P. fluorescens* mostraram que estas bactérias podem aumentar a disponibilidade de fósforo (P) às plantas, podendo proporcionar incrementos na produtividade das culturas (COSTA et al., 2012). Segundo Moreira et al. (2010), depois do nitrogênio, o fósforo é o elemento que mais limita o crescimento dos vegetais na maioria dos solos, o que torna importante o papel destas bactérias no sistema planta-solo.

Esta espécie é responsável pela produção de alguns compostos com propriedades antifúngicas capaz de interferir diretamente no fator patogenicidade de alguns fungos, além da produção de fitormônios e solubilização de fosfato (ISLAM et al., 2014).

#### 2.2.4 *Trichoderma*

O gênero *Trichoderma* compreende um grande número de fungos, classificados como Ascomycetos anamórficos, da ordem Hypocreales, família Hypocreacea e gênero *Hypocrea* (*Trichoderma*) (DRUZHININA; KUBICEK, 2005). São considerados fungos habitantes do solo, sendo encontrados em ampla faixa climática, podendo viver saprofiticamente ou endofiticamente (HARMAN et al., 2004). Já foram descritas 433 espécies (INDEX FUNGORUM, 2020), as quais apresentam rápida taxa de crescimento e boa capacidade de sobrevivência em condições ambientais adversas (AL-SADI et al., 2015).

O *Trichoderma* é um microrganismo filamentosos, cuja principal característica é a presença de estruturas vegetativas, o micélio, que apresenta alta taxa de crescimento. A sua coloração inicial é esbranquiçada e, posteriormente, torna-se esverdeada. A coloração pode sofrer influência de diversos fatores, tais como o pH, a luminosidade e o meio de cultivo. As suas estruturas reprodutivas são os conídios (esporos), que estão sustentados em conidióforos com fiálides (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são um dos mais estudados, apresentando diversos benefícios para a produção vegetal e para a indústria, sendo utilizados no controle biológico, como indutores do crescimento vegetal e como solubilizadores de minerais (BROTMAN; KAPUGANTI; VITERBO, 2010; SILVA et al., 2019).

Pesquisas com controle biológico têm revelado o potencial desse gênero como antagonista de fungos fitopatogênicos. Esse potencial é devido a fatores, tais quais, a alta capacidade reprodutiva, o que favorece o aumento da sua população; a



capacidade de sobrevivência em condições adversas; a utilização eficiente de elementos essenciais ao seu metabolismo bioquímico; a capacidade de aumentar a diversidade microbiana na rizosfera e, de incrementar o sistema de defesa das plantas (BENÍTEZ et al., 2004).

Outro benefício oriundo do uso de *Trichoderma* é a sua capacidade de promover o crescimento vegetal. É sabido que a interação microrganismo/planta é dinâmica e mediada por reações bioquímicas, sendo liberados compostos (metabólitos secundários) pelos fungos que são reconhecidos pelas plantas (HERMOSA et al., 2012). Dentre esses compostos liberados encontra-se o ácido indol-3-acético (AIA), cuja função é regular o desenvolvimento radicular e o crescimento das plantas (MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014).

O uso dos *Trichodermas* como promotores de crescimento de plantas para o aumento da produção agrícola tem se tornado uma das técnicas mais eficientes e importantes para a agricultura no mundo todo. Isso devido à busca para reduzir o uso de fertilizantes e de defensivos, além da necessidade de se desenvolver uma agricultura que implique em ínfimos impactos ao ambiente (MACHADO et al., 2012).

Além da utilização desses microrganismos na formulação de inoculantes ser uma alternativa eficiente para diminuir os riscos ao ambiente, contribui para o aumento da produção. Com isso, o produto se torna mais competitivo e diminui os custos na utilização de insumos pelos agricultores, como os fertilizantes e os defensivos (POMELA; RIBEIRO, 2009; MACHADOS et al., 2012).

Ainda sobre os benéficos do uso do *Trichoderma* pesquisas têm revelado o potencial de algumas linhagens desse gênero capazes de promover o crescimento e o desenvolvimento de vegetais. Essa capacidade está atrelada à produção de alguns metabólitos secundários pelos fungos, sendo os mais comuns o ácido indol-3-acético (MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014), as giberelinas (JAROSZUK-SCISEL et al., 2019) e a enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase (ACCD) (BROTMAN; KAPUGANTI; VITERBO, 2010).

Em seu trabalho Sofo et al. (2011), estudando *Trichoderma harzianum* na indução dos níveis de fitormônios em porta-enxertos de cerejeira (*Prunus cerasus* x *P. canescens*), verificaram que as plantas inoculadas com a cepa tiveram aumento em torno de 76% no comprimento médio da raiz e, 65% na altura da planta na fase de enraizamento do porta-enxerto. Foi constatado pelos mesmos autores aumento de

49% e 40% nos teores de AIA nas folhas e nas raízes, respectivamente, das plantas inoculadas com a cepa.

Outro metabólito produzido por cepas do gênero *Trichoderma* é a 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase (ACCD), capaz de neutralizar a atividade do aminociclopropano-1-carboxilato (ACC), precursor na síntese do fitormônio etileno. O etileno é um importante sinalizador, indicando quando as plantas estão sob ataque de patógenos ou sob estresses bióticos ou abióticos. Quando as plantas são inoculadas com cepas capazes de sintetizar o ACCD, este neutraliza o ACC, provocando redução na produção de etileno, culminando em maior crescimento das raízes e em menor inibição no desenvolvimento das plantas (TODOROVIC; GLICK, 2008).

Bader et al. (2020), estudando cepas nativas de *Trichoderma harzianum* na promoção do crescimento e no controle da murcha no tomate (*Solanum lycopersicum*), verificaram que as quatro cepas estudadas foram capazes de solubilizar fosfato de cálcio in vitro. Já in vivo, as cepas também foram eficientes em promover o crescimento do tomateiro. Gravel, Antoun e Tweddell (2007) sugeriram que a solubilização de fosfato realizada por microrganismos envolve a liberação de ácidos orgânicos ou a exsudação de enzimas do tipo fosfatase.

### 2.3 PRODUÇÃO DE FITORMÔNIOS

Dentre inúmeros efeitos benéficos proporcionados pelos microrganismos promotores de crescimento às plantas é importante destacar que não somente devido à FBN (CAVALLET et al., 2000), mas também a produção de fitormônios como a auxina, citocininas, giberelinas, etileno, aumento da atividade da nitrato redutase e controle biológico de fitopatogenos (BASHAN; BASHAN, 2010) são considerados como um conjunto de mecanismos, fornecidos por essas bactérias, que estimulam o crescimento e desenvolvimento vegetal.

Essa associação microrganismo-planta beneficia o crescimento vegetal, através do aumento da produção de auxina também conhecido como ácido indol-3-acético (AIA), que gera um aumento no crescimento radicular, podendo contribuir para a formação de raízes laterais e pelos radiculares. Com o crescimento das raízes, estas se tornam mais eficientes em absorver água e nutrientes e com isso promovem uma melhoria mútua entre os organismos associados, podendo ser um efeito protetor

que leva ao aumento da capacidade de sobrevivência (DIMPKA; WEIMAND; ASCH, 2009).

Este fitormônio funciona como uma chave reguladora para muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento de plantas incluindo a divisão, extensão e diferenciação celular da planta; estimula a germinação de sementes e tubérculos; aumenta a taxa de desenvolvimento do xilema e da raiz; inicia formação radicular lateral e adventícia; média respostas à luz, gravidade e florescimento; afeta a fotossíntese, a formação de pigmentos, a biossíntese de vários metabólitos e a resistência a condições estressantes (SPAEPEN; VANDERLEYDEN, 2011).

As giberelinas por sua vez são outros fitormônios que desempenham papel importante no crescimento do caule, altura de planta, floração, desenvolvimento de frutos, e germinação de sementes. Este está presente nas folhas mais novas, nas raízes e nas sementes quando iniciam seu processo de germinação (LAVAGNINI, 2014).

Envolvido no desenvolvimento de raiz e parte aérea o etileno é o hormônio que participa na maturação e senescência de frutos, abscisão de folhas, quebra de dormência entre outros processos de desenvolvimento da planta. Sua produção ocorre em resposta a estresses bióticos e abióticos. Por ser um gás esse hormônio não se desloca através de vasos condutores e sim por difusão através dos espaços entre as células do tecido vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2017).

A citocinina é produzida por embriões, frutos e nas raízes, seu transporte através da planta ocorre através do xilema. Juntamente com a auxina esse hormônio age na divisão celular e no controle da dominância apical (MAGALHÃES, 2021).

Estudos relatam que muitos gêneros como *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Pantoea* e *Streptomyces* são relatados como produtores de hormônios (IMADA et al., 2017; MARAG; SUMAN, 2018). Em relações simbióticas com plantas, os exsudados radiculares ajudam a nutrição dos microrganismos enquanto os vegetais se beneficiam capturando AIA produzido por estas bactérias (DUCA et al, 2014).

Segundo Santi et al., (2013) a *A. brasilense* favorece o crescimento vegetal, através da síntese de auxinas. Exercendo grande importância para o desenvolvimento dos vegetais por meio da produção de diversos compostos, como o AIA, que é uma auxina (FLORENTINO et al., 2017). Onde o AIA age na regulação do crescimento vegetal, podendo ser sintetizado em tecidos vegetais que apresentam alta taxa de

crescimento, como nos meristemas apicais, folhas jovens, frutos e sementes em desenvolvimento (TAIZ; ZEIGER, 2009). Por esse motivo a produção de AIA tem sido amplamente explorada pela pesquisa (MOREIRA et al., 2010; CASSAN; VANDERLEYDEN; SPAEPEN, 2014).

#### 2.4 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN)

O N é um dos nutrientes mais requeridos a produção agrícola nas regiões tropicais e as principais fontes pelas quais as plantas podem obtê-los são a matéria orgânica do solo, os fertilizantes nitrogenados ou FBN. A FBN, que é o principal processo em que o N entra nos ecossistemas naturais, possui um elevado custo energético de maneira que a maioria dos ecossistemas são limitados ou colimitados pela disponibilidade desse nutriente (CHAPIN III et al. 2011).

A fixação biológica do nitrogênio é realizada por determinados procariontes, denominados organismos fixadores de nitrogênio, que possuem a enzima nitrogenase. Os organismos fixadores podem ser de vida livre ou viver em associações. A fixação de nitrogênio efetuada pelos organismos de vida livre está estimada em menos de 5 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. Nesse grupo encontram-se bactérias autotróficas e heterotróficas, as quais distinguem-se quanto à eficiência do processo de fixação (FREITAS; RODRIGUES, 2010).

Segundo Mendes (2010) alguns microrganismos influenciam em processos e contribuem para o desenvolvimento vegetal. Estes microrganismos possuem a capacidade de fixar o nitrogênio da atmosfera para posteriormente ser utilizado pelas plantas, estes são denominados de bactérias diazotróficas. Essa capacidade de fixar o nitrogênio é chamado de fixação biológica de nitrogênio (FBN) (MENDES; REIS; CUNHA, 2010).

Ao longo de sua evolução biológica algumas plantas desenvolveram adaptações para ter acesso ao N de outra fonte além do solo, formando associações com microrganismos capazes de transformar o N<sub>2</sub> atmosférico em NH<sub>3</sub> (BOTTOMLEY; MYROLD, 2015). Adicionalmente, alguns microrganismos do solo são capazes de regular processos importantes para a transformação do N em formas utilizáveis pelas plantas (ROBERTSON; GROFFMAN, 2015).

Esses microrganismos possuem um complexo enzimático redox-ativo chamado de nitrogenase que hidrolisa 16 moléculas de ATP e transfere 8 e por molécula de N<sub>2</sub> fixado, um processo que requer grande gasto energético. A nitrogenase é subdividida

em duas subunidades:  $\alpha_2\beta_2$  dinitrogenase e dinitrogenase redutase. A primeira apresenta um sítio ativo composto por Mo, Fe e S (MoFe7S9) chamada de Fe-Mo-cofator. Os genes que codificam essas nitrogenases nos microrganismos diazotróficos são chamados de genes Nif, porém em alguns casos, certos microrganismo produzem nitrogenases alternativas que apresentam o V ou Fe no lugar do Mo, e os genes que codificam essas nitrogenases são Vnf e Anf. O gene nifH codifica a nitrogenase reductase presente em todas as bactérias capazes de fixar nitrogênio, não apenas em rizóbios (PÉREZ-YÉPEZ et al., 2014).

As nitrogenases que apresentam molibdênio são mais eficientes na redução do  $N_2$  atmosférico, seguida pela enzima que apresenta V, e a menos eficiente é a que possui o Fe. Alguns fatores podem inibir a atividade da nitrogenase como disponibilidade energética da célula, idade fisiológica, presença de alguns aminoácidos essenciais, disponibilidade de  $O_2$ , quantidade excessiva de N na forma de amônio ( $NH_4^+$ ) no solo (SOUZA; FERNANDES, 2006).

A importância e a necessidade do nitrogênio para as plantas estão fundamentadas pelo fato desse nutriente ser um dos componentes principais de moléculas vitais como ácidos nucléicos, proteínas, enzimas importantes nas vias metabólicas (OKUMURA et. al., 2011) e, da molécula de clorofila, a qual é responsável pela fotossíntese, cuja produção de fotoassimilados é de fundamental importância para a manutenção e desenvolvimento celular (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Nesse sentido, surge a necessidade de se incorporar, à atividade agrícola, novas tecnologias que visem à racionalização do uso de fertilizantes nitrogenados (DARTORA et al., 2013). Planos estratégicos como o de Agricultura de Baixo Carbono, que contempla a FBN por bactérias promotoras de crescimento em um dos seus programas (Plano setorial de mitigação e de adaptação às mudanças climáticas para a consolidação de uma economia de baixa emissão de carbono na agricultura, 2012), assim como, a realização de mais estudos envolvendo a FBN, bactérias diazotróficas e culturas de interesse econômico, são importantes para o desenvolvimento, no Brasil, de uma agricultura de menor impacto e mais sustentável (GÍRIO et.al., 2015).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi desenvolvido nas dependências do Centro de Controle

Biológico e Cultivo Protegido Prof. Dr. Mário César Lopes, pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais do Centro de Ciências Agrárias da UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, PR, no período de junho a setembro de 2021. Segundo a classificação climática de Köppen, o clima da região é o mesotérmico subtropical úmido (Cfa), com verões quentes, com temperaturas médias acima de 22°C e invernos com temperaturas médias e inferiores a 18°C. A precipitação média anual é de 1600 a 1800 milímetros (ALVARES et al., 2014). No período do experimento a temperatura média da região variou entre mínimas de 14°C e máximas de 30,5°C (INMET, 2021).

O local de instalação no experimento se caracteriza por ser uma estrutura de ferro galvanizado, de dimensões 7 x 30 m e 3,5 m de pé direito, com teto em forma de arco revestido com filme de polietileno de baixa densidade (150 µ de espessura) e laterais protegidas com tela branca de 40% de sombreamento, sem tela antiafídeo.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 8 (oito) tratamentos representados pelos microrganismos testados e quatro repetições, totalizando 32 parcelas. Cada parcela foi constituída de três plantas, totalizando 96 plantas no total. Na Tabela 1, estão apresentados os tratamentos e os microrganismos inoculantes que fizeram parte do experimento e suas respectivas dosagens.

**Tabela 1.** Descrição dos tratamentos avaliados no experimento e suas respectivas dosagens.

Tratamento	Produto	Dosagem (mL ha <sup>-1</sup> )
1	<i>Bacillus megaterium</i> (cepa BRM-119) + <i>B. subtilis</i> (cepa BRM-2084)	100
2	<i>B. subtilis</i> + <i>B. megaterium</i> + <i>B. thuringiensis</i> (cepa BRM-116)	100
3	<i>Azospirillum brasilense</i> (cepas AbV5 + AbV6)	100
4	<i>A. brasilense</i> (cepa HM0-53)	100

5	<i>A. brasilense</i> (cepa HM-210)	100
6	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (cepa ATCC-13525)	140
7	<i>Thichorderma harzianum</i> – (cepa CCT-7589)	2000
8	Testemunha (água destilada)	2000

O experimento foi realizado em vasos de 12 dm<sup>3</sup> (12 L), contendo uma mistura homogênea de composto e solo na proporção de (1:1; V/V). O solo utilizado como substrato foi destorroado e peneirado sendo classificado como LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico de textura argilosa (EMBRAPA, 2013) e foi caracterizado quimicamente, cujos resultados foram: M.O. = 28 g dm<sup>-3</sup>; P = 14 mg dm<sup>-3</sup>; pH em CaCl<sub>2</sub> = 5,16; K<sup>+</sup> = 0,38 cmolc dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>2+</sup> = 3,67cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>2+</sup> = 0,86; cmolc dm<sup>-3</sup>; T = 9,31 cmolc dm<sup>-3</sup> e V = 53%. O composto foi adquirido da fazenda experimental da Unioeste, sendo composto principalmente por esterco bovino e cama de aviário e utilizado como condicionador de solo.

A cultivar de beterraba utilizada no experimento foi a Early Wonder Tall Top, cultivar esta que caracteriza-se por possuir raízes globulares achatadas de coloração vermelho-escuro com polpa de sabor diferenciado, resistente a cercosporiose. A adubação de plantio e a adubação em cobertura para a cultura da beterraba foram realizadas de acordo com a recomendação de Trani et al. (2013), 35 kg ha<sup>-1</sup> de N, 360 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 40 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, 1 kg ha<sup>-1</sup> de B e, em cobertura, 100 kg ha<sup>-1</sup> ha<sup>-1</sup> de N, mais 60 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, utilizando-se, respectivamente como fontes de nitrogênio, fósforo, potássio e boro, a uréia, o superfosfato triplo, o cloreto de potássio e o ácido bórico. O cálculo para as adubações foram feitas com base no volume dos vasos.

Para aplicação das doses dos inoculantes foi levada em consideração a recomendação de sementes de beterraba por hectare de acordo com fornecedores, que neste caso é 10 kg ha<sup>-1</sup> (ISLA, 2021).

O procedimento de inoculação das sementes foi realizado em laboratório, onde foram utilizados materiais esterilizados. As quantidades de sementes foram pesadas, colocadas dentro de copos descartáveis, identificadas, transferidas para sacos

polietileno (para melhor homogeneização) e aplicada a dose do microrganismo sobre a semente.

Após três horas de inoculação realizou-se a semeadura no vaso, com três sementes por vaso. Os tratamentos culturais inerentes à cultura foram realizados no decorrer do ciclo conforme a necessidade. A irrigação das plantas foi realizada diariamente, com auxílio de regador de acordo com a necessidade. Aos sete dias após a emergência, realizou-se o desbaste, deixando apenas uma planta por vaso.

As características avaliadas no decorrer do experimento foram: altura da planta e índice SPAD. A avaliação da altura foi realizada aos 60 e 85 dias após a semeadura (DAS), com auxílio de uma régua graduada sendo realizada a partir do nível do solo até a extremidade da folha mais alta e expressa em centímetros (cm).

O clorofilmetro Konica Minolito® SPAD 502 plus foi utilizado para avaliar o índice SPAD aos 60 e 85 DAS. Para as leituras foram analisadas quatro folhas totalmente expandidas de cada repetição, obtendo-se um valor médio para cada vaso (FONTES; ARAÚJO, 2007).

Ao final do ciclo da cultura aos 85 DAS, foram avaliados o número de folhas, diâmetro da raiz (cm), comprimento da raiz (cm), área foliar (cm<sup>2</sup>), massa fresca da parte aérea (g), massa fresca raiz tuberosa, índice de formato da raiz por meio da relação entre diâmetro e comprimento da raiz tuberosa, massa seca da parte aérea (g) e massa seca da raiz (g), selecionando duas plantas por parcela.

O número de folhas da planta foi obtido pela contagem manual das folhas totalmente expandidas; o diâmetro e comprimento da raiz foram obtidos com auxílio de um paquímetro com medidas expressas em milímetros (mm).

A determinação da área foliar foi obtida com auxílio do equipamento área meter (LI-COR, modelo LI-3100C) realizada em laboratório logo após a contagem do número de folhas da beterraba, levando-se em consideração folhas completamente expandidas e sem lesões, determinando sua área em centímetros quadrados (cm<sup>2</sup>).

Para avaliação dos anéis brancos no interior da beterraba, cada raiz foi cortada, aberta e verificada no seu interior a presença ou ausência de anéis. Na presença de anéis o tratamento recebeu valor um (1) e no caso de ausência valor zero (0).

As massas frescas foram obtidas acondicionando materiais ainda frescos em sacos de papéis de maneira na qual ficasse separados as partes das plantas e imediatamente após a colheita foram identificados e pesados utilizando balanças



analíticas com medições em gramas (g), e após a pesagem, os materiais foram colocados na estufa a 60°C, até que os mesmos atingissem uma massa constante, para que assim fosse obtida a massa seca das partes vegetais, conforme recomendado por Benincasa (2003).

Para a determinação de antocianinas e carotenoides na raiz utilizou-se a metodologia descrita por Francis (1982), com algumas adaptações, a partir de 1 g de amostra adicionado de 20 mL de acetona tamponada Tris-HCL. As amostras foram homogeneizadas e descansaram em béqueres envoltos com papel alumínio, permanecendo em temperatura refrigerada. Após esta etapa, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos, a 2000 rpm. O sobrenadante foi retirado com auxílio de uma pipeta e a leitura da absorbância realizada em espectrofotômetro, a 537 nm para antocianinas, e 470 nm para carotenoides. Os resultados foram expressos em  $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ , através da fórmula: absorbância x fator de diluição/98,2 (FRANCIS, 1982).

Os dados experimentais foram submetidos aos testes de normalidade, por meio do teste de Liliefors (SPRENT; SMEETON, 2007) ( $p= 0,05$ ) e homogeneidade de variância, pelo teste de Bartlett, em seguida foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Todos os cálculos foram realizados com o software estatístico Genes( Referência da versão do Genes que você utilizou).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os tratamentos que tiveram as sementes de beterraba inoculadas apresentaram diferença significativa aos 85 dias após a semeadura (DAS) para a variável altura de planta e aos 60 DAS para índice SPAD aos 60 DAS. A variável altura de planta aos 60 DAS e índice SPAD aos 85 DAS não apresentaram diferença entre os tratamentos inoculados.

**Tabela 2.** Altura de planta (AP) e índice de SPAD aos 60 e 85 DAS na cultura da beterraba em função dos microrganismos promotores de crescimento. UNIOESTE-Marechal Cândido Rondon/PR -2021.

Tratamentos	AP (cm)		SPAD	
	60 DAS	85 DAS	60 DAS	85 DAS
T1	32,80 <sup>ns</sup>	44,00 b	33,25 bcd	53,95 <sup>ns</sup>
T2	35,50	42,10 bc	35,70 a	54,87
T3	34,50	38,10 c	32,27 d	53,90
T4	33,30	40,60 bc	33,35 bcd	52,82
T5	37,70	50,30 a	35,90 a	55,98
T6	34,40	41,40 bc	33,90 bc	54,87
T7	30,10	37,90 c	32,87 cd	54,65
T8	34,00	42,30 bc	34,05 b	53,37
DMS	7,83	5,42	1,10	4,73
CV (%)	9,70	5,40	1,39	3,69
Média Geral	32,90	42,10	33,91	54,30

<sup>NS</sup> Não significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Letras diferentes na coluna indicam diferença pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. DAS: Dias após semeadura. T1- *Bacillus megaterium* (cepa BRM-119) + *B. subtilis* (cepa BRM-2084), T2 - *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringienses* (cepa BRM-116), T3- *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 + AbV6), T4 - *A. brasilense* (cepa HM0-53), T5- *A. brasilense* (cepa HM-210), T6- *Pseudomonas fluorescens* (cepa ATCC-13525) , T7- *Thichorderma harzianum* – (cepa CCT-7589), T8- Testemunha.

Aos 85 DAS, as sementes de beterraba inoculadas com *A. brasilense* (cepa HM-210) demonstraram resultados superiores aos demais com 50,30 cm de altura, diferindo-se dos demais tratamentos inoculados e quando comparado com a testemunha apresentou um incremento de 18,91 % para a variável.

Em seu estudo Damas (2020) avaliando o desenvolvimento e produtividade da cultura da beterraba, inoculada via sementes com *A. brasilense*, obteve respostas positivas para a variável altura com incremento de 21% em relação à testemunha. Resultados semelhantes foram observados por Costa et al. (2015), onde a inoculação de sementes de milho, com *A. brasilense* apresentou aumento de altura de planta. Outros estudos também demonstram que o *Azospirillum* estimula o crescimento e a produtividade de várias espécies de plantas, muito das quais tem grande relevância agrônômica e ecológica (Hungria et al. 2010).

O índice SPAD apresentou diferença entre os tratamentos em estudo aos 60 DAS se sobressaindo aos demais o tratamentos o que teve as sementes de beterraba inoculadas com *A. brasilense* (cepa HM 210) e com *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringienses* (cepa BRM-116) com 35,70 e 35,90, respectivamente (Tabela 2). Na segunda avaliação com SPAD não houve diferença entre os microrganismos inoculados. Em hortaliças, o medidor portátil SPAD-502 tem sido

utilizado com sucesso para diagnosticar o estado de N em batata (Gil *et al.*, 2002), pimentão (Madeira *et al.*, 2003), pepino japonês (Porto *et al.*, 2014).

Em beterraba, Silvestre, Maia e Mógor (2017) tiveram resultados preliminares sobre a inoculação de raízes de mudas e sua associação com carvão bioativado, descrevendo como um de seus resultados que o teor relativo de clorofila foi significativamente superior nos tratamentos contendo *A. brasilense* (com e sem carvão bioativado).

O diâmetro das raízes tuberosas, comprimento da raiz tuberosa, massa fresca e seca da raiz tuberosa de beterraba se diferiram estatisticamente quanto aos microrganismos inoculados nas sementes de beterraba. Mas a presença de anéis (presença ou ausência) e índice de formato da raiz não se diferiram em função dos tratamentos com microrganismos (Tabela 3).

**Tabela 3.** Diâmetro e comprimento da raiz (DR e CR), Anéis (Presença ou ausência), índice de formato da raiz (IFR), massa fresca da raiz tuberosa (MFRT) e massa seca da raiz tuberosa (MSDRT) da beterraba, em função dos microrganismos promotores de crescimento. UNIOESTE - Marechal Cândido Rondon/PR, 2021.

Tratamento	DR (cm)	CR (cm)	MFRT (g)	MSDRT (g)	Anéis	IFR
T1	8,00 b	6,10 b	233,70 b	31,42 b	1,0	1,32
T2	8,00 b	6,47 b	254,25 b	33,73 b	1,0	1,15
T3	8,48 b	6,20 b	279,00 ab	30,45 b	1,0	1,31
T4	8,10 b	6,52 b	241,60 b	32,23 b	1,0	1,30
T5	10,10 a	7,51 a	321,63 a	37,98 ab	1,0	1,33
T6	8,71 ab	7,13 ab	245,25 b	44,41 a	1,0	1,23
T7	8,46 ab	6,46 b	285,65 ab	37,47 b	1,0	1,28
T8	8,00 b	6,38 b	218,20 b	34,37 b	1,0	1,27
DMS	13,21	20,85	262,72	44,25	0	1,22
CV%	6,66	13,49	21,31	26,47	-	12,69
Média	83,62	65,94	519,70	70,47	-	1,27

<sup>NS</sup> Não significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Letras diferentes na coluna indicam diferença pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. DAS: Dias após a semeadura. T1- *Bacillus megaterium* (cepa BRM-119) + *B. subtilis* (cepa BRM-2084), T2 - *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringiensis* (cepa BRM-116), T3- *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 + AbV6), T4 - *A. brasilense* (cepa HM0-53), T5- *A. brasilense* (cepa HM-210), T6- *Pseudomonas fluorescens* (cepa ATCC-13525) , T7- *Thichorderma harzianum* – (cepa CCT-7589), T8- Testemunha.

Observou-se que as plantas de beterraba que tiveram as sementes inoculadas com *A. brasilense* apresentaram o maior diâmetro de raiz (10,10 cm), no entanto não se diferindo dos tratamentos com *P. fluorescens* (12,71 cm) e *T. harzianum* (8,46 cm).

De acordo com Cegesp (2011) a classificação comercial da beterraba é definida pelo calibre da raiz tuberosa, sendo considerada dentro da faixa comercial beterrabas com diâmetro transversal superior a 5 cm e inferiores de 9 cm. Neste trabalho como obteve-se valores superiores à faixa comercial para o diâmetro da raiz em 85 DAS no período de inverno, valores este que normalmente são atingidos entre 80 e 110 dias no inverno, podemos dizer que a utilização dos microrganismos *A. brasilense* (cepa HM-210) como inoculantes em sementes de beterraba, vem a ser uma forma de antecipar a colheita da cultura da beterraba, onde aos 85 DAS os resultados de diâmetro com este microrganismo já eram superiores aos comercialmente aceitáveis.

Resultados semelhantes foram observados por Costa et al. (2015), onde a inoculação de sementes de milho, com *A. brasilense* apresentou aumento de altura de planta, diâmetro do caule, biomassa, massa do sistema radicular e rendimento.

Para a variável comprimento das raízes de beterraba foram observados resultados superiores nos tratamentos com o microrganismo *A. brasilense* (cepa HM-210) e com *P. florenses*, com 7,51 e 7,13 cm, respectivamente. Resultados semelhantes são descritos por Lima (2017) que encontrou em seu trabalho avaliando o desempenho de duas variedades de tomate aos 30 e 60 DAS, em dois experimentos simultâneos, a campo e em casa de vegetação, sobre a inoculação de diferentes doses de *A. brasilense*. Os resultados obtidos em casa de vegetação foram aumento da altura de plantas, diâmetro de caule e comprimento com inoculação para as duas cultivares em 60 DAS.

É possível observar um maior diâmetro e comprimento de raiz no tratamento nos quais as sementes foram inoculadas com *A. brasilense* (cepa HM-210) (Tabela 3). Vários relatos na literatura discutem a capacidade do *Azospirillum* de produzir fitormônios que estimulam o crescimento radicular em várias espécies de plantas (Hungria et al. 2010, Braccini et al. 2012). Segundo Moreira et al. (2010), *A. brasilense* produz os componentes responsáveis por estimular o crescimento das raízes, incluindo ácido indol-acético, giberelinas e citocininas.

A presença de anéis em todos os tratamentos (Tabela 3) está relacionada ao estresse térmico devido as altas temperaturas. Segundo Puiatti & Finger (2005) temperaturas elevadas favorecem a ocorrência de raízes tuberosas com coloração interna indesejável, como anéis concêntricos mais claros, além do sabor ser alterado, tornando-se menos doce.

Observou-se que não houve efeito significativo entre os inoculantes para o variável índice de formato da raiz, que teve média geral de 1,27. Ainda há poucos estudos a respeito deste tema na literatura, para a cultura da beterraba, mas algumas literaturas a respeito do formato da beterraba dizem que a mesma apresenta um formato globular (TIVELLI et al., 2011), porque é pequena a diferença do diâmetro para o comprimento. Em seu estudo sobre as características produtivas e qualitativas das cultivares de beterraba Coutinho et al., 2011, também não encontraram diferença nos tratamentos para a esta variável, o que corrobora este trabalho.

A maior massa fresca de raiz tuberosa foi constatada no tratamento com *A. brasilense* (cepa HM-210) tendo uma média de 321,63 g, mas que não se diferiu significativamente dos tratamentos inoculados com *A. brasilense* (cepas AbV5 + AbV6) e *T. harzianum* obtendo como resultados 279,0 e 285,65 g, respectivamente, demonstrando que os tratamentos proporcionaram maior acúmulo de fotoassimilados na raiz, aumentando por conseguinte o potencial de produção, já a com menos massa fresca de raiz foi a testemunha, mais não se diferencia das demais pelo teste de comparação de médias. Em seu estudo Larcher (2004), menciona que um dos fatores que influenciam a formação das raízes é o menor acúmulo de fotoassimilados que também interfere na produção das estruturas vegetativas.

De acordo com a Cegesp (2011), existe uma classificação para o calibre da raiz, sendo eles: classe 50 (maior ou igual a 50 mm e menor que 90 mm), classe 90 (maior ou igual a 90 mm e menor a 120) e classe 120 (maior ou igual a 120), onde beterrabas com 9 a 12 cm de diâmetro transversal (classe 90) e 6 e 7 cm, longitudinal, pesam cerca de 300 g. O que podemos notar que o valor da massa fresca da raiz tuberosa com a utilização do tratamento com o microrganismos *A. brasilense* (cepa HM-210) foi relativamente superior as faixas comerciais da Cegesp (2011) com resultado de 321,63 g/planta e também com relação ao diâmetro da raiz, comprovando que a utilização deste microrganismo como promotor de crescimento na cultura da beterraba é um antecipador do ponto de nesta cultura.

Com relação a massa seca da raiz a que apresentou maior incremento quando comparada a testemunha, foi a com tratamento com *P. fluorescens* (cepa ATCC-13525), sendo obtido como resultado 44,41 g, não se diferindo do tratamento com - *A. brasilense* (cepa HM-210), com resultado de 37,98 g e apresentando um incremento de 10,44% quando comparada a testemunha,.

O número de folhas e área foliar não apresentaram variação entre os tratamentos com microrganismos em estudo, já a massa fresca da parte aérea e massa seca da parte aérea apresentaram diferença entre os tratamentos que sofreram inoculação com microrganismo. As massas médias da raiz e da parte aérea foram diferentes entre os tratamentos (Tabela 3), mostrando a influência do uso de inoculantes no desenvolvimento da cultura da beterraba.

**Tabela 4.** Número de folhas – NF, área foliar– AF, massa fresca parte aérea– MFPA e massa seca parte aérea– MSPA da beterraba, em função dos microrganismos promotores de crescimento. UNIOESTE - Marechal Cândido Rondon/PR, 2021.

Tratamento	NF	AF (cm <sup>2</sup> )	MFPA (g)	MSPA (g)
T1	15,75	2861,80	338,39 a	66,77 ab
T2	15,50	2431,00	246,07 b	44,57 b
T3	14,50	2318,03	296,98 ab	55,45 ab
T4	13,50	2265,50	303,70 ab	61,75 ab
T5	15,25	2475,00	295,79 ab	73,32 ab
T6	14,00	2680,60	328,30 a	80,36 a
T7	16,75	2225,60	269,07 ab	49,83 ab
T8	14,00	2377,00	313,08 ab	78,55 ab
DMS	7,11	1992,88	104,47	35,34
CV %	20,12	20,49	14,11	20,11
Média	14,91	2454,3	298,93	63,83

<sup>NS</sup> Não significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Letras diferentes na coluna indicam diferença pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. DAS: Dias após a semeadura. T1- *Bacillus megaterium* (cepa BRM-119) + *B. subtilis* (cepa BRM-2084), T2 - *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringiensis* (cepa BRM-116), T3- *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 + AbV6), T4 - *A. brasilense* (cepa HM0-53), T5- *A. brasilense* (cepa HM-210), T6- *Pseudomonas fluorescens* (cepa ATCC-13525) , T7- *Thichoderma harzianum* – (cepa CCT-7589), T8- Testemunha.

Não houve diferença significativa para a variável número de folhas (Tabela 4). De acordo com Miranda e Perreira (2019), em seu trabalho sobre cultivo da beterraba Early Wonder Tall Top sob diversas tensões no solo, o número de folhas é aproximadamente de 7 a 9 por planta sendo considerado excesso qualquer valor que ultrapasse este limite. Segundo Tivelli (2011), o excesso no número de folhas na beterraba é considerado como um defeito leve, mas em determinada escala dentro do mesmo lote, pode comprometer na classificação do produto, o que pode ser justificado neste experimento com relação direta ao diâmetro da raiz, comprimento e massa fresca da raiz tuberosa superiores a faixa comercial. Para a Ceagesp (2011), é tolerável que para a classe extra da beterraba (de maior qualidade comercial) que no máximo 10% do lote esteja com este tipo de defeito.

Para a avaliação dos valores de área foliar, não houve diferença significativa, obtida dentro dos tratamentos testados. Estudando o efeito da inoculação de sementes de milho com a bactéria *A. brasilense*, Cunha et al. (2014) também não obteve resposta para a variável área foliar. Ainda em consonância com este trabalho, em seu estudo sobre microrganismos promotores de crescimento em alface, Domingues et al. (2021), não observaram diferença significativa para número de folhas, área foliar, massa fresca da parte aérea e massa seca da parte aérea total para a aplicação de inoculantes com os microrganismos *Trichoderma* spp, *B. subtilis* e *A. brasilense*. Em outra pesquisa com inoculação do microrganismo *A. brasilense* na cultura da alface Almeida (2016) não obteve resposta significativa quanto a variável área foliar.

A massa fresca da parte aérea apresentou diferença entre os tratamentos promovendo incremento naqueles em que as sementes foram inoculadas com *B. megaterium* (cepa BRM-119) + *B. subtilis* (cepa BRM-2084) e *P. fluorescens* (cepa ATCC-13525) com os respectivos valores 338,39 e 328,30 g, apenas se diferindo do tratamento *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringienses* (cepa BRM-116) na qual obteve 246,07 g.

Em comparação a outras olerícolas com aplicação de *A. brasilense*, há consonância. Mangmang, Deaker e Rogers (2015), observaram em plântulas de alface e pepino efeito positivo da inoculação de *A. brasilense*, melhorando significativamente o crescimento da parte aérea e o enraizamento. Os mesmos autores justificam que a estirpe de *Azospirillum* SP245, apresentou aumento no nível endógeno do ácido indolacético, nas duas espécies.

Correlação positiva entre massa fresca da parte aérea e produtividade tem sido constatada em tuberosas, entretanto essa afirmativa é verdadeira apenas dentro de certos limites, pois nem sempre crescimento de parte aérea é sinônimo de aumento em produtividade (Guimarães et al., 2002). Aumento da área foliar é benéfico para a produção até que o índice de área foliar atinja a máxima eficiência entre a interceptação da luz e conversão em reservas para crescimento; acima desse patamar, o efeito do auto-sombreamento torna-se expressivo, e a eficiência fotossintética das folhas inferiores do dossel torna-se baixa (Larcher, 2004).

Resultados semelhantes foram encontrados para a beterraba açucareira observados por Kandil et al. (2004), que com inoculação de rizobactérias à sementes, obtiveram desenvolvimento superior em relação a testemunha e

semelhante a aplicação de 135 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio. Esses autores relatam ainda incremento do sistema radicular e parte aérea, bem como para as taxas de crescimento, de crescimento relativo e de assimilação líquida. Justificam Huergo et al. (2008) que o maior desenvolvimento de parte aérea das plantas pode ser explicado pela produção de fitormônios pelo *A. brasilense* (como o ácido indolacético, auxinas, giberelinas) e por Madhaiyan et al. (2010) que observaram resultados semelhantes em tomate e pimentão.

A massa seca da parte aérea da beterraba apresentou diferença significativa entre os tratamentos com inoculação demonstrando resultados superiores o tratamento com o microrganismo *P. fluorescens* com 80,36 g, apenas se diferenciando do microrganismo *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringiensis* (cepa BRM-116) que obteve resultado 44,57 g, uma redução de 36,56% comparada ao tratamento testemunha.

Em seu estudo Coelho et al. (2007) ressalta que a promoção de crescimento leva ao aumento na produção de grãos e ao crescimento da planta, que podem ser expressos tanto pela massa da matéria seca da parte aérea ou raízes, como pela altura, o que pode estar justificando os resultados deste trabalho.

Novamente pode-se inferir que com o aumento da parte aérea houve maior área fotossintética e produção de fotoassimilados, o que impactou no desenvolvimento do sistema radicular, induzindo o aumento e armazenamento de sólidos. Justifica-se esse efeito devido a ação das BPCV, que produzem fitormônios, alterando a fenologia da planta (PERRIG et al., 2007).

Para o teor de antocianina e carotenoide da raiz houve diferença entre os tratamentos estudados (Tabela 5).

**Tabela 5.** Teores de antocianina (mg 100g<sup>-1</sup>) e carotenoides (mg 100g<sup>-1</sup>) em beterraba submetidos a diferentes tratamentos com inoculantes. UNIOESTE - Marechal Cândido Rondon/PR – 2021.

Tratamento	Antocianina	Carotenoides
T1	45,56 a	0,57 ab
T2	27,78 bc	0,21 b
T3	24,68 bc	0,23 b
T4	23,45 bc	0,27 b
T5	26,70 bc	0,31 b
T6	29,92 abc	0,45 ab
T7	37,67 ab	0,37 ab
T8	38,80 ab	0,74 a



DMS	32,52	0,42
CV %	40,98	46,19
Média	31,82	0,39

<sup>NS</sup> Não significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Letras diferentes na coluna indicam diferença pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. DAS: Dias após a semeadura. T1- *Bacillus megaterium* (cepa BRM-119) + *B. subtilis* (cepa BRM-2084), T2 - *B. subtilis* + *B. megaterium* + *B. thuringiensis* (cepa BRM-116), T3- *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 + AbV6), T4 - *A. brasilense* (cepa HM0-53), T5- *A. brasilense* (cepa HM-210), T6- *Pseudomonas fluorescens* (cepa ATCC-13525) , T7- *Thichorderma harzianum* – (cepa CCT-7589), T8- Testemunha.

O tratamento que se sobressaiu para a variável de antocianina foi *Bacillus megaterium* (cepa BRM-119) + *B. subtilis* (cepa BRM-2084), que apresentou concentração de antocianina de 45,56 mg em 100 g de amostra, mas não diferindo do tratamento com *T. harzianum* e da testemunha que apresentaram concentração de antocianina de 37,67 e 38,80 mg em 100 g<sup>-1</sup> de amostra, respectivamente, sendo que estas duas últimas porém não se diferenciaram do tratamento com *Pseudomonas* com concentração 29,92 mg em 100 g<sup>-1</sup> de amostra.

Em seu tratamento avaliando diferentes variedades da cultura da beterraba Coutinho et al. (2015), encontraram para a variedade Tall Top Early Wonder - a mesma estudada neste trabalho - o valor de concentração de antocianina de 31,33 mg em 100 g<sup>-1</sup> de amostra. Ramos (2015) em seu trabalho com a cultivar de beterraba Borus encontrou 83,25 mg em 100 g<sup>-1</sup> de amostra.

A possível explicação para esse resultado está no efeito diluição. As antocianinas são responsáveis pela coloração da raiz, que vai do vermelho intenso ao roxo escuro, sendo uma característica inerente a cada cultivar. O teor de antocianinas poderá apresentar-se como um critério de escolha da cultivar, além da produtividade, pois estes pigmentos possuem atividade antioxidante reconhecida (BRIDGERS; CHINN; TRUONG, 2010).

O tratamento que teve maior resultado quanto ao teor de carotenóides foi a testemunha 0,74 mg 100 g<sup>-1</sup>, não se diferindo dos tratamentos com *B. megaterium* (cepa BRM-119) + *B. subtilis* (cepa BRM-2084), *P. fluorescens* e T7- *Thichorderma harzianum* – (cepa CCT-7589), com os valores 0,57, 0,45, 0,37 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. Ramos (2015) em seu trabalho com beterraba encontraram 12,83 mg 100<sup>-1</sup> de carotenóides. O teor de carotenóides em alimentos é variável devido a diversos fatores, ocasionando, portanto, variações qualitativas e quantitativas. Isto explica os valores discrepantes e a alta variabilidade entre os estudos que investigam a composição de carotenóides nos alimentos e também na cultura em

estudo (BEMFEITO, 2020).

Outra justificativa para a discrepância dos valores em estudo para os de literatura é que síntese de carotenóides é aumentada com o amadurecimento dos vegetais. Porém, em estágios avançados de maturação, o teor desses compostos pode diminuir em função de reações de degradação (BEMFEITO, 2020), o que pode ter ocorrido neste estudo, pois a beterraba foi colhida dentro do ciclo, mas a inoculação das sementes antecipa a colheita.

## 5 CONCLUSÃO

O Uso de BPC é uma tecnologia viável para a produção de beterraba Tall Top Early Wonder.

O uso de *A. brasilense* cepa HM-210 permite o maior crescimento de raízes tuberosas de beterraba Tall Top Early Wonder.

Pode-se afirmar que o uso de *A. brasilense* permite uma antecipação no ciclo produtivo da beterraba Tall Top Early Wonder.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGISHA, V. N. et al. Plant endophytic *Pseudomonas putida* BP25 induces expression of defense genes in black pepper roots: Deciphering through suppression subtractive hybridization analysis. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 100, p. 106-116, 2017.

ALMEIDA, Welton Martins de et al. Doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum* sp. em alface americana cv. **Lucy Brown**. 2016.

AL-SADI, A. M.; AL-OWEISI, F. A.; EDWARDS, S. G.; AL-NADABI, H.; AL-FAHDI, A. M. Genetic analysis reveals diversity and genetic relationships among *Trichoderma* isolates from potting media, cultivated soil and uncultivated soil. **Biomed Central Microbiology**, [s. l.], v.15, p. 1-11, 2015.

ARAUJO, L. et al. Doenças da macieira e da pereira. Informe Agropecuário. v. 37, p. 61-74, 2016. Acesso 25 de jan. 2022. Disponível :<<https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/123456789/3376/1/revista-incaper-v.9-jan-dez-2018.pdf>>.

ARAUJO, F. F. de. Seed inoculation with *Bacillus subtilis*, formulated with oyster meal and growth of corn, soybean and cotton. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 456–462, 2008.

BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.E.; CASANOVAS, W.M.; PEREYRA, M.A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: **Asociación Argentina de Microbiología**, 2008. p.49-59.

BADER, A. N.; SALERNO, G. L.; COVACEVICH, F.; CONSOLO, V. F. Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-a acetic and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of King Saud University Science**, [s. l.], v. 32, p. 867-873, 2020.

BARRETO, C.R.; ZANUZO, M. ROGGIA; WOBETO, CARMEM; ROSA, C. C. B. produtividade e qualidade da beterraba em função da aplicação de doses de nitrogênio. **Revista Uniara** , v. 16, n. 1, 2013.

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J.J.; LEYVA, L.A.; HERNANDEZ, J.-P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v.42, p.279-285, 2006.

BAHADIR, P. S.; LIAQAT, F.; ELTEM, R. Plant growth promoting properties of phosphate solubilizing *Bacillus* species isolated from the Aegean Region of Turkey. **Turkish Journal of Botany**, v. 42, n. 2, p. 183-196, 2018.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LÍMON, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, [s. l.], v. 7, p. 249-260, 2004.

BERNARDO, Eduardo Roberto A.; BETTIOL, Wagner. Controle da pinta preta dos frutos cítricos em cultivo orgânico com agentes de biocontrole e produtos alternativos. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 1, p. 037-042, 2010.

BEMFEITO, Carla Martino et al. Carotenoides em alimentos: fatores interferentes na biossíntese e estabilidade frente ao processamento. **Tecnologia de Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos**, v. 1, p. 445-465.

BJELIĆ, D.; MARINKOVIĆ, J.; TINTOR, B.; MRKOVAČKI, N. Antifungal and plant growth promoting activities of indigenous rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) rhizosphere. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 49, n. 1, p. 88-98, 2018.

BOTTOMLEY, P. J.; MYROLD, D. D. Biological N Inputs. In: *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. 4 ed., ch. 15, 2015, p. 447-470.

BRACCINI, A. L. et al. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 58-64, 2012.

BRIDGERS, E. Nicole; CHINN, Mari S.; TRUONG, Van-Den. Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. *Industrial crops and products*, v. 32, n. 3, p. 613-620, 2010.

BROTMAN, J.; KAPUGANTI, G.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, London, v. 20, p. 390-391, 2010.

BULEGON, L. G.; BATISTTUS, A. G.; CASTAGNARA, D. D.; GUIMARAES, V. F.; CZEKALSKI, A. M.; RAMPIM, L. *Azospirillum brasilense* potencializa sistema de produção da soja. **Revista campo & Negócios, Uberlândia**, MG, v. 5, p. 9-13, 2017.

CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. dos S.; HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C. F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 4, p. 129-132, 2000.

CIPRIANO, Matheus Aparecido Pereira; PATRÍCIO, Flávia Rodrigues Alves; FREITAS, Sueli dos Santos. Potential of rhizobacteria to promote root rot growth and control in hydroponically cultivated lettuce. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 1, p. 51-57, 2013.

CHAPIN III, F. S., Matson, P. A., & Vitousek, P. M. (2011). *Principals of terrestrial ecosystem ecology* (2nd ed.). New York: Springer-Verlag. doi:10.1007/978-1-4419-9504-9.

CUNHA, F.; SILVA, N.; BASTOS, F.; CARVALHO, J.; MOURA, L.; TEIXEIRA, M.; ROCHA, A.; SOUCHIE, E. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** v. 13, p. 261- 272, 2014.

COUTINHO, P. W. R. **Desempenho de cultivares, produtividade e qualidade de beterraba em sistemas de cultivo**. 2016. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

CORRÊA, C. A. et al. Efeito de rotações de cultura sob plantio direto sobre *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. em cultivos de feijoeiro irrigado. In: **Embrapa Arroz e Feijão-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. Ciência e tecnologia na cadeia produtiva do feijão. Campinas: Instituto Agrônômico, 2008.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, Petrská čtvrť, v. 383, p. 03-41, 2014.

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. da S. F.; NAVES, D. C. de F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. de S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-311, jul./set. 2015. DOI: 10.1590/1983-40632015v4534593.

COELHO, L. F.; Freitas, S. S.; Melo, A. M. T.; Ambrosano, G. M. B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1413-1420, 2007.

COMPANHIA DE ENTREPÓSITOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO - CEAGESP. Dados: Beterraba. São Paulo, 2020. Disponível em:<<https://ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2020/05/beterraba.pdf>>. Acesso em: 12 Fev 2022.

DALMAS, Éliton Jose Godin et al. Desenvolvimento e produtividade de beterraba inoculada via sementes com *Azospirillum brasilense*. **Revista Cultivando o Saber**, v. 13, n. 1, p. 18-29, 2020. Acesso m 23 de fev de 2022. Disponível em:<<http://177.53.200.37/index.php/cultivando/article/view/984/907>>.

DARTORA, Janaína et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 1023-1029, 2013.

DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL – DERAL. Produção Agropecuária, 2019. Disponível<<http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=137>>. Acesso em 21 jan. 2021.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. Compendium of Soil Fungi. 1. ed. Londres: **Academic Press** (London) Ltd, 1980. 630p.

DOMINGUES, S. C. de O. et al. MICRORGANISMOS COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM CULTIVARES DE ALFACE. **Nativa**, v. 9, n. 2, p. 100-105, 2021.

DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. Trichoderma: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 9, p. 749-759, 2011.

DIMPKA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F.. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant Cell and Environment**, v. 32, p. 1682-1694, 2009.

DUCA, D. et al. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 106, n. 1, p. 85-125, 2014.

DUCA, D. R.; ROSE, D. R.; GLICK, B. R. Índole acetic acid overproduction transformants of the rhizobacterium *Pseudomonas* sp. UW4. *Antonie van Leeuwenhoek*, **International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 111, n. 9, p. 1645-1660, 2018.

DORJEY, S.; DOLKAR, D.; SHARMA, R. Plant Growth Promoting Rhizobacteria *Pseudomonas*: A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 7, p. 1335-1344, 2017.

FAO. Representante da FAO Brasil apresenta cenário da demanda por alimento. Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/noticias/detailevents/pt/c/901168>. Acesso em: 17 jan. 2022.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV. 401p.2000.

FILGUEIRA, F. A. R. Quenopodiáceas Beterraba e Hortaliças Herbáceas. In: FILGUEIRA, F. A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2013. p. 378-385.

FERREIRA, T. C. Biocontrole de patógenos de solo e promoção de crescimento vegetal promovidos por *Bacillus* spp. em milho. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, [s. l.], v. 15, p. 337-356, 2019.

FONTES P.C.R; ARAÚJO C. 2007. **Adubação nitrogenada de hortaliças: princípios e práticas com o tomateiro**. Viçosa: UFV. 148p.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed). **Anthocyanins as foodcolors**. New York, Academic Press. p. 181 – 207. 1982.

FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T. & DONZELI, V.P. Promoção de crescimento de alface por rizobactérias. **R. Bras. Ci. Solo**, 27:61-70, 2003.

FREITAS, Isabel Cristina Vinhal; RODRIGUES, Mariana Bueno. Fixação biológica do nitrogênio na cultura do milho. **Agropecuária Técnica**, v. 31, n. 2, p. 143-154, 2010.

FUKAMI J., Nogueira M. A., Araujo R. S., Hungria M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **Amb Express**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.

GARCIA, T. V.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Bactérias endofíticas como agentes de controle biológico na orizicultura. **Agricultural Microbiology**, [s. l.], v. 82, p. 1-9, 2015.

GIL, P.T.; FONTES, P.C.R.; CECON, P.R; FERREIRA FA. 2002. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade de batata. **Horticultura Brasileira** 20: 611-615.

GÍRIO, Lucas Augusto da Silva et al. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, p. 33-43, 2015.

GOMES, Luiz Antonio Augusto et al. Production of lettuce seedlings using alternative substrates and fertilizer. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 359-363, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362008000300013>.

GOMILA, M. et al. Phylogenomics and systematics in *Pseudomonas*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. March, p. 1-13, 2015.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R. J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 39, p.

GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; MINAMI, K. Métodos de produção de mudas, distribuição de matéria seca e produtividade de plantas de beterraba. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 03, p. 505-509, 2002.

GUPTA, Govind et al. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. **J Microb Biochem Technol**, v. 7, n. 2, p. 096-102, 2015.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review Microbiology**, [s. l.], v.2, p. 43-56, 2004.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, [s. l.], v.158, p. 17-25, 2012.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic

research in Argentina. Asociación **Argentina de Microbiologia**, Argentina, 2008. p.17-35.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 331, n. 6, p. 413-425, June 2010.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 38 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

IBGE. (2020) “Tabulação especial do Censo Agropecuário 2017 de estabelecimentos produtores de beterraba”. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Coordenação de Agropecuária. Acesso em 21 jan. 2022. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/>.

IMADA, E. L. et al. Indole-3-acetic acid production via the indole-3-pyruvate pathway by plant growth promoter *Rhizobium tropici* CIAT 899 is strongly inhibited by ammonium. **Research in Microbiology**, v. 168, n. 3, p. 283-292, 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DO BRASIL – INMET. Normais Climatológicas (Jun/Set). Marechal Cândido Rondon - PR, 2021.

INDEX FUNGORUM. Banco de Dados de Taxonomia de Fungos. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>. Acesso em: 15 dez. 2021.

JAROSZUK- SCISEL, J.; SKIEWICZ, R. T.; NOWAK, A.; OZIMEK, E.; MAJEWSKA, M.; HANAKA, A.; SKIEWICZ, K. T.; PAWLIK, A.; JANUSZ, G. Phytohormones (auxin, gibberellin) and ACC deaminase in vitro synthesized by the mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 strain and changes in the level of auxin and plant resistance markers in wheat seedlings inoculated with this strain conidia. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.] v. 20, p. 2-35, 2019.

JAREK, Tiago Miguel Identificação e controle de doenças em olerícolas. Curitiba : SENAR - Pr., 2015. – 96 p. Acesso em 30 de jan. 2022. Disponível em:< <https://atual.sistemafaep.org.br/wp-content/uploads/2021/05/PR.0298-Identif-Controle-de-Doencas-em-Olericolas.pdf>>.

LAVAGNINI, Celso Guilherme et al. Fisiologia vegetal-hormônio giberelina. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 25, n. 1, p. 48-52, 2014.

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

LARCHER W. 2004. *Ecofisiologia vegetal* São Carlos: **Rima Artes e Textos**. 531p.

LIMA, A. A.; JUNIOR, P. I. F.; PASSOS, S. R.; PAULO, F. S.; NOSOLINE, M.; FARIA, S. M.; GUERRA, J. G. M.; RUMJANEK, N. G. XAVIER, G. R. Diversidade e



capacidade simbiótica de rizóbios isolados de nódulos de Mucuna-Cinza e Mucuna-Anã. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 2012, 36.2: 337-348.

LIMA, A.A. de; VENTUROSOS, L. dos R.; SILVA, B. A. A.; GOMES, A. F.; SCHIMIDT, OSVINO. 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, n. 2, p. 233-240, 2017.

KLAHOLD, C. A. et al. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 28, n. 2, p. 179-185, 2006.

KOCHAR, M.; UPADHYAY, A.; SRIVASTAVA, S. Indole-3-acetic acid biosynthesis in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Psd and plant growth regulation by hormone overexpression. *Research in Microbiology*, v. 162, n. 4, p. 426-435, 2011.

KANDIL, A. A.; BADAWI, M. A.; EL-MOURSAY, S. A.; ABDU, U. M. A. Effect of Planting DASes, Nitrogen Levels and Bio-fertilization Treatments on 1: Growth Attributes of Sugar Beet (*Beta vulgaris*L.). **Scientific Journal of Faisal University** (Basic and Applied Sciences), v. 5, n. 2, p. 227-237, 2004.

MADEIRA, A.C; FERREIRA, A.; VARENNES, A.; VIEIRA MI. SPAD meter versus tristimulus colorimeter to estimate chlorophyll content and leaf color in sweet pepper. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 34: 2461-2470. 2003.

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

MARAG, P. S.; SUMAN, A. Growth stage and tissue specific colonization of endophytic bacteria having plant growth promoting traits in hybrid and composite maize ( *Zea mays* L .). **Microbiological Research**, v. 214, n. May, p. 101-113, 2018.

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ALGUACIL, M. D. M.; PASCUAL, J. A.; WEES, S. C. M. V. Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 40, p. 804-815, 2014.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, p. 274-288, 2012.

MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; KANG, B. G.; LEE, Y. J.; CHUNG, J. B.; SA, T. M. Effect of coinoculation of methylotrophic ethylobacterium *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.

MANJULA, K.; PODILE, A. R. Increase in Seedling Emergence and Dry Weight of Pigeon Pea in the Field with Chitin-Supplemented Formulations of *Bacillus Subtilis*

AF 1. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 6–7, p. 1057–1062, out. 2005.

MARQUES, L. F.; MEDEIROS, D. C. de; COUTINHO, O. de L.; MARQUES, L. F.; MEDEIROS, C. de B.; VALE, L. S. do. Produção e qualidade da beterraba em função da adubação com esterco bovino. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, n. 1, p. 24- 31, 2010.

MENDES, Fernanda Rodrigues et al. Qualidade física, química e microbiológica de ovos lavados armazenados sob duas temperaturas e experimentalmente contaminados com *Pseudomonas aeruginosa*. 2010.

MENDES, I. de C.; DOS REIS JUNIOR, F. B.; DA CUNHA, Mariangela Hungria. 20 perguntas e respostas sobre fixação biológica de nitrogênio. **Embrapa Cerrados- Documentos (INFOTECA-E)**, 2010.

MILLÉO, Marcos Vinicius Ribas; CRISTÓFOLI, Isadora. Avaliação da eficiência agrônômica da inoculação de *Azospirillum* sp. na cultura do milho. **Scientia Agraria**, v. 17, n. 3, p. 14-23, 2016.

MIRANDA, Jonathan Rocha; PEREIRA, Geraldo Magela. CULTIVO DA BETERRABA SOB DIFERENTES TENSÕES DE ÁGUA NO SOLO. **Irriga**, v. 24, n. 2, p. 220-235, 2019. DOI: <https://doi.org/10.15809/irriga.2019v24n2p220-235>.

MRKOVACKI, S.; MEZEI, S.; VERESBARANJI, I.; POPOVIC, M.; SARIC, Z.; COVACEV, L. Associations of sugar beet and nitrogen-fixing bacteria in vitro. **Biologia Plantarum**, v. 39, n. 3, p. 419-425, 1997. Acesso em: 22 de jan. 2021. Disponível: <<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.500.8599&rep=rep1&type=pdf>>.

MELEGARI, R. R. V. Influência da adubação nitrogenada e da inoculação com *Azospirillum* na qualidade da Alface Americana cv. Lucy Brown. 2016.

MOHITE, B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 13, n. 3, p. 638-649, 2013.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicação. *Comunicata Scientiae*, v.2, p.74-99, 2010.

MONTEIRO, Gean Charles et al. Aplicação de bioestimulante proporciona melhoria no cultivo da beterraba (*Beta vulgaris* L.): Aplicação de biostimulante na cultura da beterraba. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 4, p. 1024-1031, 2019.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e Biotecnologia do Solo. **Editora UFLA**, v. ed. 2, p. 729, 2006.

OKUMURA, Ricardo Shigueru; DE CINQUE MARIANO, Daiane; ZACCHEO, Paulo Vicente Contador. Use of nitrogen fertilizer in corn: Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, 2011.

OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; SÁ, N. M. H. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 9, p. 1782-1787, 2009.

PÁTKAI, G.; BARTA, J. Decomposition of betacyanins and betaxanthins by heat and pH changes. *Mol. Nutr. Food Res.*, v. 40, p. 267-270, 1996.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and environmental microbiology*, v. 68, n. 8, p. 3795-801, 2002.

PÉREZ-YÉPEZ, Juan et al. Evaluation of seven housekeeping genes for multilocus sequence analysis of the genus *Mesorhizobium*: Resolving the taxonomic affiliation of the *Cicer canariense* rhizobia. **Systematic and applied microbiology**, v. 37, n. 8, p. 553-559, 2014.

PÔRTO, Mônica LA et al. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio na cultura do pepino japonês em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 292-296, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362014000300009>.

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

POMELA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle Biológico com *Trichoderma* em Grandes Culturas – Uma Visão Empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. 1. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Norte, 2009. p. 239-244.

PUIATTI, M.; Finger, F. L. Cultura da beterraba. In: Fontes, P. C. R. (ed.). **Olericultura: teoria e prática**. Viçosa. 2005. p.345-354.

RAMOS, Juliana Arruda. Aceitabilidade e qualidade nutricional de beterrabas in natura e pré-processadas submetidas a diferentes métodos de cocção. 2015.

REBAH, B.; PRÉVOST, D.; YEZZA, A.; TYAGI, R. D. Agro-industrial waste materials and waste-water sludge for rhizobial inoculant production: A review. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 98, p. 3535-3546, 2007.

RIBAS, P. P.; RECH, R.; MATSUMURA, A. T. S.; SAND, S. T. V. D. Potencial in vitro para solubilização de fosfato por *Trichoderma* spp. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 14, p. 70-75, 2016.

RIBEIRO, V. P.; MARRIEL, I. E.; SOUSA, S. M.; LANA, U. G. P.; MATTOS, B. B.; OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A. As cepas de *Bacillus* endofítico aumentam o crescimento do milho e a absorção de nutrientes sob baixo P. *Revista Brasileira de Microbiologia*, v. 49, n. 1, p. 40-46, agosto de 2018.

RODRIGUES, A. C.; ANTUNES, J. E. L.; MEDEIROS, V. V.; BARROS, B. G. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Resposta da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e *Bradyrhizobium* sp. em caupi. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 7, p. 196-202, 2012.

ROBERTSON, G. P.; GROFFMAN, P. M. Nitrogen Transformations. In: *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. 4 ed., ch. 15, 2015, p. 421-446.

SANDRI, M. A.; NAKADA, P. G.; ABRAHÃO, C.; FREITAS FILHO, A. M.; ONO, E. O.; GOTO, R. Efeito de doses de bioestimulante aplicado via foliar ou radicular em mudas de beterraba. **Horticultura Brasileira**, n. 30: S3119 - S3126, 2012.

SIMÕES, W. L.; SOUZA, M. A. de; YURI, J. E.; GUIMARÃES, M. J. M.; GOMES, V. H. F. Desempenho de cultivares de beterrabas submetidas a diferentes lâminas de irrigação no Submédio São Francisco. **Water Resources and Irrigation nagement**, v. 5, n. 2, p. 51- 57, 2016.

SILVESTRE, G.F.;MAIA, C.M. B. de F.;MÓGOR, Á. F. Efeito da inoculação de *Azospirillum* brasilense em beterraba e inter-relação com a incorporação de biocarvão no solo. In: Evento de Iniciação científica da Embrapa Florestas, 16. 2017. Anais...Colombo: **EMBRAPA FLORESTAS**, 2017. p. 14.

SILVA, J. F.; SILVA, T. R.; ESCOBAR, I. E. C.; FRAIZ, A. C. R.; SANTOS, J. W. M.; NASCIMENTO, T. R.; SANTOS, J. M. R.; PETERS, S. J. W.; MELO, R. F.; DEON, D. S.; FERNANDES-JUNIOR, P. I. Screening of plant growth promotion ability among bactéria isolated from field-grown sorghum under different managements in Brazilian drylands. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 34, p. 1-10, 2018.

SILVA, C. F. B.; BRÍGIDA, A. I. S.; TANIGUCHI, C. A. K.; PINTO, G. A. S. Uso do *Trichoderma* na cultura da banana. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. *Trichoderma: uso na agricultura*. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2019. p. 433-444.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **EEMS Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 425-448, 2007.

SOFO, A.; SCOPA, A.; MANFRA, M.; NISCO, M.; TENORE, G.; TROISI, J.; FIORI, R.; NOVELLINO, E. *Trichoderma harzianum* strain T-22 induces changes in phytohormone levels in cherry rootstocks (*Prunus cerasus* X *P. canescens*). *Plant Growth Regulation*, Dordrecht, v. 65, p. 421-425, 2011. Acesso em: 23 de jan. 2022. Disponível:<<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1130962/1/TS2020.017.pdf>>.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TAIZ, L., ZEIGER, E., MØLLER, I. M., & MURPHY, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. **Artmed Editora**. 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TIAN, B. et al. Beneficial traits of bacterial endophytes belonging to the core communities of the tomato root microbiome. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 247, n. 2, p. 149-156, 2017.

TIVELLI, S. W. et al. Beterraba: do plantio à comercialização. Instituto Agronômico: Campinas. Série Tecnologia APTA. **Boletim Técnico IAC**, v. 210, 2011. Acesso em 26 jan. 2022. Disponível : < <https://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/arquivos/iacbt210.pdf>>.

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

TODOROVIC, B.; GLICK, B. R. The interconversion of ACC deaminase and D-cysteine desulfhydrase by directed mutagenesis. *Planta*, Berlin, v. 229, p. 193-205, 2008.

VANDENBERGHE, L. P. S.; GARCIA, L. M. B.; RODRIGUES, C.; CAMARA, M. C.; PEREIRA, G. V. M.; OLIVEIRA, J.; SOCCOL, C. R. Potential applications of plant probiotic microorganisms in agriculture and forestry. **AIMS Microbiology**, [s. l.], v. 3, p. 629-648, 2017.

WU, L.; WU, H. J.; QIAO, J.; GAO, X.; BORRIS, R. Novel routes for improving biocontrol activity of *Bacillus* based bioinoculants. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 6, p. 1-13, 2015.

XIA, X.; ZHOU, Y.; SHI, K.; ZHOU, J.; FOYER, C. H.; YU, J. Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, v. 66, n. 10, p. 2839–2856, 2015.