

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

LYVIA DE MORAES LOBATO

**AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS NUTRICIONAIS E
PARÂMETROS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS DE ALFACE
(*Lactuca sativa*) INOCULADAS COM UM CONSÓRCIO DE
MICRORGANISMOS**

VILA VELHA
2024

LYVIA DE MORAES LOBATO

**AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS NUTRICIONAIS E
PARÂMETROS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS DE ALFACE
(*Lactuca sativa*) INOCULADAS COM UM CONSÓRCIO DE
MICRORGANISMOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Vila Velha, como pré-
requisito do Programa de Pós-
graduação em Biotecnologia Vegetal,
para a obtenção do grau de Mestra
em Biotecnologia Vegetal.

VILA VELHA

2024

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

L796a Lobato, Lyvia de Moraes.
Avaliação das respostas nutricionais e parâmetros de crescimento em plantas de alface (*Lactuca sativa*) inoculadas com um consórcio de microrganismos / Lyvia de Moraes Lobato– 2024.
60 f. : il.

Orientador: Alessandro Coutinho Ramos.
Coorientadora: Amanda Azevedo Bertolazi.
Dissertação (Biotecnologia vegetal) – Universidade Vila Velha 2024.
Inclui bibliografias.

1. Biotecnologia vegetal. 2. Ecologia. 3. Sustentabilidade.
I. Ramos, Alessandro Coutinho. II. Bertolazi, Amanda Azevedo

CDD 660.603

LYVIA DE MORAES LOBATO

AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS NUTRICIONAIS E PARÂMETROS DE
CRÉSCIMENTO EM PLANTAS DE ALFACE (*Lactuca sativa*)
INOCULADAS COM UM CONSÓRCIO DE MICRORGANISMOS

Dissertação apresentada à Universidade
Vila Velha, como pré-requisito do
Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do
grau de Mestra em Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em 30 de outubro de 2024,

Banca Examinadora:




Dr. Lucas Zanchetta Passamani – (FAESA)



Dr. Carlos Eduardo Tadokoro – (UVV)



Dr. Alessandro Coutinho Ramo – (UVV)
Orientador



Dra. Amanda Azevedo Bertolazi – (UVV)
Co-orientadora

“Não fui Eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”
Josué 1:9

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, que me concedeu a oportunidade de ingressar no mestrado e me guiou ao longo dessa jornada de conhecimento e autoconhecimento.

Sou grata aos meus pais, Leônidas e Cristina. Meu pai, por compartilhar seu vasto conhecimento em agronomia, adquirido ao longo de sua vida, e minha mãe, por seu incessante incentivo aos estudos e sua disponibilidade constante para me apoiar em qualquer necessidade.

Agradeço ao meu esposo, Eraldo, que, mesmo diante dos desafios e da minha ausência em casa, me incentivou a continuar e cuidou de nossa filha com tanto carinho, sendo nosso porto seguro. Minha filha, Alice, por ter transformado completamente minha vida e me inspirado a buscar ser uma pessoa melhor, com o objetivo de ser um exemplo para ela.

Minha gratidão também se estende à minha sogra, Jacira, por me ter apresentado ao mestrado e insistido para que eu me inscrevesse, e ao meu sogro, Eraldo, por cuidar de Alice durante meus períodos em Vila Velha.

Agradeço à minha avó Ana Maria (*in memoriam*), com quem tive a sorte de morar por 20 anos. Ela me ensinou muito sobre Deus e foi um grande suporte nos meus estudos. Fico eternamente grata por seu apoio e pelas palavras encorajadoras quando fui aprovada no mestrado. Agradeço também à minha irmã Ana Paulla por todo o apoio durante este período.

Agradeço à minha Dinda Nara e ao Tio Nelson pela hospitalidade, carinho, pelas conversas acolhedoras e pelo apoio que sempre me ofereceram durante as vezes que estive em sua casa.

Meu sincero agradecimento ao meu orientador, Dr. Alessandro Coutinho, por ter aceitado ser meu orientador e por todo o apoio contínuo e conhecimento compartilhado, que foram fundamentais para a conclusão deste mestrado. Sua orientação foi essencial para meu crescimento acadêmico.

Agradeço também à minha co-orientadora, Dra. Amanda Bertolazi, cuja combinação de conhecimento e humildade é admirável e uma fonte de inspiração. Sou grata por todo o suporte que me ofereceu.

Aos meus amigos do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia – Bianca de Barros, Thielly Marvila, Elaine Cruz, Brena Souza,

Bianca do Carmo, Felipe Barros e Maria Eduarda – e, especialmente, a Flávio Alves, que me direcionou e ofereceu todo o suporte com a maior boa vontade, meu muito obrigada. Agradeço também às amigas de outros laboratórios, Clara de Marchi, Roberta Miranda, Aline Roseiro e Schirley Strafacci, pelo apoio e pelas contribuições ao longo desta trajetória.

Agradeço à FAPES (Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo) pelo apoio financeiro concedido por meio da bolsa de estudos, que foi essencial para a realização deste mestrado.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, nos laboratórios e nas disciplinas, ajudando a tornar esta jornada possível.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Segurança Alimentar e o mercado de hortaliças	13
1.2	Características Morfológicas e Nutricionais da Alface.....	15
1.3	Agricultura Sustentável e Biofertilizantes.....	18
1.4	Fungo <i>Serendipita indica</i>	20
1.5	Rizobactéria <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	21
1.6	Efeitos fisiológicos e nutricionais da inoculação de plantas com microrganismos promotores do crescimento.....	22
1.7	Potencial dos Biofertilizantes na Redução de Fertilizantes Químicos	24
2	OBJETIVO GERAL	
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1	Cultivo do fungo <i>Serendipita indica</i>	29
3.2	Cultivo da bactéria <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	29
3.3	Avaliação de compatibilidade entre o fungo <i>Serendipita indica</i> e a bactéria <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	30
3.4	Inoculação das plantas de alface com o consórcio microbiano	30
3.5	Parâmetros de crescimento das plantas	31
3.6	Determinação da taxa de colonização microbiana	32
3.7	Acúmulo de nutrientes na parte aérea e na raiz	32
3.8	Análise estatística	33
4	RESULTADOS	34
4.1	Avaliação de compatibilidade entre o fungo <i>Serendipita indica</i> e a bactéria <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	34
4.2	Parâmetros de crescimento das plantas	34
4.3	Determinação da taxa de colonização microbiana	38
4.4	Acúmulo de nutrientes na parte aérea e na raiz	40
5	DISCUSSÃO	44
6	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS	52

LISTA DE FIGURA

- Figura 1.** Consórcio microbiano atuando no microbioma vegetal.....20
- Figura 2.** Interação do fungo *Serendipita indica* (Si) com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* (Hs). Área do micélio (A) e crescimento in vitro (B) do fungo isolado (Si) e em conjunto com a bactéria (Si+Hs).....34
- Figura 3.** Peso fresco da parte aérea (A), peso seco da parte aérea (B), peso fresco da raiz (C) e peso seco da raiz (D) das plantas de alface inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* ou com o consórcio do fungo com a bactéria (Si + Hs). Os dados foram analisados por one-way ANOVA combinados com teste de Tukey.....35
- Figura 4.** Visualização do crescimento das plantas de alface. (A) Não inoculada, (B) *Serendipita indica*, (C) *Herbaspirillum seropedicae*, (D) *Serendipita indica* + *Herbaspirillum seropedicae*.....37
- Figura 5.** Microscopia de fluorescência representativas da colonização fúngica e bacteriana em raízes de plantas de alface (*Lactuca sativa*) não inoculadas (A), inoculadas com *S. indica* (B), inoculadas com *H. seropedicae* (C) e consórcio de microrganismos (D). As raízes colonizadas apresentam a presença de esporos de *S. indica* em setas pretas e a presença de *H. Seropedicae* com setasvermelhas.....39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valor da Produção, Área e Produção das principais hortaliças produzidas no Brasil14

Tabela 2. Conteúdo de água da raiz e da parte aérea das plantas de alface inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* ou com o consórcio do fungo com a bactéria (Si + Hs).....36

Tabela 3. Colonização de *S. indica* e *H. seropedicae* em plantas de alface (*Lactuca sativa*). Os tratamentos incluem: controle sem adição de microrganismos (CTRL), aplicação do fungo *S. indica* (Si), aplicação da rizobactéria *H. seropedicae* (Hs) e consórcio de *S. indica* e *H. seropedicae* (Si+Hs). Os dados foram analisados por one-way ANOVA combinado com o teste de Tukey.....38

Tabela 4. Teor de macro e micronutrientes da parte aérea das plantas de alface inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* ou com o consórcio do fungo com a bactéria (Si + Hs). Os dados foram analisados por one-way ANOVA combinados com teste de Tukey. Médias seguidas da mesma letra não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0.05$ (n= 3).....40

Tabela 5. Teor de macro e micronutrientes da raiz das plantas de alface inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* ou com o consórcio do fungo com a bactéria (Si + Hs). Os dados foram analisados por one-way ANOVA combinados com teste de Tukey. Médias seguidas da mesma letra não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0.05$ (n= 3)41

RESUMO

LOBATO, LYVIA DE MORAES, M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, outubro de 2024. **Avaliação das respostas nutricionais e parâmetros de crescimento em plantas de alface (*Lactuca sativa*) inoculadas com um consórcio de microrganismos.** Orientador: Alessandro Coutinho Ramos, e Co-orientadora: Amanda Azevedo Bertolazi.

Entre 2011 e 2022, a população mundial aumentou em 1 bilhão de pessoas, segundo a Organização das Nações Unidas (ONU). Esse crescimento acelerado da população mundial tem gerado uma série de desafios, entre os quais se destaca a necessidade de garantir a segurança alimentar para todos. Esse aumento populacional exige uma produção agrícola cada vez maior, o que tem levado ao uso intensivo de fertilizantes químicos para atender à demanda crescente. Contudo, a utilização desses fertilizantes tem sido associada a diversos malefícios, como a degradação do solo, a contaminação de recursos hídricos e impactos negativos na saúde humana. Neste contexto, este trabalho propõe a utilização de biofertilizantes como uma solução sustentável para a agricultura. Os biofertilizantes, compostos por organismos vivos que promovem o crescimento das plantas, oferecem uma série de benefícios significativos para a qualidade do solo, a fertilidade, a segurança alimentar e a economia agrícola. O fungo *Serendipita indica* e a rizobactéria *Herbaspirillum seropedicae* foram selecionados devido às suas propriedades bioestimulantes e interações positivas com as plantas hospedeiras. No entanto, ainda há uma lacuna de conhecimento sobre os efeitos do consórcio desses dois microrganismos quando utilizados em conjunto. O objetivo deste estudo é comparar os efeitos do fungo *S. indica* e da rizobactéria *H. seropedicae*, tanto isoladamente quanto em consórcio, nas respostas nutricionais e parâmetros de crescimento em plantas de alface lisa (*Lactuca sativa* var. *crispula*). As mudas de alface foram inoculadas com os microrganismos mencionados e cultivadas em casa de vegetação por 60 dias. Foram avaliados os parâmetros de crescimento como a massa fresca e seca da parte aérea e das raízes e o teor de água. Além disso, foram determinados os conteúdos de macro e micronutrientes na parte aérea e nas raízes das plantas. Em relação à compatibilidade, observou-se que a bactéria *H. seropedicae* promoveu um estímulo significativo no crescimento micelial de *Serendipita indica*. Os resultados indicaram que a utilização do consórcio microbiano proporcionou um aumento significativo no peso fresco e seco da parte aérea e das raízes, e no teor de água, assim como uma maior taxa de colonização microbiana e acúmulo superior de nutrientes, seguido pela inoculação isolada de *H. seropedicae* e, posteriormente, pelo fungo *S. indica* isolado, em comparação ao controle. Este estudo demonstra o potencial deste consórcio de microrganismos para o desenvolvimento de estratégias eficazes e ecologicamente sustentáveis para a promoção do crescimento de plantas de interesse econômico.

Palavras-chave: *Serendipita indica*; *Herbaspirillum seropedicae*; agricultura sustentável; bioestimulante; promoção do crescimento das plantas.

ABSTRACT

LOBATO, LYVIA DE MORAES, M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, outubro de 2024. **Evaluation of nutritional responses and growth parameters in lettuce plants (*Lactuca sativa*) inoculated with a microorganism consortium.** Advisor: Alessandro Coutinho Ramos, and Co-advisor: Amanda Azevedo Bertolazi.

Between 2011 and 2022, the global population increased by 1 billion people, according to the United Nations (UN). This rapid population growth has led to a series of challenges, one of the most pressing being the need to ensure food security for all. This population increase demands ever-higher agricultural production, which has driven the intensive use of chemical fertilizers to meet the growing demand. However, the use of these fertilizers has been associated with various negative effects, such as soil degradation, water resource contamination, and negative impacts on human health. In this context, this study proposes the use of biofertilizers as a sustainable solution for agriculture. Biofertilizers, composed of living organisms that promote plant growth, offer significant benefits for soil quality, fertility, food security, and agricultural economics. The fungus *Serendipita indica* and the rhizobacterium *Herbaspirillum seropedicae* were selected due to their biostimulant properties and positive interactions with host plants. However, there remains a knowledge gap regarding the effects of these two microorganisms when used in combination. The aim of this study is to compare the effects of the fungus *S. indica* and the rhizobacterium *H. seropedicae*, both individually and in consortium, on the nutritional responses and growth parameters of butterhead lettuce plants (*Lactuca sativa* var. *crispula*). Lettuce seedlings were inoculated with the mentioned microorganisms and cultivated in a greenhouse for 60 days. Growth parameters, including shoot and root fresh and dry mass, as well as water content, were evaluated. Additionally, the macro- and micronutrient content in the shoot and roots of the plants was determined. Regarding compatibility, it was observed that *H. seropedicae* significantly stimulated the mycelial growth of *Serendipita indica*. The results indicated that the use of the microbial consortium led to a significant increase in fresh and dry weight of the shoot and roots, as well as in water content, along with a higher microbial colonization rate and superior nutrient accumulation, followed by the isolated inoculation of *H. seropedicae* and, subsequently, *S. indica* alone, compared to the control. This study demonstrates the potential of this microbial consortium for developing effective and ecologically sustainable strategies for promoting the growth of economically important plants.

Keywords: *Serendipita indica*; *Herbaspirillum seropedicae*; sustainable agriculture; biostimulant; plant growth promotion.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Segurança Alimentar e o Mercado de Hortaliças

Segurança alimentar é a condição em que todos os indivíduos têm acesso a alimentos suficientes, seguros e nutritivos para satisfazer suas necessidades alimentares. Esta condição é essencial para a saúde pública e para a estabilidade social e econômica. A segurança alimentar abrange o controle de doenças transmitidas por alimentos, bem como o manuseio, preparação e armazenamento adequados dos alimentos. Em conjunto, esses aspectos asseguram a disponibilidade, o acesso, a utilização e a estabilidade dos alimentos (Walls *et al.*, 2019).

Garantir a segurança alimentar torna-se ainda mais desafiador com o crescimento populacional. As projeções mais recentes das Nações Unidas apontam que a população mundial deve alcançar 8,5 bilhões de habitantes até 2030, aumentando para 9,7 bilhões em 2050 (ONU, 2022). Este crescimento populacional acentuado, juntamente com a crescente demanda por alimentos saudáveis, requer um aumento significativo na produção agrícola para atender às necessidades de uma população em expansão. Este desafio destaca a urgência de aumentar a produtividade agrícola e promover a sustentabilidade, a fim de garantir a segurança alimentar mundial (Pandit *et al.*, 2022).

De acordo com Ahmed e Li (2023), a segurança alimentar é uma preocupação que tem implicações para a saúde pública, a agricultura e o meio ambiente. Garantir a segurança alimentar é essencial para proteger a saúde e o bem-estar dos consumidores. No entanto, o uso de fertilizantes químicos pode resultar na presença de resíduos de pesticidas, aditivos e outros contaminantes em produtos alimentares, representando riscos significativos para a saúde humana. Segundo Unnevehr (2022), a presença dessas substâncias nocivas pode acarretar efeitos adversos à saúde, incluindo toxicidade e o desenvolvimento de doenças. A relevância da segurança alimentar transcende as preocupações individuais com a saúde, abrangendo implicações econômicas e sociais mais amplas. Nos sistemas alimentares de países em desenvolvimento, a importância da segurança alimentar torna-se ainda mais evidente à medida que os países transitam de métodos tradicionais de produção alimentar para abordagens modernas.

Dada a importância da segurança alimentar para a saúde pública e o desenvolvimento econômico, essa questão está estreitamente vinculada aos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) delineados na Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável das Nações Unidas. O ODS 2, em particular, visa “acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável”. Este objetivo destaca a importância de garantir o acesso a alimentos seguros, nutritivos e em quantidade suficiente para todos os indivíduos (Perez-Escamilla, 2017). Alcançar a segurança alimentar é fundamental não apenas para erradicar a fome, mas também para promover práticas agrícolas sustentáveis que sustentem a produção de alimentos e a nutrição a longo prazo (Nguyen-Viet *et al.*, 2021).

Neste contexto, a produção de hortaliças no Brasil desempenha um papel importante na segurança alimentar e na nutrição. O Brasil é um dos principais produtores e consumidores de hortaliças no mundo, com as regiões Sudeste e Sul se destacando na produção, especialmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Paraná. Em relação ao consumo, o brasileiro tem aumentado a demanda por hortaliças devido aos benefícios para a saúde e à busca por uma alimentação mais equilibrada. Em resposta a essa tendência, a produção tem se adaptado para atender às necessidades do mercado interno (Feil *et al.*, 2020; Dorce *et al.*, 2021). Essa importância econômica é evidenciada pelo volume financeiro movimentado anualmente, estimado em cerca de R\$ 25 bilhões, ocupando uma vasta área territorial de aproximadamente 34 milhões de hectares em todo o país, desde as regiões do Norte até o Sul (Wendt, 2023). A Tabela 1 ilustra a produção de hortaliças no Brasil, destacando o valor da produção, a área cultivada e a produção das principais hortaliças do país (CNA, 2021).

Tabela 1. Valor da produção, área e produção das principais hortaliças produzidas no Brasil.

Hortaliças	Valor de Produção (R\$)	Área (Mil ha)	Produção (Mil Toneladas)
Mandioca	10.887.676	1.234,5	18.205,1 (PA 21%, PR 19%, SP 12%, MG 5%, AM 4%)
Tomate	6.043.302	52,1	3.378,9 (GO 29,3%, SP 21,4%, MG 11%, BA 6,1%)
Batata-inglesa	5.483.311	117,3	3.767,6 (MG 32,6%, PR 17,6%, RS 12,3%, SC 8,1%)

Cebola	2.551.766	47,5	1.494,5 (SC 28%, BA 21,9%, PE 19,8%, MG 9,1%)
Alface	1.761.064	20,1	703,5 (SP 42%, PR 11,4%, MG 9,8%, RS 6,6%)
Alho	1.010.317	19,2	162,9 (MG 38,1%, GO 24,6%, RS 15,4%, BA 10%)
Batata-doce	1.001.537	15,8	889,4 (SP 18,5%, RS 18%, MG 11,6%, PR 9,4%)
Cenoura	477.589	17,8	814,7 (MG 62,1%, PR 14,6%, SP 8,1%, BA 4,6%)
Outros*	4.639.465	63,7	3.972,3 (SP 25,2%, MG 11,8%, ES 9,7%, PR 6%)
Total	34.437.711	1.628	33.111

Fontes: Produção Agrícola Municipal, 2020 - IBGE; Produção: Alface, cenoura e outros (Censo Agropecuário, 2017 - IBGE); Área: Alface e cenoura (CNA, 2016); Valor da Produção: Alface e cenoura (Censo Agropecuário - IBGE, corrigido pelo IG-DI, FGV); Valor da Produção: Outros (Censo Agropecuário, 2017 - IBGE e Produção Agrícola Municipal, 2020 - IBGE). Elaboração: Diretoria Técnica, CNA.

Os dados refletem a diversidade e a capacidade produtiva do Brasil em relação às hortaliças. A alface (*Lactuca sativa*) é uma hortaliça de grande importância econômica e nutricional, e apesar de ocupar uma área menor em comparação com outras culturas como mandioca e batata-inglesa, a alface possui um valor de produção significativo (CNA, 2021). Este valor de produção reflete a alta demanda por alface no mercado brasileiro, especialmente devido à crescente conscientização sobre alimentação saudável e dietas ricas em vegetais (Zuffo *et al.*, 2020).

A produção de hortaliças no estado do Espírito Santo desempenha um papel significativo na economia local. O município de Vargem Alta, por exemplo, destaca-se como um polo produtor, movimentando cerca de R\$ 16 milhões por ano com a participação de aproximadamente mil produtores. Um dos principais atrativos dessa atividade agrícola é a possibilidade de cultivar alface e outras hortaliças durante todo o ano, independentemente das estações, o que favorece tanto a oferta contínua quanto a adaptação às demandas do mercado (Agazeta, 2022).

1.2 Características Morfológicas e Nutricionais da Alface

Conforme Pinto *et al.* (2015), as características morfológicas e nutricionais constituem aspectos fundamentais da alface (*Lactuca sativa*), afetando diretamente sua qualidade, aceitação pelos consumidores e valor global. A ampla variedade de atributos morfológicos da alface, como formato,

tamanho, cor, textura e estrutura das folhas, é determinante para seu apelo visual e versatilidade culinária.

Essa diversidade morfológica é refletida na classificação dos cultivares de alface, que são organizados em grupos distintos com base em suas características físicas. As cultivares de alface apresentam variações no tamanho das folhas, formação da cabeça e hábitos de crescimento, contribuindo para a diversidade de variedades de alface disponíveis para cultivo (Miceli *et al.*, 2019). Existem diversos tipos de cultivares de alface, incluindo alface manteiga, alface americana, alface de folha solta, alface de sementes oleaginosas, alface romana e alface de talo (Zhang *et al.*, 2017).

Para que essas diversas variedades de alface mantenham suas características morfológicas e nutricionais ideais, é fundamental fornecer os nutrientes necessários para seu crescimento e desenvolvimento. A alface, sendo um vegetal folhoso, necessita de nutrientes específicos para prosperar e fornecer um valor nutricional ideal aos consumidores. O nitrogênio é um nutriente vegetal essencial e um fator determinante para o crescimento e desenvolvimento das plantas cultivadas. Este é o nutriente fertilizante mais importante para a produção de alface, influenciando significativamente o crescimento vegetativo, a produtividade das folhas e sementes, bem como o teor de fibras e proteínas na planta. O fósforo desempenha um papel fundamental na divisão celular, na formação de sementes e na maturação das culturas, além de melhorar a qualidade das sementes. O potássio, por sua vez, aumenta a capacidade de retenção de água dos tecidos vegetais, a suculência dos vegetais e contribui para a manutenção das boas condições da alface por um período mais prolongado. O boro é essencial para o crescimento de novas células, sendo um elemento-chave no desenvolvimento da planta (Shahinul *et al.*, 2020; Tanaka *et al.*, 1984; Katyal; Randhawa, 1983).

Além dos nutrientes, os fatores ambientais como a luz também desempenham um papel crucial nas variações fenotípicas observadas nos cultivares de alface. Os cultivares dentro de uma mesma categoria também podem exibir variações fenotípicas significativas, como a diversidade de cor. A maioria dos cultivares de alface apresenta folhas verdes, embora alguns possam ter folhas vermelhas. A coloração vermelha resulta do acúmulo de flavonoides, que não apenas beneficiam a aptidão das plantas, mas também

melhoram o valor nutricional para os consumidores (Zhang *et al.*, 2017). A qualidade da luz pode influenciar os níveis de fitoquímicos na alface, como carotenoides, clorofilas, tocoferóis e compostos fenólicos. Esses componentes são essenciais e contribuem significativamente para o valor nutricional da alface (Baslam *et al.*, 2013).

O perfil nutricional da alface é enriquecido por substâncias biologicamente ativas, como ácido ascórbico, compostos fenólicos, vitaminas A e K, folatos e carotenoides, todas essenciais para a saúde humana (Kurubas *et al.*, 2019). Os múltiplos fatores que afetam o crescimento e a nutrição da alface são influenciados por diversas práticas ambientais e de manejo agrícola. A qualidade nutricional da alface, abrangendo o seu conteúdo mineral e os níveis de nitratos, pode ser substancialmente alterada por elementos como as propriedades do solo, a intensidade e duração da exposição à luz, a temperatura, a época do cultivo, as práticas culturais adotadas e a aplicação de fertilizantes (Mou, 2009; Pinto *et al.*, 2015). Além disso, a presença de micronutrientes específicos, como o selênio, pode ter efeitos variados no crescimento e na saúde das plantas. O selênio em doses baixas pode atuar como antioxidante e promover o crescimento das plantas, enquanto em níveis mais elevados pode diminuir a produtividade, pois o acúmulo de selênio no germoplasma da alface pode impactar as atividades das enzimas antioxidantes e posteriormente afetar o crescimento das plantas (Ramos *et al.*, 2010).

O cultivo intensivo do solo, aliado às mudanças climáticas, exerce efeitos deletérios sobre a qualidade dos solos. Esses fatores resultam em estresse hídrico, que pode diminuir a biomassa aérea da alface, retardar o crescimento da extremidade radicular e reduzir a abundância de grupos microbianos no solo, prejudicando, assim, o desenvolvimento da alface (Hefner *et al.*, 2024). A aplicação excessiva de fertilizantes nitrogenados pode resultar em concentrações elevadas de nitratos na alface, especialmente nas partes comestíveis. Este fenômeno, associado à poluição ambiental, pode comprometer a qualidade das plantas, acarretando efeitos negativos tanto para a saúde humana quanto para o meio ambiente (Liu *et al.*, 2014).

1.3 Agricultura Sustentável e Biofertilizantes

Diante dos desafios crescentes relacionados à segurança alimentar e à conservação ambiental, a agricultura sustentável emerge como uma solução essencial. Diversos estudos destacam a relevância das práticas agrícolas sustentáveis na mitigação de problemas como as mudanças climáticas, a gestão hídrica e a viabilidade econômica (Crowder; Reganold, 2015). Adicionalmente, os resultados advindos da agricultura sustentável incluem o aumento da produtividade, a redução do uso de pesticidas e a melhoria dos balanços de carbono (Pretty, 2008). Para promover o aumento da produtividade agrícola, é essencial priorizar a gestão sustentável e o uso eficiente dos recursos hídricos e energéticos, visando alcançar um crescimento econômico sustentável e garantir os meios de subsistência (Nhemachena *et al.*, 2020).

Uma das abordagens mais promissoras dentro do paradigma da agricultura sustentável é a agricultura regenerativa. A agricultura regenerativa é uma abordagem à agricultura que se centra na restauração e aprimoramento da saúde dos ecossistemas, promovendo a biodiversidade, melhorando a qualidade do solo e aumentando o sequestro de carbono (Khangura *et al.*, 2023). Ao enfatizar práticas como o plantio direto, culturas de cobertura, rotação de culturas, sistemas agroflorestais e o uso de insumos orgânicos, a agricultura regenerativa busca revitalizar a saúde do solo e promover funções naturais, tais como a filtragem da água, a criação de habitats e a segurança alimentar (Rehberger *et al.*, 2023).

Complementando essas práticas, os biofertilizantes desempenham um papel fundamental na agricultura sustentável, oferecendo uma alternativa ecológica aos fertilizantes químicos, além de melhorar a qualidade do solo e a produtividade das culturas. Esses biofertilizantes contêm microrganismos benéficos, como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e fungos micorrízicos, que estão se tornando cada vez mais importantes nas práticas agrícolas modernas (Nosheen; Ajami; Song, 2021). Eles desempenham um papel essencial na melhoria da disponibilidade de nutrientes para as plantas, aprimorando a estrutura do solo e promovendo o crescimento das plantas (Zahid *et al.*, 2015), além de reduzirem a dependência de fertilizantes sintéticos (Mehata *et al.*, 2023).

O uso de consórcios microbianos em biofertilizantes não apenas reduz a necessidade de fertilizantes químicos, mas também eleva a atividade microbiológica do solo, contribuindo para a saúde geral do solo (Janardhan *et al.*, 2022). A aplicação de consórcios de microrganismos na agricultura oferece várias vantagens em relação ao uso de cepas únicas. Um benefício significativo é a divisão do trabalho entre diferentes estirpes dentro de um consórcio, permitindo que uma gama mais ampla de funções seja desempenhada simultaneamente. Esses consórcios podem incluir cepas com o mesmo modo de ação, mas que são tolerantes a diversas condições ambientais ou genótipos de plantas, aumentando assim sua adaptabilidade e eficácia (Compant *et al.*, 2019).

Essa diversidade presente nos consórcios permite a execução eficiente de múltiplas tarefas complexas. Além disso, os consórcios microbianos demonstram uma maior robustez frente a perturbações e flutuações ambientais, devido ao equilíbrio dinâmico nas interações entre as células, resultando em maior adaptabilidade e estabilidade (Jia *et al.*, 2016). As interações dentro dos consórcios podem gerar efeitos sinérgicos, em que a atuação conjunta de múltiplas cepas resulta em um desempenho superior em comparação ao uso de cepas isoladas. Essa sinergia pode se manifestar de diversas formas, como o aumento na formação de biofilmes, maior resistência a agentes antimicrobianos e aprimoramento das atividades metabólicas (Burmolle *et al.*, 2006). Ademais, os consórcios de microrganismos podem oferecer uma gama mais ampla de funções e capacidades em comparação com cepas únicas, especialmente em ambientes complexos como a rizosfera. A criação de consórcios microbianos funcionalmente diversificados pode aumentar o fornecimento de funções essenciais, contribuindo para a melhoria da saúde das plantas e a supressão de doenças (Hu *et al.*, 2016).

A Figura 1 demonstra como fatores ambientais, manejo agrícola e aplicação microbiana interagem para influenciar a diversidade, funcionalidade e colonização do microbioma vegetal, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de estratégias que visem modular o microbioma de forma direcionada.

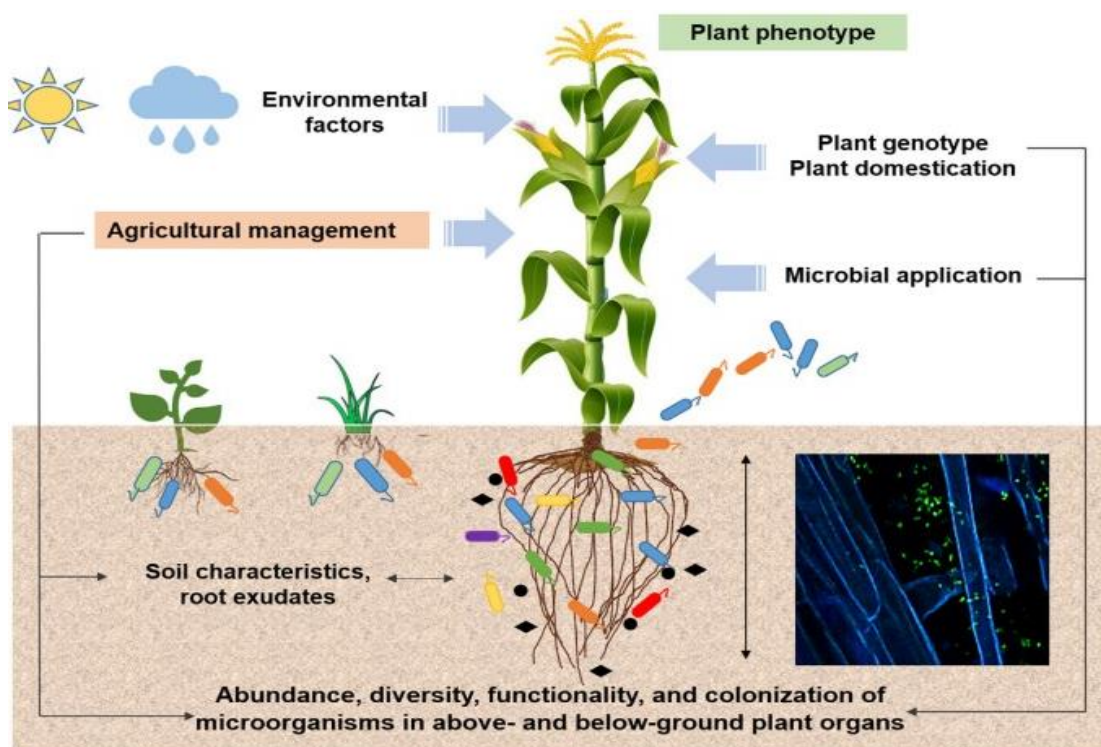


Figura 1. Consórcio microbiano atuando no microbioma vegetal (Compant *et al.*, 2019).

1.4 Fungo *Serendipita indica*

Dentro do contexto da agricultura sustentável, a utilização de microrganismos específicos tem se destacado pelo seu potencial em promover o crescimento das plantas e melhorar a saúde do solo. *Serendipita indica*, anteriormente conhecido como *Piriformospora indica*, é um fungo endofítico de raiz pertencente à família *Serendipitaceae* e é benéfico para as plantas. Este fungo tem sido amplamente estudado por seu potencial como microrganismo promotor do crescimento de plantas, devido à sua capacidade de colonizar uma vasta gama de espécies vegetais, conferindo benefícios como crescimento aprimorado e maior resistência (Sharma *et al.*, 2021; Latz *et al.*, 2018).

A investigação de Dias *et al.*, (2020), demonstrou que as condições de crescimento do *Serendipita indica* durante sua fase de vida livre podem influenciar a sua eficácia como microrganismo promotor do crescimento de plantas, sendo que a disponibilidade de carbono desempenha um papel crucial na regulação de seus fenótipos. Além disso, Pérez-Alonso *et al.*, (2020), relataram que a relação simbiótica entre plantas e *Serendipita indica* tem atraído considerável interesse, com este fungo sendo desenvolvido como um

sistema modelo para o estudo de interações benéficas entre plantas e fungos.

Conforme relatado por Youssef *et al.* (2020), a versatilidade do *Serendipita indica* vai além da promoção do crescimento vegetal, abrangendo também a mitigação de riscos associados a poluentes ambientais e micotoxinas, evidenciando seu potencial em diversas aplicações agrícolas e ambientais. Essas capacidades multifuncionais destacam a importância de continuar explorando e integrando o *Serendipita indica* nas práticas agrícolas sustentáveis.

1.5 Rizobactéria *Herbaspirillum seropedicae*

Assim como *Serendipita indica*, *Herbaspirillum seropedicae* é outro microrganismo de grande interesse para a agricultura sustentável. *Herbaspirillum seropedicae* é uma bactéria endofítica diazotrófica reconhecida por sua capacidade de colonizar os espaços intercelulares de diversas gramíneas de relevância econômica, como arroz, trigo, cana-de-açúcar e milho (Pankievicz *et al.*, 2016; Rosconi *et al.*, 2013). Essa bactéria tem sido amplamente estudada por seu papel na promoção do crescimento das plantas, aumentando a produtividade e melhorando a fixação de nitrogênio em associação com espécies vegetais (Pankievicz *et al.*, 2016; Aquino *et al.*, 2015; Breidenbach; Pump; Dumont, 2016).

Foi descoberto que *Herbaspirillum seropedicae* produz sideróforos como as serobactinas, que desempenham um papel essencial na aquisição de ferro e nas interações planta-microrganismo (Rosconi *et al.*, 2013; Kem; Butler, 2015). A capacidade dessa bactéria de facilitar a absorção de nutrientes e promover a saúde das plantas destaca sua importância nas práticas agrícolas modernas. A pesquisa de Santos, Desoignies e Rigobelo (2022), revelaram que *Herbaspirillum seropedicae* pode influenciar positivamente o conteúdo nutricional das plantas. Estudos indicam aumentos significativos nos níveis de nutrientes da parte aérea, incluindo nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, após a inoculação com essa bactéria. Além disso, Da Silva Lima *et al.*, (2014) verificaram que a bactéria altera os perfis de exsudatos radiculares, resultando em maior colonização das raízes, crescimento vegetal e aumento do rendimento de grãos.

Considerando a potencial interação entre *Serendipita indica* e

Herbaspirillum seropedicae, é fundamental reconhecer a complexidade das associações entre planta e microrganismo. Diversos estudos têm demonstrado que ambos os microrganismos influenciam o metabolismo, o crescimento e a absorção de nutrientes das plantas, sugerindo que sua presença conjunta pode ter um impacto sinérgico na saúde e produtividade das plantas. No entanto, ainda não foram encontrados estudos que investiguem a interação dos dois em conjunto.

1.6 Efeitos Fisiológicos e Nutricionais da Inoculação de Plantas com Microrganismos Promotores do Crescimento

A inoculação de plantas com microrganismos benéficos, como fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, pode melhorar significativamente o crescimento vegetal e a absorção de nutrientes. Esses microrganismos facilitam a solubilização de nutrientes como fosfatos, aumentam a produção de fitohormônios e melhoram a eficiência na absorção de nutrientes, resultando em notáveis aumentos na produção de biomassa e no rendimento de grãos em culturas agrícolas (Fernandes *et al.*, 2021; Roesti *et al.*, 2006). Vergara *et al.*, (2018) observaram melhoria direta na absorção de nutrientes pelas plantas, bem como a proteção contra estresses abióticos, contribuindo significativamente para os efeitos promotores de crescimento desses microrganismos.

Dando continuidade à investigação sobre os benefícios da inoculação com microrganismos benéficos, Chamkhi *et al.*, (2023) investigaram o uso de um consórcio de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas para melhorar o desenvolvimento da fava e mitigar o estresse por deficiência de fósforo. O estudo demonstrou que a inoculação das plantas de feijão-fava com o consórcio resultou em melhores parâmetros de crescimento, maior biomassa das raízes e da parte aérea, além de aprimoramentos em critérios fisiológicos, como o teor de clorofila e a absorção de fósforo em condições de baixa disponibilidade desse nutriente.

A exploração do potencial de microrganismos promotores de crescimento continua em diversos contextos agrícolas. Flores-Duarte *et al.*, (2022) investigaram o aumento do crescimento e adaptação de leguminosas a solos estuarinos degradados utilizando a bactéria *Pseudomonas sp.* como

endófitos de nódulos. O estudo demonstra que as plantas inoculadas com o consórcio de cepas apresentaram maior eficiência no fotossistema II, ótima assimilação de carbono e água, melhor utilização de energia pelo aparato fotoquímico e um aumento significativo no conteúdo total de clorofila. A crescente evidência dos benefícios de consórcios microbianos em várias condições agrícolas é reforçada por uma meta-análise realizada por Liu, Mei e Salles (2023). Este estudo compara o desempenho de inoculações de espécie única e de consórcios no crescimento das plantas e na remediação da poluição. Os resultados revelam que as inoculações de consórcios superam as de cepas únicas tanto no aumento do crescimento das plantas quanto na eficiência da remediação, indicando benefícios fisiológicos significativos associados à inoculação de consórcios.

Esses benefícios são ainda mais evidentes quando se considera a aplicação prática dos consórcios microbianos em condições de estresse ambiental. Saleem *et al.* (2021) investigaram os efeitos de bactérias promotoras de crescimento de plantas, tanto individualmente quanto em consórcios, nos mecanismos fisiológicos e enzimáticos que conferem tolerância à seca no milho. O estudo destaca que os consórcios microbianos regulam a absorção de água, o desempenho fotossintético e os metabólitos de estresse para minimizar os danos induzidos pela seca, evidenciando os benefícios fisiológicos proporcionados pela inoculação em consórcios. Esses estudos sobre os consórcios microbianos ressaltam a importância de práticas agrícolas que não só aumentam a resiliência das plantas a condições de estresse, mas também melhoram o desempenho fisiológico e a produtividade.

Além dos benefícios em termos de tolerância ao estresse, a inoculação microbiana também pode contribuir para melhorar a qualidade nutricional das culturas. Nesse contexto, a biofortificação de plantas emerge como uma estratégia complementar e fundamental para combater a desnutrição global e melhorar a saúde humana, ao aumentar o conteúdo de nutrientes das culturas alimentares básicas. O objetivo da biofortificação é elevar as concentrações biodisponíveis de vitaminas e minerais essenciais nas plantas, combatendo deficiências nutricionais e promovendo uma melhor nutrição (Jha; Warkentin, 2020).

A biofortificação tem grande importância em contextos agrícolas e de

saúde pública, com um foco especial na biofortificação de leguminosas, sublinhando a necessidade crescente de aprimorar o perfil nutricional dessas culturas através de estratégias específicas de biofortificação (Jha; Warkentin, 2020). Roriz et al. (2020) analisaram o papel das bactérias promotoras do crescimento vegetal na biofortificação de culturas importantes, incluindo leguminosas. O estudo destaca as bactérias promotoras do crescimento vegetal como uma abordagem promissora para melhorar a qualidade nutricional das culturas, enfatizando a relevância das interações microbianas na agricultura sustentável. Upadhyay, Singh e Khan (2022) investigaram a interação entre bactérias e plantas solubilizadoras de zinco, com ênfase na biofortificação de zinco mediada por bactérias. O estudo destaca os papéis fundamentais da microbiota endofítica no desenvolvimento, na aptidão e na diversificação das plantas, enfatizando o potencial das bactérias promotoras do crescimento vegetal na promoção do crescimento vegetal e na biofortificação.

1.7 Potencial dos Biofertilizantes na Redução de Fertilizantes Químicos

Além da biofortificação, os microrganismos benéficos também desempenham um papel crucial na redução da dependência de fertilizantes químicos tradicionais. Para comparar a eficácia dos consórcios de microrganismos com a dos fertilizantes químicos tradicionais, estudos como o de McCarty e Ledesma-Amaro (2019) ressaltam as vantagens dos consórcios microbianos sobre as monoculturas, incluindo a divisão do trabalho, a organização espacial e a robustez às perturbações. Isso sugere que os consórcios microbianos podem proporcionar benefícios exclusivos em relação aos fertilizantes químicos tradicionais, especialmente no aumento do crescimento das plantas e na absorção de nutrientes.

Ademais, Santoyo *et al.* (2021) discutem os benefícios dos consórcios microbianos na estimulação do crescimento das plantas, enfatizando que a interação entre múltiplos microrganismos pode gerar resultados aditivos ou sinérgicos. Isso sugere que os consórcios microbianos têm o potencial de superar os fertilizantes químicos tradicionais na promoção do crescimento das plantas e na melhoria da qualidade das culturas. Continuando nessa linha de pesquisa, Yadav *et al.* (2022) demonstraram que um consórcio microbiano

composto por *Bacillus sp.* e fungos micorrízicos arbusculares supera os fertilizantes químicos no aumento da absorção de nutrientes e no rendimento do trigo. Este estudo sugere que os consórcios microbianos podem ser mais eficazes do que os fertilizantes químicos tradicionais na promoção do crescimento das plantas e na melhoria da fertilidade do solo. O uso de biofertilizantes que contêm um consórcio de microrganismos oferece vantagens ambientais e econômicas significativas.

Esses biofertilizantes, enriquecidos com microrganismos benéficos, representam uma solução sustentável para aumentar a fertilidade do solo e a produtividade das culturas. Além disso, eles reduzem a dependência de fertilizantes químicos, proporcionando benefícios tanto para o meio ambiente quanto para a economia (Rokhmah *et al.*, 2023). Os biofertilizantes, ao diminuir a necessidade de fertilizantes artificiais, promovem a sustentabilidade ambiental ao mitigar os efeitos adversos ligados aos insumos químicos, como a degradação do solo e a contaminação da água (Hapsoh *et al.*, 2024).

Além dos benefícios ambientais, os biofertilizantes oferecem vantagens econômicas notáveis, destacadas pela capacidade de aumentar a produtividade e a consistência no rendimento das culturas. Isso resulta em maior lucratividade para os agricultores e na redução dos custos relacionados às práticas agrícolas tradicionais (Zambrano-Mendoza *et al.*, 2021). Adicionalmente, o emprego de biofertilizantes pode resultar em benefícios econômicos de longo prazo, ao elevar a fertilidade do solo, diminuir a demanda por insumos custosos e fomentar práticas agrícolas sustentáveis que fortalecem a produtividade a longo prazo (Mosa *et al.*, 2016).

Segundo Nai e Meyer (2018), A aplicação em grande escala de biofertilizantes contendo um consórcio de microrganismos demanda um planejamento estratégico cuidadoso e estratégias de implementação eficazes para otimizar seus benefícios na agricultura. Uma possível abordagem seria aproveitar os avanços tecnológicos para agilizar a transição paradigmática na microbiologia rumo a estudos sistemáticos de cultivo conjunto em grande escala envolvendo diversos microrganismos. Aproveitando esses avanços, Ben Said e Or (2017), sugerem desenvolver e conduzir estudos que investiguem as interações e sinergias entre os diversos microrganismos

presentes no consórcio, melhorando sua eficácia na melhoria da fertilidade do solo e no estímulo ao crescimento das plantas. Além disso, a ideia de ecologia microbiana sintética, ressalta o potencial de manipulação de habitats para consórcios microbianos modulares, o que facilita o design de processos biológicos escaláveis para aplicação em larga escala.

A aplicação de biofertilizantes contendo um consórcio de microrganismos tem importantes implicações práticas para a agricultura sustentável e a preservação ambiental. Ao explorar as sinergias entre os microrganismos do consórcio, os biofertilizantes têm o potencial de elevar a fertilidade do solo, aumentar a disponibilidade de nutrientes e estimular o crescimento das plantas de maneira abrangente e eficaz (Aasfar *et al.*, 2021). Uma aplicação prática da utilização de consórcios de microrganismos em biofertilizantes reside na capacidade de aprimorar a nutrição das culturas e a consistência do rendimento, por meio da produção de substâncias biologicamente ativas e do estímulo a microrganismos benéficos na região da rizosfera (Mahanty *et al.*, 2017).

Ao garantir que os microrganismos no biofertilizante alcançam e colonizam a zona da rizosfera da planta, os produtores podem estabelecer uma simbiose que intensifica a absorção de nutrientes, aprimora a composição do solo e impulsiona o desenvolvimento e a eficiência produtiva das plantas (Ye *et al.*, 2020). Essa relação entre plantas e microrganismos desempenha um papel importante na otimização dos benefícios dos biofertilizantes na agricultura sustentável. Outro aspecto prático da aplicação de consórcios de microrganismos em biofertilizantes é sua capacidade de elevar a fertilidade do solo e a excelência das colheitas, enquanto minimiza o impacto ambiental das práticas agrícolas usuais (Smirnova *et al.*, 2023).

No Brasil, a produção de inoculantes microbianos, especialmente aqueles que utilizam bactérias promotoras de crescimento de plantas, tem mostrado um crescimento expressivo nos últimos anos. Análises recentes sobre patentes nesse setor indicam um aumento significativo no interesse por formulações derivadas de microrganismos, que apresentam aplicações promissoras em biofertilização e controle biológico de doenças. Esse avanço reflete a crescente demanda por práticas agrícolas sustentáveis e pela necessidade de alternativas que diminuam a dependência de fertilizantes

químicos, cujo uso excessivo é associado a impactos ambientais negativos. Esses fatores, aliados a um mercado global em expansão para produtos de origem biológica, têm impulsionado o investimento e o desenvolvimento tecnológico na área de inoculantes microbianos (Oliveira *et al.*, 2022).

Segundo a Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII, 2024), o mercado brasileiro de inoculantes cresceu significativamente, com vendas que aumentaram de 20,2 milhões de doses em 2009 para 141,1 milhões em 2023, um crescimento de cerca de 598%. Em 2023, foram comercializados 14 milhões de litros ou quilos de inoculantes, gerando um faturamento de R\$ 441,8 milhões. Esse expressivo avanço reflete a expansão e relevância do setor de inoculantes no Brasil, consolidando-se como uma oportunidade estratégica de investimento para empresas públicas e privadas, tanto nacionais quanto internacionais.

2 OBJETIVO GERAL

Comparar os efeitos do fungo *Serendipita indica* e da rizobactéria *Herbaspirillum seropedicae*, tanto isoladamente quanto em consórcio, nas respostas nutricionais e parâmetros de crescimento em plantas de alface lisa.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Relatar as possíveis variações nos parâmetros de crescimento das plantas de alface, tais como matéria fresca e seca das raízes e da parte aérea, bem como o conteúdo de água, quando inoculadas com o fungo *Serendipita indica* e a bactéria *Herbaspirillum seropedicae*, tanto isoladamente quanto em consórcio.

Analisar microscopicamente a quantificação da colonização radicular e calcular a efetividade da colonização nas raízes das plantas de alface inoculadas com o fungo *Serendipita indica* e a bactéria *Herbaspirillum seropedicae*, tanto isoladamente quanto em consórcio;

Verificar o conteúdo dos nutrientes da parte aérea e das raízes de plantas de alface inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica* e a bactéria *Herbaspirillum seropedicae*, tanto isoladamente quanto em consórcio.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Cultivo do fungo *Serendipita indica*

O fungo endofítico *Serendipita indica*, originalmente isolado na Índia pelo pesquisador Ajit Varma, foi doado à Professora Cristina Cruz, da Universidade de Lisboa, nossa colaboradora. Posteriormente, essas culturas foram repassadas ao Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LMAB) da Universidade Vila Velha, Brasil e estão armazenadas na coleção de culturas microbiológicas do laboratório.

As culturas estoques foram propagadas conforme descrito por Varma *et al.* (1999). Para crescimento do *S. indica* em meio sólido, discos de ágar (1 cm diâmetro) foram removidos das bordas de colônias fúngicas em crescimento e inoculados em placas de Petri contendo 15 mL de meio Kaefer (KM): 2 g L⁻¹ de peptona, 1 g L⁻¹ de extrato de levedura, 20 g L⁻¹ de glicose, 50 mL L⁻¹ de solução de macronutrientes (12 g L⁻¹ de NaNO₃, 10,4 g L⁻¹ de KCl, 10,4 g L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O e 30,4 g L⁻¹ de KH₂PO₄), 10 mL de solução de micronutrientes (H₃BO₃ 13,3 µM, MnCl₂.4H₂O 7 µM, ZnSO₄.7H₂O 2 µM, CuSO₄.5 H₂O 0,5 µM, (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O 0,086 µM), 1 mL L⁻¹ de Fe-EDTA e 1 mL L⁻¹ de solução de vitaminas (0,1 g L⁻¹ de tiamina, 0,04 g L⁻¹ de glicina, 0,01 g L⁻¹ de piridoxina e 0,01 g L⁻¹ de ácido nicotínico). O pH do meio foi ajustado para 6,5 antes da esterilização a 121 °C por 20 min. As placas foram mantidas em incubadora BOD, a 28 °C por 10 dias conforme descrito por Das *et al.* (2012).

3.2 Cultivo da bactéria *Herbaspirillum seropedicae*

A bactéria *Herbaspirillum seropedicae* (cepa RAM 10 com inserção do gene GFP pelo transposon Tn5) foi doada pelo professor Fábio Olivares, da UENF, e encontra-se mantida na coleção de culturas microbiológicas do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LMAB) da Universidade Vila Velha, Brasil. As culturas estoques foram propagadas em meio DYGS sólido contendo: 2 g L⁻¹ de glicose, 1,5 g L⁻¹ de peptona, 2 g L⁻¹ de extrato de levedura, 5 mL L⁻¹ de K₂HPO₄ 10 % (m/v), 5 mL L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O

10 % (m/v), 1,5 g L⁻¹ de ácido glutâmico, 20 mL L⁻¹ de ácido málico 10 % (m/v) e 20 g L⁻¹ de ágar (pH 6,0).

Para cultivo da bactéria em meio líquido, uma alçada de 10 µL do inóculo bacteriano foram inoculados em frascos Erlenmeyer (250 mL) contendo 100 mL do meio DYGS líquido. Os frascos foram mantidos em incubadora Shaker a 28 °C e 150 rpm por 24 h.

3.3 Avaliação de compatibilidade entre o fungo *Serendipita indica* e a bactéria *Herbaspirillum seropedicae*

A avaliação da interação entre *Serendipita indica* e *Herbaspirillum seropedicae* foi conduzida seguindo o protocolo descrito por del Barrio-Duque *et al.* (2019). Para determinar o efeito da bactéria sobre *S. indica*, o crescimento do fungo em interação com a bactéria foi expresso em termos da área do micélio em placas de ágar.

Para isso, a bactéria foi pré-cultivada por 24 h em DYGS sólido e o fungo por 10 dias em KM sólido. Para avaliar a interação entre *H. seropedicae* e *S. indica*, a bactéria foi inoculada, com auxílio de uma alça, em 1 cm² no centro de uma placa de Petri (9 cm diâmetro) contendo 15 mL de meio KM sólido. Em seguida, um disco de ágar (11 mm diâmetro) foi removido das bordas de colônias ativas do fungo e colocado invertido sobre a bactéria inoculada. Como controle, o fungo *S. indica* foi cultivado sozinho. Todas as co-culturas foram replicadas quatro vezes. As placas foram incubadas em BOD, a 28 °C, por 12 dias. A interação entre *S. indica* e *H. seropedicae* foi determinada através medida da área do micélio do fungo, utilizando o software ImageJ.

3.4 Inoculação das plantas de alface com o consórcio microbiano

O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), composto por quatro tratamentos: controle (não inoculado), *Serendipita indica* (Si), *Herbaspirillum seropedicae* (Hs) e *Serendipita indica* e *Herbaspirillum seropedicae* (Si + Hs) (n=10). As sementes de alface (*Lactuca sativa*) foram lavadas em água destilada, desinfestadas em hipoclorito de sódio 2,5 % por 5 min e em álcool etílico 70 % por 2 min, posteriormente foram lavadas 3x em água deionizada e embebidas durante 30 min em água. Em

seguida, a germinação foi feita em bandejas plásticas contendo substrato composto por areia quartzo 12/20 previamente autoclavadas a 121°C, durante 60 minutos por três vezes, com um intervalo de 24 horas entre cada uma delas. O processo de germinação das sementes foi realizado em câmara de crescimento (16/8h luz/escuro), com intensidade luminosa de 350 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de 25 \pm 1 °C e 70 % umidade, durante 7 dias. Após o período de germinação as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 1 L, contendo substrato previamente autoclavado composto por areia:terra vegetal na proporção 1:1 (v/v).

A inoculação dos microrganismos foi realizada no momento do transplante. Para inoculação do *S. indica*, 3 discos de ágar (1 cm diâmetro) foram removidos das bordas de colônias fúngicas em crescimento e posicionados em contato com a raiz. Para inoculação da *H. seropedicae*, a bactéria foi cultivada em meio DYGS líquido e após 24 h, 1 mL do inóculo bacteriano (OD 1,0 a 600 nm) foi aplicado nas raízes. O tratamento *S. indica* + *H. seropedicae* recebeu os inóculos fúngico e bacteriano em conjunto. As plântulas não inoculadas receberam a mesma quantidade utilizada de inóculo de cada microrganismo, porém estes foram previamente autoclavados. As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante 60 dias e foram regadas, três vezes por semana, com solução de Clark modificada (1/2 força), pH 5,5-5,6 (Clark, 1975).

3.5 Parâmetros de crescimento das plantas

Aos 60 dias após a inoculação (dai), a parte aérea e a raiz das plantas foram separadas e pesadas em balança analítica de precisão (AUW220D-Shimadzu) para determinar a massa fresca da raiz (MFR) (g) e massa fresca da parte aérea (folha/caule) (MFPA) (g). Em seguida, a parte aérea e as raízes das plantas foram acondicionadas em sacos de papel individualmente, identificados e secos por 72 h em estufa microprocessada de circulação forçada de ar (Q314M-Quimis) a 60 °C. Por meio de pesagem em balança analítica de precisão (AUW220D-Shimadzu), foi determinada a massa seca da raiz (MSR) (g), massa seca da parte aérea (folha/caule) (MSPA) (g) e a relação raiz/parte aérea (g). O conteúdo de água na parte aérea e na raiz das plantas foi determinado a partir da seguinte fórmula: conteúdo de água = peso fresco (g)

– peso seco (g).

3.6 Determinação da taxa de colonização microbiana

A avaliação da colonização microbiana seguiu o método descrito por Phillips e Hayman (1970), com algumas modificações. As raízes foram lavadas em água deionizada, clareadas em KOH 10 % em banho-maria a 90 °C por 24 h e lavadas novamente em água deionizada. 20 segmentos de raízes, com aproximadamente 1 cm de comprimento foram escolhidos aleatoriamente e examinados em microscópio de fluorescência. A presença dos esporos fúngicos, os quais possuem autofluorescência, ou das colônias de bactéria (as quais são marcadas com GFP) dentro da raiz foram utilizadas como representação da colonização. A porcentagem de colonização foi determinada a partir da seguinte fórmula: Porcentagem de colonização da raiz = [(número de segmentos colonizados / número total de segmentos analisados) x 100]. A efetividade da colonização foi calculada a partir da seguinte fórmula: efetividade de colonização (%) = [(Peso seco total da parte aérea das plantas inoculadas) - (Peso seco total da parte aérea das plantas não inoculadas) / (Peso seco total da parte aérea das plantas não inoculadas)] x 100.

3.7 Acúmulo de nutrientes na parte aérea e na raiz

As amostras da parte aérea e das raízes das plantas dos respectivos tratamentos foram lavadas em água corrente e água deionizada, e em seguida, secas em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, por um período de 72 h, e pesadas. Após secagem as amostras foram moídas e o material resultante foi acondicionado em recipientes de plástico hermético visando um melhor acondicionamento do mesmo, para as posteriores análises químicas. Os nutrientes P, K, Ca, Mg, S, Na, Fe, Zn, Mn, Cu, Cr, Al, Ba e Ni foram quantificados por ICP-OES, após digestão com HNO₃ concentrado e H₂O₂ em sistema de digestão aberta. Condições do ICP: gás plasma 8,0 L min⁻¹, gás a auxiliar 0,70 L min⁻¹ e gás carreador 0,55 L min⁻¹ (Peters, 2005).

3.8 Análise estatística

Os dados foram analisados estatisticamente por one-way ANOVA. Quando verificado que houve diferença significativa entre os tratamentos, os valores médios foram comparados pelo teste de Tukey em $p \leq 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 7.0, com um nível de significância de 5 % para testar as hipóteses.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação de compatibilidade entre o fungo *Serendipita indica* e a bactéria *Herbaspirillum seropedicae*

Avaliou-se o efeito da bactéria *Herbaspirillum seropedicae* sobre o crescimento do fungo *Serendipita indica* pela medição da área de crescimento radial do micélio em placas de Petri contendo meio sólido Kaefer modificado (Hilli; Kafer, 2001). A inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* resultou em um estímulo significativo no crescimento micelial de *Serendipita indica*, com uma área média de $31,13 \pm 0,66 \text{ cm}^2$, em comparação ao tratamento controle sem a presença da bactéria, que apresentou uma área média de $19,90 \pm 0,58 \text{ cm}^2$. Esta interação positiva resultou em um aumento de 56% no crescimento do micélio do consórcio em relação ao controle (Figura 2).

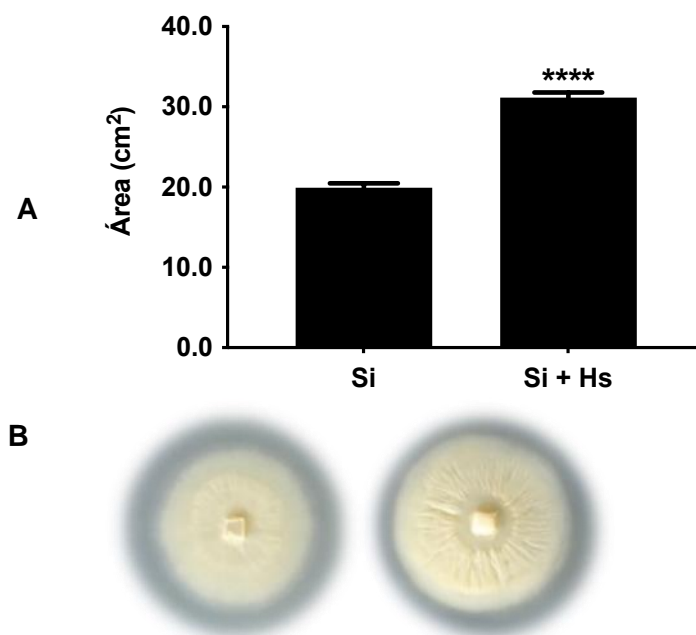


Figura 2. Interação do fungo *Serendipita indica* (Si) com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* (Hs). Área do micélio (A) e crescimento in vitro (B) do fungo isolado (Si) e em conjunto com a bactéria (Si+Hs). ****Representa diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($p < 0.0001$).

4.2 Parâmetros de crescimento das plantas

Os resultados obtidos nas avaliações dos pesos seco e fresco da parte

aérea e das raízes das plantas de alface (*Lactuca sativa*) estão apresentados na Figura 3. No que se refere ao peso fresco da parte aérea (Figura 3A) e das raízes (Figura 3C), as plantas tratadas com *Herbaspirillum seropedicae* (Hs) e com a combinação dos dois microrganismos (Si + Hs) demonstraram um aumento significativo em comparação ao controle. O tratamento com o consórcio de microrganismos (Si + Hs) resultou em um aumento de 56% no peso fresco da parte aérea em relação ao controle, enquanto o incremento no peso fresco das raízes foi de 65% em relação ao controle.

Quando analisados de forma isolada, o tratamento com *H. seropedicae* resultou em um aumento significativo tanto no peso fresco da parte aérea quanto das raízes, em comparação ao tratamento com *S. indica* (Figuras 3A e 3C). Enquanto *H. seropedicae* isolada promoveu um incremento significativo no peso fresco, *S. indica* isolado não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

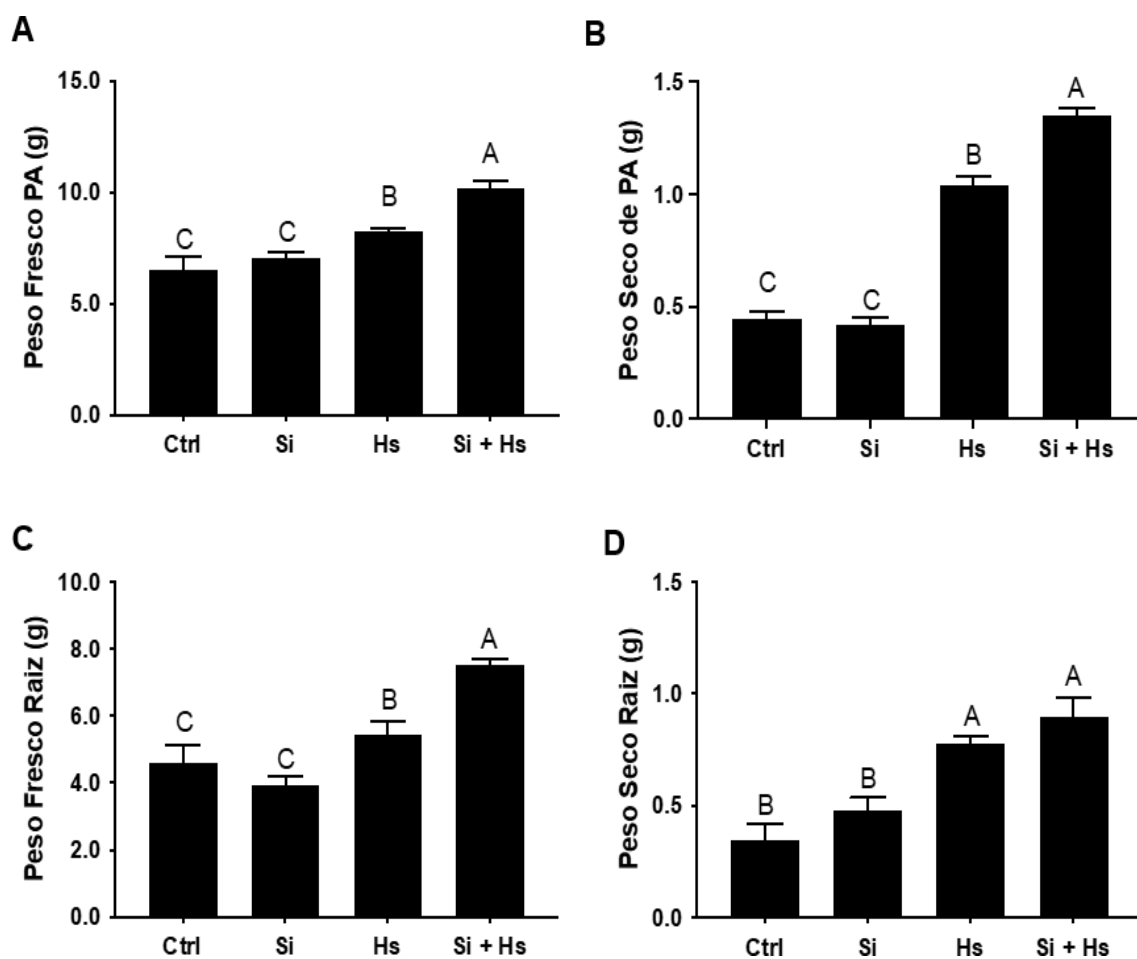


Figura 3. Peso fresco da parte aérea (A), peso seco da parte aérea (B), peso fresco da raiz (C)

e peso seco da raiz (D) das plantas de alface inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* ou com o consórcio do fungo com a bactéria (Si + Hs). Os dados foram analisados por one-way ANOVA combinados com teste de Tukey. Médias seguidas da mesma letra não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0.05$ ($n = 3$). Ctrl = Controle, Si = *Serendipita indica*, Hs = *Herbaspirillum seropedicae*.

Em relação ao peso seco da parte aérea (Figura 3B) e das raízes (Figura 3D), as plantas tratadas com *Herbaspirillum seropedicae* (Hs) e com o consórcio de *Serendipita indica* + *H. seropedicae* (Si + Hs) apresentaram um aumento significativo em comparação ao controle. Em contraste, o tratamento com *Serendipita indica* isolado não resultou em diferença estatisticamente significativa.

Especificamente, o tratamento com o consórcio de microrganismos (Si + Hs) proporcionou um aumento de 206% no peso seco da parte aérea em relação ao controle. Da mesma forma, o peso seco das raízes apresentou um incremento de 157% em relação ao controle quando as plantas foram tratadas com a combinação dos dois microrganismos.

Os resultados apresentados na Tabela 2 demonstram o impacto da inoculação com *Serendipita indica* (Si), *Herbaspirillum seropedicae* (Hs), e o consórcio desses microrganismos (Si + Hs) no conteúdo de água das raízes e da parte aérea das plantas de alface. Observou-se que o tratamento com *S. indica* isoladamente não apresentou diferença significativa no conteúdo de água das raízes em comparação com o controle.

Tabela 2. Conteúdo de água da raiz e da parte aérea das plantas de alface inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* ou com o consórcio do fungo com a bactéria (Si + Hs). Si = *Serendipita indica*, Hs = *Herbaspirillum seropedicae*.

Tratamentos	Parte Aérea	Raiz
Controle	6,07 c	3,93 c
<i>S.indica</i>	6,68 bc	3,58 c
<i>H. seropedicae</i>	7,20 b	4,58 b
Si + Hs	8,83 a	6,54 a

A inoculação isolada com *Herbaspirillum seropedicae* resultou em um aumento significativo no conteúdo de água das plantas. Entretanto, o tratamento com o consórcio de *Serendipita indica* e *H. seropedicae* (Si + Hs) apresentou os maiores valores de conteúdo de água, tanto nas raízes quanto na parte aérea.

A Figura 4 ilustra o crescimento das plantas de alface (*Lactuca sativa*) sob diferentes tratamentos microbiológicos, destacando-se a variabilidade no acúmulo de biomassa conforme o tipo de inoculação aplicada. As plantas do tratamento controle, que não foram inoculadas, apresentaram um crescimento restrito, evidenciado pela menor acumulação de biomassa na parte aérea. Em contraste, as plantas tratadas com *Serendipita indica* exibiram um incremento de crescimento em comparação ao controle, embora tal aumento, apesar de significativo, tenha sido inferior aos resultados obtidos com os demais tratamentos.

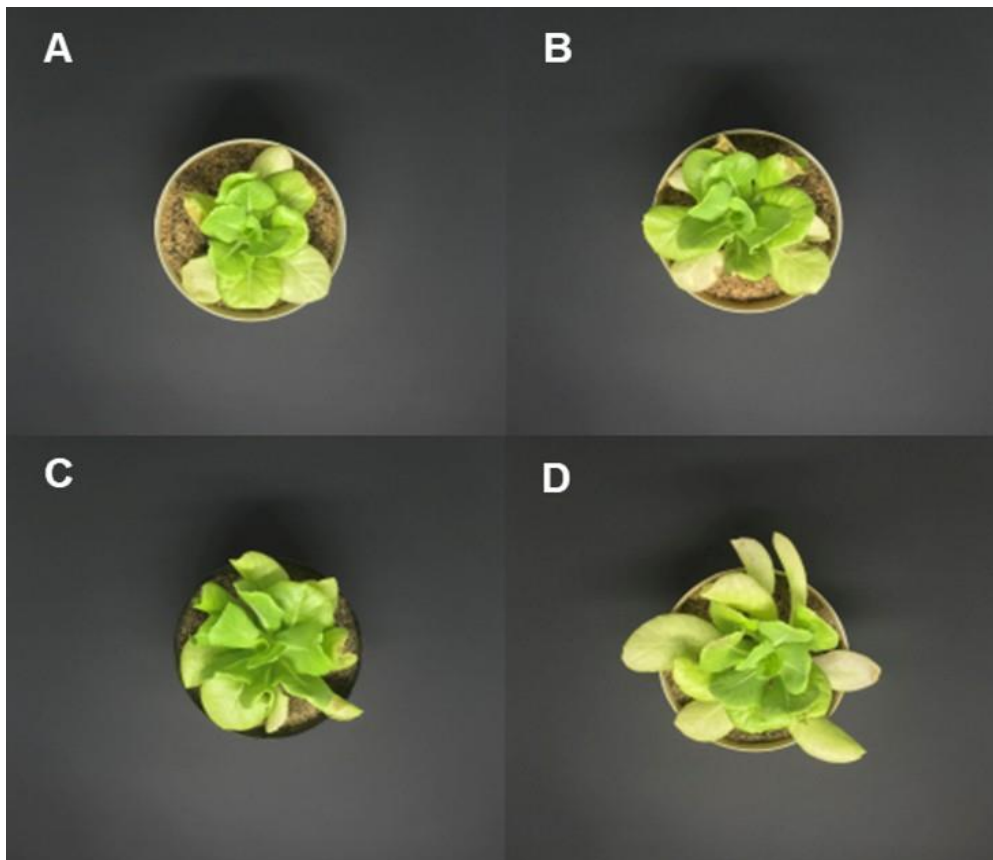


Figura 4. Visualização do crescimento das plantas de alface. (A) Não inoculada, (B) *Serendipita indica*, (C) *Herbaspirillum seropedicae*, (D) *Serendipita indica* + *Herbaspirillum seropedicae*.

Já as plantas inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae* demonstraram um crescimento substancialmente maior, com um notável aumento de biomassa. Ademais, o tratamento que combinou *S. indica* e *H. seropedicae* resultou no crescimento mais expressivo entre todos os tratamentos testados.

4.3 Determinação da taxa de colonização microbiana

Após 60 dias de inoculação, a colonização do fungo *S. indica* e da bactéria *H. seropedicae* nas raízes de alface foi avaliada nos diferentes tratamentos (Tabela 3, Figura 5). No tratamento com o consórcio microbiano, *S. indica* e/ou *H. seropedicae* foram observados em todos os fragmentos de raízes examinados, sendo este o tratamento que apresentou a maior taxa de colonização, que atingiu 100%. O tratamento com *S. indica* isoladamente apresentou 95% de colonização, assim como o tratamento com *H. seropedicae* isoladamente, conforme demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3. Colonização de *S. indica* e *H. seropedicae* em plantas de alface (*Lactuca sativa*). Os tratamentos incluem: controle sem adição de microrganismos (CTRL), aplicação do fungo *S. indica* (Si), aplicação da rizobactéria *H. seropedicae* (Hs) e consórcio de *S. indica* e *H. seropedicae* (Si+Hs). Os dados foram analisados por one-way ANOVA combinado com o teste de Tukey. Letras diferentes entre os tratamentos indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tratamentos	Controle	Si	Hs	Si + Hs
Colonização (%)	-	95	95	100
Efetividade de Colonização (%)	-	0,06 ± 8,74 c	1,35 ± 0,28 b	2,05 ± 0,31 a

Em relação à efetividade de colonização, que reflete a quantidade relativa de microrganismos presentes nas raízes, os dados indicaram uma diferença significativa entre os tratamentos. O consórcio de *S. indica* e *H. seropedicae* apresentou a maior efetividade de colonização, com um valor de $2,05 \pm 0,31$. Em contraste, a aplicação isolada de *H. seropedicae* resultou em uma efetividade de $1,35 \pm 0,28$, enquanto *S. indica* isolado teve a menor efetividade, com $0,06 \pm 8,74$.

Além dos dados quantitativos de colonização apresentados na Tabela 3, as imagens de microscopia de fluorescência (Figura 5) fornecem uma visualização detalhada da distribuição e da intensidade da colonização de *S. indica* e *H. seropedicae* nas raízes de alface. Na Figura 5A, correspondente ao controle sem inoculação, não se observam sinais de colonização, confirmando a ausência de contaminação cruzada.

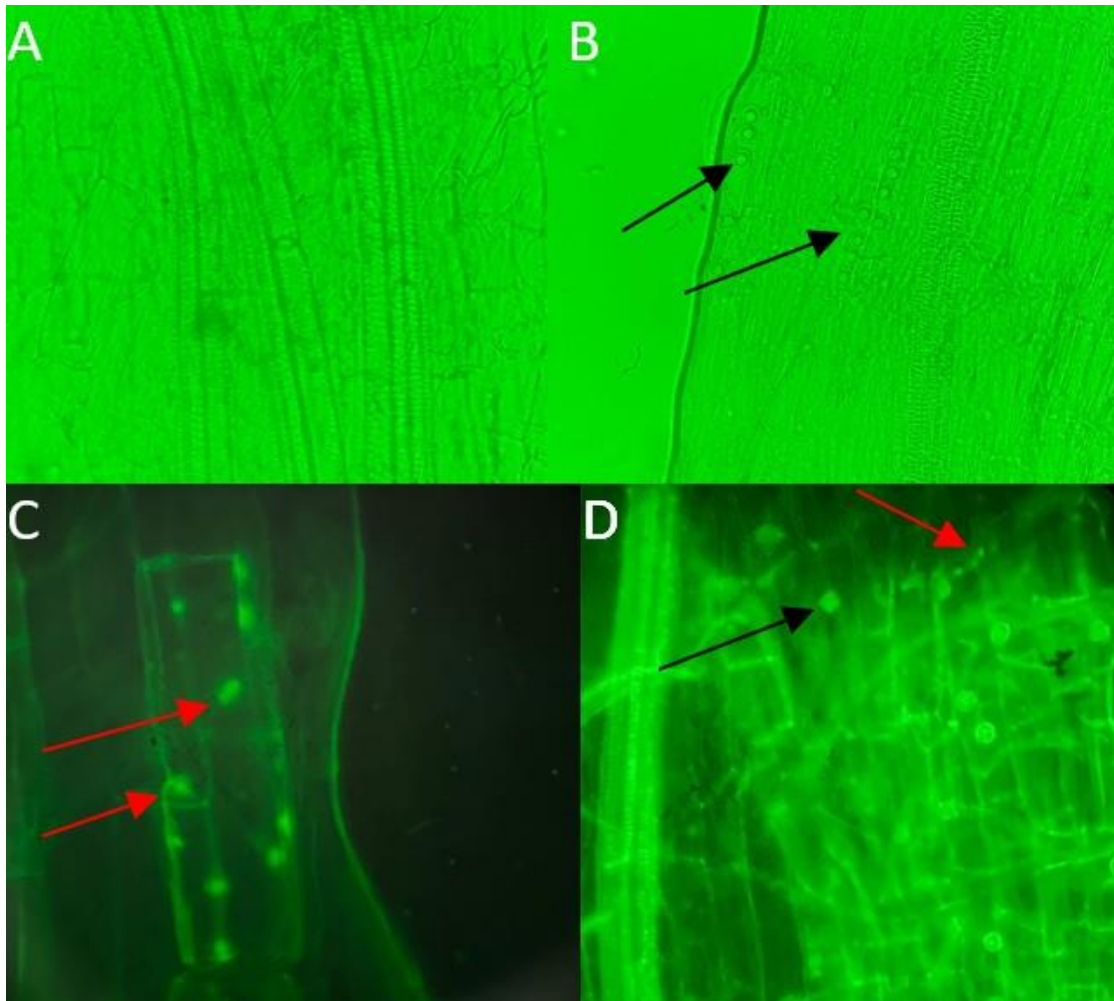


Figura 5. Microscopia de fluorescência representativas da colonização fúngica e bacteriana em raízes de plantas de alface (*Lactuca sativa*) não inoculadas (A), inoculadas com *S. indica* (B), inoculadas com *H. seropedicae* (C) e consórcio de microrganismos (D). As raízes colonizadas apresentam a presença de esporos de *S. indica* em setas pretas e a presença de *H. seropedicae* com setas vermelhas.

Nas raízes inoculadas apenas com *S. indica* (Figura 5B), observou-se a presença de esporos fúngicos, indicados pelas setas pretas, distribuídos ao

longo das raízes. De maneira semelhante, as raízes inoculadas com *H. seropedicae* (Figura 5C) mostraram uma colonização significativa, como evidenciado pelas setas vermelhas que indicam a presença da bactéria. Por fim, a Figura 5D, que representa o consórcio dos dois microrganismos, revela uma colonização intensa e abrangente. As setas pretas e vermelhas indicam a presença conjunta de *S. indica* e *H. seropedicae* nos mesmos fragmentos de raízes, confirmando a sinergia entre o fungo e a bactéria neste tratamento.

4.4 Acúmulo de nutrientes na parte aérea e na raiz

A análise do conteúdo de nutrientes na parte aérea das plantas revelou um aumento significativo em todos os elementos avaliados no tratamento com o consórcio de *Serendipita indica* e *Herbaspirillum seropedicae*, em comparação com o controle (Tabela 4).

Tabela 4. Conteúdo de macro e micronutrientes da parte aérea das plantas de alface inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* ou com o consórcio do fungo com a bactéria (Si + Hs). Os dados foram analisados por one-way ANOVA combinados com teste de Tukey. Médias seguidas da mesma letra não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0.05$ ($n = 3$). Si = *Serendipita indica*, Hs = *Herbaspirillum seropedicae*.

	Tratamentos			
	Controle	<i>S. indica</i>	<i>H. seropedicae</i>	Si + Hs
Macronutrientes	g kg⁻¹			
P	0,35 B	0,24 B	0,74 A	0,88 A
K	14,36 C	9,99 D	21,77 B	33,59 A
Ca	3,64 C	2,84 C	8,63 B	10,68 A
Mg	0,99 C	0,74 C	2,8 B	3,61 A
Na	0,27 C	0,22 C	0,71 B	1,11 A
S	1,02 B	0,81 B	1,98 A	2,26 A
Micronutrientes	Mg kg⁻¹			
Ni	1,43 C	0,93 C	2,93 B	4,40 A
Cu	1,86 C	1,38 C	3,76 B	5,11 A
Zn	10,87 B	7,63 B	22,02 A	26,38 A
Cr	0,97 B	0,61 B	2,34 A	2,96 A
Fe	231,53 B	156,99 C	553,07 A	608,77 A
Mn	148,33 C	135,71 C	186,98 B	387,81 A
Al	308,79 B	295,70 B	870,29 A	960,24 A
Ba	6,98 C	5,10 C	13,68 B	17,29 A

O consórcio de *Serendipita indica* e *Herbaspirillum seropedicae* resultou em aumentos significativos nos teores de potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na), níquel (Ni), cobre (Cu), manganês (Mn) e bário (Ba), em comparação com o tratamento com *Herbaspirillum seropedicae* isolado. Para os demais nutrientes avaliados, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 4).

Ao comparar a inoculação com *Serendipita indica* isolado e com *Herbaspirillum seropedicae* isolado, observou-se que a inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* resultou em aumentos significativos em todos os nutrientes avaliados, destacando-se em relação ao tratamento com *Serendipita indica* isolado.

O tratamento com *Serendipita indica* isolado não apresentou diferenças significativas em relação ao controle para a maioria dos nutrientes avaliados. No entanto, alguns elementos, como potássio (K) e ferro (Fe), mostraram concentrações significativamente menores em comparação ao controle.

A Tabela 5 apresenta os conteúdos de macro e micronutrientes nas raízes das plantas de alface, que foram inoculadas com o fungo *Serendipita indica* (Si), com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* (Hs) ou com o consórcio de ambos (Si + Hs). Os dados demonstram variações significativas no impacto dos diferentes tratamentos sobre a disponibilidade de nutrientes essenciais nas raízes das plantas de alface.

Tabela 5. Conteúdo de macro e micronutrientes da raiz das plantas de alface inoculadas ou não com o fungo *Serendipita indica*, com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* ou com o consórcio do fungo com a bactéria (Si + Hs). Os dados foram analisados por one-way ANOVA combinados com teste de Tukey. Médias seguidas da mesma letra não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0.05$ ($n = 3$). Ctrl = Controle, Si = *Serendipita indica*, Hs = *Herbaspirillum seropedicae*.

	Tratamentos			
	Controle	<i>S. indica</i>	<i>H. seropedicae</i>	Si + Hs
Macronutrientes	g kg⁻¹			
P	0,21 A	0,24 A	0,31 A	0,34 A
K	6,68 A	6,87 A	6,70 A	4,36 B
Ca	1,27 B	1,27 B	1,98 A	2,28 A
Mg	1,59 C	1,79 C	3,11 A	2,62 B

Na	0,92 B	1,09 B	2,69 A	2,76 A
S	0,67 B	0,70 B	1,02 A	0,93 A
Micronutrientes	mg kg⁻¹			
Ni	1,67 C	1,73 C	4,21 B	5,59 A
Cu	2,69 B	2,93 B	4,69 A	4,61 A
Zn	30,95 A	24,51 B	26,99 B	18,09 C
Cr	1,97 C	1,97 C	4,51 B	8,93 A
Fe	815,08 B	799,05 B	1789,13 A	1625,46 A
Mn	34,98 C	69,21 A	34,40 C	56,67 B
Al	2536,38 C	2029,78 D	4791,29 A	3668,62 B
Ba	6,73 C	6,69 B	13,69 A	13,81 A

O tratamento com o consórcio apresentou aumentos significativos em relação ao controle para a maioria dos nutrientes avaliados. No entanto, o teor de fósforo (P) não diferiu significativamente em comparação ao controle, enquanto o teor de zinco (Zn) foi significativamente menor tanto em relação ao controle quanto aos tratamentos com os microrganismos isolados.

O tratamento com *Herbaspirillum seropedicae* isolado não apresentou aumentos significativos nos teores de fósforo (P), potássio (K) e manganês (Mn) nas raízes das plantas de alface em comparação com o controle. Observou-se, ainda, que o teor de zinco (Zn) foi significativamente menor no tratamento com *H. seropedicae* em relação ao controle. Para os demais nutrientes analisados, os resultados demonstraram aumentos significativos em comparação com o controle.

O consórcio entre *Serendipita indica* e *Herbaspirillum seropedicae* apresentou aumento significativo nos teores de níquel (Ni), cromo (Cr) e manganês (Mn) em comparação com *H. seropedicae* isolada. Por outro lado, a bactéria isolada resultou em aumentos significativos nos teores de potássio (K), magnésio (Mg), zinco (Zn) e alumínio (Al) em relação ao consórcio. Para os demais nutrientes analisados, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

O tratamento com *Serendipita indica* isolado não apresentou diferenças significativas na maioria dos nutrientes analisados. No entanto, os teores de

zinco (Zn) e alumínio (Al) foram significativamente menores em relação ao controle. O bário (Ba) mostrou um aumento significativo em comparação com o controle, e o manganês (Mn) apresentou a maior diferença significativa entre todos os tratamentos, destacando-se nesse parâmetro.

5 DISCUSSÃO

Microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV) têm um papel fundamental na agricultura, favorecendo o desenvolvimento das plantas e aumentando a produtividade das culturas. Embora a maior parte dos estudos tenha investigado os impactos de microrganismos de forma isolada, pesquisas recentes indicam que consórcios microbianos, compostos por dois ou mais microrganismos, podem resultar em efeitos aditivos ou sinérgicos, proporcionando benefícios superiores às plantas. Esses efeitos sinérgicos são atribuídos à capacidade dos diferentes microrganismos de realizar uma variedade de funções na rizosfera, desde a solubilização de nutrientes até a modulação hormonal (Santoyo *et al.*, 2021).

Serendipita indica é um fungo extensivamente pesquisado devido à sua capacidade de formar associações benéficas com diversos hospedeiros vegetais. Este fungo não apenas estimula o crescimento das plantas, mas também confere resistência a estresses abióticos e bióticos, além de melhorar as propriedades do solo, especialmente em ambientes contaminados com metais pesados. Seus mecanismos de ação incluem interações complexas com fitohormônios, metabólitos e a regulação da expressão gênica, resultando na otimização da absorção de nutrientes e água (Saleem; Sekara; Pokluda, 2022). Este fungo se destaca por sua capacidade de otimizar a aquisição de nutrientes pelas plantas. Estudos indicam que esse fungo aumenta a disponibilidade de nutrientes essenciais, particularmente fósforo, ao induzir a expressão de genes relacionados aos transportadores de fosfato nas plantas hospedeiras (Beltayef *et al.*, 2023). Além disso, compostos orgânicos voláteis produzidos por *S. indica* têm sido associados à promoção do crescimento vegetal, atuando por meio de vias de sinalização hormonal, como as de auxina e citocinina, evidenciando uma interação complexa entre o fungo e as redes hormonais das plantas (Venneman *et al.*, 2020).

Já *Herbaspirillum seropedicae* é uma bactéria endofítica amplamente reconhecida por seu papel como microrganismo promotor de crescimento vegetal. Seus efeitos são atribuídos a múltiplos mecanismos, como a fixação biológica de nitrogênio, produção de fitohormônios e a modulação das respostas das plantas a estresses. Um dos principais mecanismos de ação de *H. seropedicae* é sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, colonizando

tecidos internos das plantas e fornecendo nitrogênio de maneira direta, o que é essencial para seu crescimento e desenvolvimento (Pankiewicz *et al.*, 2015; Roesch *et al.*, 2007). Além disso, a produção de ácido indol-3-acético (IAA), um fitohormônio crucial para o desenvolvimento radicular e o crescimento geral das plantas, é outro mecanismo importante pelo qual essa bactéria atua (Pedrosa *et al.*, 2011).

Com base nas funções observadas desses dois microrganismos e nos resultados obtidos neste estudo, sugere-se que *S. indica* e *H. seropedicae* apresentam um potencial sinérgico. As funções do fungo complementam as da bactéria, resultando em efeitos superiores no crescimento e desenvolvimento das plantas, quando comparados ao uso isolado de cada microrganismo.

No presente experimento, a inoculação de alface com o consórcio entre *S. indica* e *H. seropedicae* resultou em um aumento significativo nos parâmetros de biomassa. Especificamente, observou-se um incremento de até 56% no peso fresco da parte aérea e 65% no peso fresco das raízes em comparação ao controle. Os aumentos no peso seco foram ainda mais expressivos, com um acréscimo de 206% na parte aérea e 157% nas raízes. Esses resultados indicam que o consórcio microbiano é altamente eficaz na promoção do crescimento de alface, superando os efeitos observados com os microrganismos isolados. Por exemplo, Oliveira *et al.* (2023b) relataram que a inoculação de alface com *Bacillus subtilis* em sistemas hidropônicos provocou aumentos de até 34% no peso fresco e 51% no peso seco das raízes, evidenciando o potencial de diferentes microrganismos na promoção do crescimento vegetal, embora com variações na magnitude dos efeitos.

Além disso, Kitwetch *et al.* (2023) relataram que a inoculação de alface com *Streptomyces thermocarboxydus* S3, em solução nutritiva de concentração plena, resultou em um aumento moderado no peso fresco das plantas, atingindo 51,95 g em comparação a 49,01 g nas plantas não inoculadas. No entanto, quando as plantas foram cultivadas em uma solução de meia concentração de nutrientes, a inoculação mostrou-se ainda mais eficaz, mesmo com a redução geral no peso fresco dos brotos e raízes. As plantas inoculadas alcançaram 31,97 g, enquanto as não inoculadas apresentaram apenas 21,58 g, evidenciando o impacto positivo da inoculação em condições de menor disponibilidade de nutrientes.

O estudo de Carril *et al.* (2021) demonstrou que a inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* em raízes de trigo promoveu um aumento de 25% na biomassa radicular em comparação com as raízes do tratamento controle. Além disso, o crescimento das comunidades endofíticas derivadas de sementes foi significativamente estimulado quando cultivadas em meio M9 suplementado com extratos de raízes, tanto de plantas controle quanto inoculadas. Embora as comunidades endofíticas isoladas das raízes controle e inoculadas tenham exibido padrões de crescimento semelhantes em seus respectivos extratos, o aumento relativo no crescimento das comunidades isoladas das raízes controle foi significativamente maior do que o das comunidades das raízes inoculadas, 12 horas após a incubação. Esses resultados sugerem que a inoculação com *H. seropedicae* não só estimula o crescimento das raízes de trigo, mas também modula o ambiente metabólico radicular, especialmente em relação ao metabolismo do triptofano e suas vias catabólicas associadas à produção de AIA e outros metabólitos.

Como destacado por Iriti *et al.* (2019), um dos mecanismos pelos quais os MPCV promovem o aumento da biomassa vegetal é através da melhoria na absorção de nutrientes. Microrganismos como *H. seropedicae* podem solubilizar nutrientes do solo, tornando-os mais acessíveis para absorção pelas plantas. Além disso, a produção de substâncias promotoras do crescimento, como o ácido indol-3-acético (IAA), também pode estimular o desenvolvimento das plantas, promovendo o alongamento e a divisão celular, o que resulta no aumento da biomassa.

O estudo conduzido por Irineu (2022) demonstrou que, oito dias após a inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*, as plântulas de milho apresentaram um aumento expressivo na biomassa radicular, com incrementos de 233% na massa fresca e 253% na massa seca, assim como na biomassa da parte aérea, com aumentos de 249% na massa fresca e 264% na massa seca. Além disso, observou-se um incremento no conteúdo de clorofila e no desenvolvimento geral das plantas. Em relação à regulação hormonal, a interação com *H. seropedicae* resultou na modulação da expressão de genes envolvidos no metabolismo de hormônios, incluindo ácido indolacético (AIA), ácido abscísico (ABA), brassinosteróides, etileno, ácido salicílico, ácido jasmônico, citocinina e giberelina, modulando a produção e

atividade de hormônios essenciais para o crescimento e desenvolvimento vegetal.

Os resultados deste estudo demonstraram que a inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* (Hs) e o consórcio de *Serendipita indica* (Si) e *H. seropedicae* (Si + Hs) impactaram significativamente o teor de água nas plantas de alface. Em contraste, a inoculação com *S. indica* isoladamente não resultou em diferença significativa no teor de água, sugerindo uma resposta específica da alface à inoculação com o fungo. No entanto, estudos realizados em outras espécies vegetais, como o arroz, indicam que o mesmo fungo, *S. indica*, pode apresentar resultados distintos.

Conforme relatado por Bertolazi *et al.* (2019), em um estudo comparativo realizado com plantas de arroz, a inoculação com *Serendipita indica*, anteriormente classificada como *Piriformospora indica*, resultou em um aumento significativo no teor de água na parte aérea, tanto em plantas do tipo selvagem (WT) quanto em plantas geneticamente modificadas (AVP), com incrementos de 31,04% e 23,77%, respectivamente. Isso sugere que o efeito do fungo pode variar conforme a espécie vegetal, evidenciando a importância do contexto específico na interação planta-microrganismo.

Por meio da microscopia de fluorescência, foi possível observar que os métodos de inoculação empregados resultaram em uma colonização eficiente em todos os tratamentos analisados. O tratamento com o consórcio microbiano apresentou a maior taxa de colonização, com ambos os microrganismos, *Serendipita indica* e *Herbaspirillum seropedicae*, observados em todos os fragmentos de raízes examinados. Quando utilizados isoladamente, tanto *S. indica* quanto *H. seropedicae* também demonstraram alta taxa de colonização, alcançando 95% cada. As imagens de fluorescência confirmam esses achados, evidenciando uma distribuição uniforme e intensa da colonização nas raízes inoculadas.

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Monteiro *et al.* (2008), que, ao utilizarem microscopia de fluorescência confocal em raízes de milho, observaram a progressão da colonização por cepas de *H. seropedicae*. Trinta minutos após a inoculação, foram identificados aglomerados densos da cepa RAM4, com maior concentração de bactérias nos espaços intercelulares e na emergência dos pelos radiculares, sugerindo que essas áreas funcionam

como vias de entrada para a bactéria. Embora a cepa RAM4 tenha se fixado rapidamente na superfície radicular, não foi observada colonização interna nesse estágio. No entanto, após 24 horas, as bactérias começaram a invadir os tecidos internos, com distribuição progressiva no córtex, endoderme e xilema. A colonização aumentou substancialmente até 72 horas após a inoculação, evidenciando a rapidez com que *H. seropedicae* penetra e coloniza os tecidos vasculares das raízes de milho.

Segundo Barbier e Damron (2016), o uso de marcação com proteína fluorescente verde (GFP) permite o monitoramento em tempo real da colonização bacteriana e da interação com os tecidos vegetais, sendo essencial para a compreensão dos mecanismos que promovem o crescimento das plantas. Além disso, o desenvolvimento de diversos vetores de proteínas fluorescentes expandiu as capacidades da microscopia de fluorescência em estudos microbianos, incluindo microrganismos envolvidos na promoção do crescimento vegetal.

A inoculação das plantas de alface com o consórcio de *Serendipita indica* e *Herbaspirillum seropedicae* promoveu um aumento significativo no acúmulo de diversos nutrientes na parte aérea e nas raízes das plantas, quando comparado aos tratamentos isolados e ao controle.

Especificamente, na parte aérea, o consórcio resultou em teores elevados de K, Ca, Mg, Na, Ni, Cu, Mn e Ba, em relação a todos os tratamentos. Nas raízes, observou-se que o consórcio, assim como *H. seropedicae* isolado, aumentou significativamente os teores de Ca, Na, S, Cu, Fe e Ba. Esses resultados demonstram a eficácia do consórcio microbiano em melhorar a nutrição das plantas de alface, proporcionando um aumento expressivo de nutrientes essenciais em ambas as partes da planta. Comparando com o estudo de Oliveira *et al.* (2023a), que avaliaram os efeitos de diferentes métodos de inoculação de *Azospirillum brasilense* em alface e rúcula em sistema hidropônico, observam-se algumas semelhanças, como um maior acúmulo de Cu, Fe e Mn na parte aérea das plantas de alface e rúcula com todos os métodos de inoculação de *A. brasilense*.

Os resultados apresentados por Bai *et al.* (2024), demonstram que a inoculação com *B. velezensis* SAAS-63 teve um impacto significativo no

acúmulo de nutrientes em alface, variando conforme as condições de disponibilidade de nutrientes. Em condições de deficiência nutricional, foi observado que os macronutrientes foram acumulados em maiores quantidades nas raízes, enquanto nas folhas os níveis foram relativamente baixos. No entanto, a inoculação com *B. velezensis* SAAS-63 reverteu esse padrão, resultando em uma diminuição significativa dos teores de macronutrientes nas raízes (N, P e K diminuíram em 89,11%, 34,58% e 49,56%, respectivamente), enquanto os conteúdos nas folhas aumentaram significativamente (N, P e K aumentaram em 120,31%, 19,75% e 10,47%, respectivamente).

Esse comportamento foi consistente com o acúmulo de micronutrientes, em que, em condições de deficiência nutricional, os teores de Ca, Mn e Zn nas raízes inoculadas diminuíram, mas aumentaram nas folhas. Em contraste, sob condições suficientes de nutrientes, a inoculação com *B. velezensis* SAAS-63 reduziu significativamente o acúmulo de macronutrientes nas raízes e promoveu um aumento desses nutrientes nas folhas, destacando a capacidade de *B. velezensis* SAAS-63 de alterar a distribuição de nutrientes dentro da planta conforme a disponibilidade externa de nutrientes. As interações entre microrganismos e raízes de plantas na rizosfera desempenham um papel central na promoção do crescimento vegetal. A simbiose entre fungos e bactérias promotores de crescimento e as raízes das plantas não só melhora a absorção de nutrientes, mas também aumenta a resistência a doenças, promovendo a saúde geral das plantas (Vejan *et al.*, 2016).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que o consórcio entre *Serendipita indica* e *Herbaspirillum seropedicae* apresentou desempenho superior ao controle e aos tratamentos com os microrganismos isolados. A inoculação do consórcio resultou em um aumento significativo nos parâmetros de crescimento, como peso fresco e seco das partes aéreas e da raiz, bem como no acúmulo de nutrientes e no conteúdo de água nas plantas. Esses resultados sugerem que a interação entre *S. indica* e *H. seropedicae* promove uma sinergia que potencializa o desenvolvimento das plantas, em comparação com os tratamentos individuais.

O consórcio promoveu os maiores incrementos no crescimento das plantas, com destaque para o aumento significativo no peso seco da parte aérea e das raízes, o que reflete um acréscimo substancial na biomassa total. Esse aumento de biomassa é vantajoso porque está diretamente associado à maior capacidade de a planta realizar fotossíntese e acumular reservas energéticas, favorecendo um crescimento mais robusto e sustentável. Além disso, a análise do conteúdo de nutrientes revelou que o consórcio contribuiu para o enriquecimento dos teores de vários macro e micronutrientes essenciais, tanto na parte aérea quanto nas raízes, com especial ênfase no cálcio, magnésio, ferro e manganês, elementos fundamentais para a estrutura e metabolismo das plantas.

Adicionalmente, *H. seropedicae* demonstrou um papel importante na promoção do crescimento das plantas e no aumento do conteúdo de água, o que pode ser benéfico em condições de estresse hídrico. Já *S. indica*, embora tenha apresentado resultados positivos, foi menos eficaz quando utilizado isoladamente, reforçando a importância de sua interação com *H. seropedicae*.

Dessa forma, a combinação dos microrganismos *S. indica* e *H. seropedicae* desponta como uma alternativa promissora para o desenvolvimento de biofertilizantes voltados à agricultura sustentável. Essa tecnologia tem o potencial de otimizar o crescimento vegetal e melhorar o aproveitamento de recursos como água e nutrientes, oferecendo uma solução ecologicamente eficiente para sistemas agrícolas. Para promover avanços nesse campo, é interessante que estudos futuros se concentrem no

aprimoramento dos métodos de inoculação, na formulação de produtos e no desenvolvimento de veículos de aplicação, com o objetivo de aumentar a durabilidade do inóculo.

REFERÊNCIAS

AASFAR, A. *et al.* Nitrogen fixing azotobacter species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. **Frontiers in microbiology**, Frontiers Media SA, v. 12, p. 628379, 2021.

AGAZETA. Produção de hortaliças movimentada R\$ 16 milhões por ano em Vargem Alta. *A Gazeta*, 2023. Disponível em: <https://www.agazeta.com.br/es/agro/producao-de-hortalicas-movimentada-r-16-milhoes-por-ano-em-vargem-alta-0622>. Acesso em: 8 nov. 2024.

AHMED, T.; LI, B. **Phage–plant interactions: a way forward toward sustainable agriculture**. MDPI, 2023. 329 p.

AQUINO, B. *et al.* Effect of point mutations on *Herbaspirillum seropedicae* nifa activity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, SciELO Brasil, v. 48, p. 683–690, 2015.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES E IMPORTADORES DE INOCULANTES – ANPII. Estatísticas. Disponível em: <https://www.anpii.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 8 nov. 2024.

BAI, Y. *et al.* Using multi-omics to explore the effect of *bacillus velezensis* saas-63 on resisting nutrient stress in lettuce. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Springer, v. 108, p. 313, 2024.

BARBIER, M.; DAMRON, F. H. Rainbow vectors for broad-range bacterial fluorescence labeling. **PLoS One**, Public Library of Science San Francisco, CA USA, v. 11, p. e0146827, 2016.

BARRIO-DUQUE, A. del *et al.* Beneficial endophytic bacteria-*Serendipita indica* interaction for crop enhancement and resistance to phytopathogens. **Frontiers in Microbiology**, Frontiers, v. 10, p. 499198, 2019.

BASLAM, M. *et al.* Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (amf) for inducing the accumulation of major carotenoids, chlorophylls and tocopherol in green and red leaf lettuces. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Springer, v. 97, p. 3119–3128, 2013.

BELTAYEF, H. *et al.* Synergistic interaction of *rhizobium tropici*, *rhizophagus irregularis* and *serendipita indica* in promoting snap bean growth. **Agronomy**, MDPI, v. 13, p. 2619, 2023. 10.3390/agronomy13102619.

BERTOLAZI, A. A. *et al.* Inoculation with *Piriformospora indica* is more efficient in wild-type rice than in transgenic rice over-expressing the vacuolar H⁺-ppase. **Frontiers in Microbiology**, Frontiers Media SA, v. 10, p. 1087, 2019.

BREIDENBACH, B.; PUMP, J.; DUMONT, M. G. Microbial community structure in the rhizosphere of rice plants. **Frontiers in microbiology**, Frontiers, v. 6, p. 170435, 2016.

BURMOLLE, M. *et al.* Enhanced biofilm formation and increased resistance to antimicrobial agents and bacterial invasion are caused by synergistic interactions in multispecies biofilms. **Applied and environmental microbiology**, Am Soc Microbiol, v. 72, p. 3916–3923, 2006.

CARRIL, P. *et al.* Modulation of the wheat seed-borne bacterial community by *Herbaspirillum seropedicae* ram10 and its potential effects for tryptophan metabolism in the root endosphere. **Frontiers in microbiology**, Frontiers Media SA, v. 12, p.

CHAMKHI, I. *et al.* Siccibacter colletis as a member of the plant growth-promoting rhizobacteria consortium to improve faba-bean growth and alleviate phosphorus deficiency stress. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Frontiers, v. 7, p. 1134809, 2023.

CLARK, D. Understanding canonical correlation analysis. **(No Title)**, 1975. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=HV5sQgAACAAJ&hl=pt-BR>>.

CNA. **MAPA DA PRODUÇÃO DE HORTIFRÚTI**. 2021. Disponível em: <<https://www.cnabrazil.org.br/mapa-da-producao-de-hortifruti>>. Acesso em: 6 jun. 2024.

COMPANT, S. *et al.* A misc on the plant microbiome: ecology, functions, and emerging trends in microbial application. **Journal of advanced research**, Elsevier, v. 19, p. 29–37, 2019.

CROWDER, D. W.; REGANOLD, J. P. Financial competitiveness of organic agriculture on a global scale. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, National Acad Sciences, v. 112, p. 7611–7616, 2015.

DAS, A. *et al.* The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant, coleus forskohlii. **Plant signaling & behavior**, Taylor & Francis, v. 7, p. 103–112, 2012.

DIAS, T. *et al.* The free-living stage growth conditions of the endophytic fungus *Serendipita indica* may regulate its potential as plant growth promoting microbe. **Frontiers in Microbiology**, Frontiers Media SA, v. 11, p. 562238, 2020.

DORCE, L. C. *et al.* Extending the theory of planned behavior to understand consumer purchase behavior for organic vegetables in brazil: The role of perceived health benefits, perceived sustainability benefits and perceived price. **Food Quality and Preference**, Elsevier, v. 91, p. 104191, 2021.

FEIL, A. A. *et al.* Profiles of sustainable food consumption: Consumer behavior toward organic food in southern region of brazil. **Journal of Cleaner Production**, Elsevier, v. 258, p. 120690, 2020.

FERNANDES, J. P. *et al.* Effects of beneficial microorganisms on upland rice performance. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, SciELO Brasil, v. 25, p. 156–162, 2021.

FLORES-DUARTE, N. J. *et al.* Enhanced legume growth and adaptation to degraded estuarine soils using *Pseudomonas sp.* nodule endophytes. **Frontiers in Microbiology**, Frontiers, v. 13, p. 1005458, 2022.

FOOD; (FAO), A. O. of the U. N. **Food and agriculture projections to 2050**. Roma: [s.n.], 2018. Disponível em: <<https://www.fao.org/global-perspectives-studies/food-agriculture-projections-to-2050/en/>>. Acesso em: 01 jul. 2024.

HAPSOH *et al.* Utilization of solid organic waste as a biofertilizer formulation for upland rice plants supports sustainable rice farming. In: **IOP PUBLISHING**. 2024. v. 1302, p. 012028.

HE, R. *et al.* Development trend and driving factors of agricultural chemical fertilizer efficiency in china. **Sustainability**, MDPI, v. 12, p. 4607, 2020.

HEFNER, M. *et al.* Composts of diverse green wastes improve the soil biological quality, but do not alleviate drought impact on lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth. **Soil Use and Management**, Wiley Online Library, v. 40, p. e13016, 2024.

HILL, T. W.; KAFER, E. Improved protocols for aspergillus minimal medium: trace element and minimal medium salt stock solutions. **Fungal Genetics Reports**, v. 48, p. 20–21, 2001.

HU, J. *et al.* Probiotic diversity enhances rhizosphere microbiome function and plant disease suppression. **MBio**, Am Soc Microbiol, v. 7, p. 10–1128, 2016.

IRINEU, L. E. S. d. S. *et al.* Multiomic approaches reveal hormonal modulation and nitrogen uptake and assimilation in the initial growth of maize inoculated with *Herbaspirillum seropedicae*. **Plants**, MDPI, v. 12, p. 48, 2022.

IRITI, M. *et al.* Soil application of effective microorganisms (em) maintains leaf photosynthetic efficiency, increases seed yield and quality traits of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown on different substrates. **International journal of molecular sciences**, MDPI, v. 20, p. 2327, 2019.

JANARDHAN, S. *et al.* Effect of different levels of fertilizers in combination with biofertilizers on biological properties of soil under maize. **International Journal of Plant & Soil Science**, 2022.

JHA, A. B.; WARKENTIN, T. D. Biofortification of pulse crops: Status and future perspectives. **Plants**, MDPI, v. 9, p. 73, 2020.

JIA, X. *et al.* Design, analysis and application of synthetic microbial consortia.

Synthetic and Systems Biotechnology, Elsevier, v. 1, p. 109–117, 2016.

KATYAL, J. C.; RANDHAWA, N. S. **Micronutrients**. [s.n.], 1983.

KEM, M. P.; BUTLER, A. Acyl peptidic siderophores: structures, biosyntheses and post-assembly modifications. **Biometals**, Springer, v. 28, p. 445–459, 2015.

KHANGURA, R. *et al.* Regenerative agriculture—a literature misc on the practices and mechanisms used to improve soil health. **Sustainability**, MDPI, v. 15, p. 2338, 2023.

KITWETCH, B. *et al.* Employing a plant probiotic actinomycete for growth promotion of lettuce (*Lactuca sativa l. var. longifolia*) cultivated in a hydroponic system under nutrient limitation. **Plants**, MDPI, v. 12, p. 3793, 2023.

KURUBAS, M. S. *et al.* Comparison of organically and conventionally produced batavia type lettuce stored in modified atmosphere packaging for postharvest quality and nutritional parameters. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Wiley Online Library, v. 99, p. 226–234, 2019.

LATZ, M. A. *et al.* Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. **Plant Ecology & Diversity**, Taylor & Francis, v. 11, p. 555–567, 2018.

LIMA, L. da S. *et al.* Root exudate profiling of maize seedlings inoculated with *Herbaspirillum seropedicae* and humic acids. **Chemical and biological technologies in agriculture**, Springer, v. 1, p. 1–18, 2014.

LIU, C.-W. *et al.* Effects of nitrogen fertilizers on the growth and nitrate content of lettuce (*lactuca sativa l.*). **International journal of environmental research and public health**, MDPI, v. 11, p. 4427–4440, 2014.

LIU, X.; MEI, S.; SALLES, J. Do inoculated microbial consortia perform better than single strains in living soil. **A meta-analysis**. **BioRxiv**, v. 3, p. 2023–03, 2023.

MAHANTY, T. *et al.* Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. **Environmental Science and Pollution Research**, Springer, v. 24, p. 3315–3335, 2017.

MCCARTY, N. S.; LEDESMA-AMARO, R. Synthetic biology tools to engineer microbial communities for biotechnology. **Trends in biotechnology**, Elsevier, v. 37, p. 181–197, 2019.

MEHATA, D. K. *et al.* Biofertilizers: A sustainable strategy for organic farming that would increase crop production and soil health. **Plant Physiology and Soil Chemistry**, v. 3, p. 35–39, 2023.

MICELI, A. *et al.* Effect of gibberellic acid on growth, yield, and quality of

leaf lettuce and rocket grown in a floating system. **Agronomy**, MDPI, v. 9, p. 382, 2019.

MONTEIRO, R. A. et al. Early colonization pattern of maize (*zea mays* L. poales, poaceae) roots by *Herbaspirillum seropedicae* (burkholderiales, oxalobacteraceae). **Genetics and Molecular Biology**, SciELO Brasil, v. 31, p. 932–937, 2008.

MOSA, W. F. A. E.-G. et al. Microbial products and biofertilizers in improving growth and productivity of apple—a misc. **Polish Journal of Microbiology**, v. 65, p. 243–251, 2016.

MOU, B. Nutrient content of lettuce and its improvement. **Current Nutrition & Food Science**, Bentham Science Publishers, v. 5, p. 242–248, 2009.

NAI, C.; MEYER, V. From axenic to mixed cultures: technological advances accelerating a paradigm shift in microbiology. **Trends in microbiology**, Elsevier, v. 26, p. 538–554, 2018.

NGUYEN-VIET, H. et al. International, transdisciplinary, and ecohealth action for sustainable agriculture in asia. **Frontiers in Public Health**, Frontiers Media SA, v. 9, p. 592311, 2021.

NHEMACHENA, C. et al. Climate change impacts on water and agriculture sectors in southern africa: Threats and opportunities for sustainable development. **Water**, MDPI, v. 12, p. 2673, 2020.

NOSHEEN, S.; AJMAL, I.; SONG, Y. Microbes as biofertilizers, a potential approach for sustainable crop production. **Sustainability**, MDPI, v. 13, p. 1868, 2021.

OLIVEIRA, A. M. d. et al. Brazilian scenario of inoculant production: A look at patents. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, SciELO Brasil, v. 46, p. e0210081, 2022.

OLIVEIRA, C. E. d. S. et al. Inoculation methods of *Azospirillum brasilense* in lettuce and arugula in the hydroponic system. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, SciELO Brasil, v. 27, p. 653–662, 2023.

OLIVEIRA, C. E. d. S. et al. Yield, nutrition, and leaf gas exchange of lettuce plants in a hydroponic system in response to *Bacillus subtilis* inoculation. **Frontiers in Plant Science**, Frontiers Media SA, v. 14, p. 1248044, 2023.

ONU. **População mundial chegará a 8 bilhões em novembro de 2022**. 2022. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/189756-popula%C3%A7%C3%A3o-mundial-chegar%C3%A1-8-bilh%C3%B5es-em-novembro-de-2022>>.

PANDIT, M. A. et al. Major biological control strategies for plant pathogens. **Pathogens**, MDPI, v. 11, p. 273, 2022.

PANKIEVICZ, V. *et al.* Rna-seq transcriptional profiling of *Herbaspirillum seropedicae* colonizing wheat (*triticum aestivum*) roots. **Plant molecular biology**, Springer, v. 90, p. 589–603, 2016.

PETERS, J. Wisconsin procedures for soil testing, plant analysis and feed & forage analysis: plant analysis. **Department of Soil Science, College of Agriculture and Life Sciences, University of Wisconsin-Extension, Madison, WI**, 2005.

PHILLIPS, J.; HAYMAN, D. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British mycological Society**, Elsevier, v. 55, p. 158–IN18, 1970.

PINTO, E. *et al.* Comparison between the mineral profile and nitrate content of microgreens and mature lettuces. **Journal of Food Composition and Analysis**, Elsevier, v. 37, p. 38–43, 2015.

PRETTY, J. Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, The Royal Society London, v. 363, p. 447–465, 2008.

PÉREZ-ALONSO, M.-M. *et al.* Harnessing symbiotic plant–fungus interactions to unleash hidden forces from extreme plant ecosystems. **Journal of Experimental Botany**, Oxford University Press UK, v. 71, p. 3865–3877, 2020.

PÉREZ-ESCAMILLA, R. Food security and the 2015–2030 sustainable development goals: from human to planetary health. **Current developments in nutrition**, Elsevier, v. 1, p. e000513, 2017.

RAMOS, S. *et al.* Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. **Plant, Soil and Environment**, 2010.

RAZA, Q.-U.-A. *et al.* Biostimulants induce positive changes in the radish morpho- physiology and yield. **Frontiers in Plant Science**, Frontiers Media SA, v. 13, p. 950393, 2022.

REHBERGER, E. *et al.* What climate and environmental benefits of regenerative agriculture practices? an evidence misc. **Environmental Research Communications**, IOP Publishing, 2023.

ROESTI, D. *et al.* Plant growth stage, fertiliser management and bio-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. **Soil Biology and Biochemistry**, Elsevier, v. 38, p. 1111–1120, 2006.

ROKHMAH, D. N. *et al.* Sustainable specialty coffee production: An agronomy perspective (a misc). In: **IOP PUBLISHING**. 2023. v. 1230, p. 012067.

RORIZ, M. *et al.* Legume biofortification and the role of plant growth-promoting bacteria in a sustainable agricultural era. **Agronomy**, MDPI, v. 10, p. 435, 2020.

ROSCONI, F. *et al.* Identification and structural characterization of serobactins, a suite of lipopeptide siderophores produced by the grass endophyte *Herbaspirillum seropedicae*. **Environmental microbiology**, Wiley Online Library, v. 15, p. 916–927, 2013.

SAID, S. B.; OR, D. Synthetic microbial ecology: engineering habitats for modular consortia. **Frontiers in microbiology**, Frontiers, v. 8, p. 252185, 2017.

SALEEM, M. *et al.* Comparative effects of individual and consortia plant growth promoting bacteria on physiological and enzymatic mechanisms to confer drought tolerance in maize (*zea mays* L.). **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Springer, v. 21, p. 3461–3476, 2021.

SALEEM, S.; SEKARA, A.; POKLUDA, R. *Serendipita indica*—a misc from agricultural point of view. **Plants**, MDPI, v. 11, p. 3417, 2022.

SANTOS, R. M. d.; DESOIGNIES, N.; RIGOBELLO, E. C. The bacterial world inside the plant. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Frontiers, v. 6, p. 830198, 2022.

SANTOYO, G. *et al.* Plant growth stimulation by microbial consortia. **Agronomy**, MDPI, v. 11, p. 219, 2021.

SHAHINUL, M. *et al.* Determination of optimum rate of nitrogen, phosphorus, potassium and boron for leaf and seed yield of lettuce. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, 2020.

SHARMA, S. *et al.* It takes two to tango: a bacterial biofilm provides protection against a fungus-feeding bacterial predator. **Microorganisms**, MDPI, v. 9, p. 1566, 2021.

SMIRNOVA, I. *et al.* Use of a consortium of agronomically important microorganisms for growing soybean (*G. merr.*). **The Open Agriculture Journal**, v. 17, 2023.

TANAKA, A. *et al.* Comparison of fertilizer nitrogen efficiency among field crops. **Soil Science and Plant Nutrition**, Taylor & Francis, v. 30, p. 199–208, 1984.

UNNEVEHR, L. J. Addressing food safety challenges in rapidly developing food systems. **Agricultural Economics**, Wiley Online Library, v. 53, p. 529–539, 2022.

UPADHAYAY, V. K.; SINGH, A. V.; KHAN, A. Cross talk between zinc-solubilizing bacteria and plants: A short tale of bacterial-assisted zinc biofortification. **Frontiers in Soil Science**, Frontiers Media SA, v. 1, p. 788170, 2022.

VARMA, A. *et al.* *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. **Applied and environmental Microbiology**, Am Soc Microbiol, v. 65, p. 2741–2744, 1999.

VEJAN, P. *et al.* Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a misc. **Molecules**, MDPI, v. 21, p. 573, 2016.

VENNEMAN, J. *et al.* Respiratory co₂ combined with a blend of volatiles emitted by endophytic serendipita strains strongly stimulate growth of arabidopsis implicating auxin and cytokinin signaling. **Frontiers in Plant Science**, Frontiers Media SA, v. 11, p. 544435, 2020.

VERGARA, C. *et al.* Contribution of dark septate fungi to the nutrient uptake and growth of rice plants. **brazilian journal of microbiology**, SciELO Brasil, v. 49, p. 67–78, 2018.

WALLS, H. *et al.* Food security, food safety and healthy nutrition: Are they compatible? **Glob Food Secur**21: 69–71. 2019.

WAN, L.-J. *et al.* Effects of chemical fertilizer combined with organic fertilizer application on soil properties, citrus growth physiology, and yield. **Agriculture**, MDPI, v. 11, p. 1207, 2021.

WENDT, M. W. **O mercado hortifrutigranjeiro no Brasil**. 2023. Disponível em:

<<https://www.ufsm.br/pet/agronomia/2023/02/26/o-mercado-hortifrutigranjeiro-no-brasil>>. Acesso em: 21 mai. 2024.

YADAV, R. *et al.* *Bacillus sp.* and arbuscular mycorrhizal fungi consortia enhance wheat nutrient and yield in the second-year field trial: Superior performance in comparison with chemical fertilizers. **Journal of Applied Microbiology**, Blackwell Science Ltd Oxford, UK, v. 132, p. 2203–2219, 2022.

YE, L. *et al.* Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality. **Scientific reports**, Nature Publishing Group UK London, v. 10, p. 177, 2020.

YOUSSEF, N. H. *et al.* The role of *serendipita indica* and *lactobacilli* mixtures on mitigating mycotoxins and heavy metals' risks of contaminated sewage sludge and its composts. **Scientific Reports**, Nature Publishing Group UK London, v. 10, p. 15159, 2020.

ZAHID, M. *et al.* Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from himalayan region of kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*zea mays* l.). **Frontiers in microbiology**, Frontiers Media SA, v. 6, p. 207, 2015.

ZAMBRANO-MENDOZA, J. L. *et al.* Use of biofertilizers in agricultural production. **Technology in agriculture**, IntechOpen London, UK, v. 193, 2021.

ZHANG, L. *et al.* Rna sequencing provides insights into the evolution of lettuce and the regulation of flavonoid biosynthesis. **Nature communications**, Nature Publishing Group UK London, v. 8, p. 2264, 2017.

ZUFFO, A. *et al.* Substrates for the production of lettuce seedlings. **Magnesium (cmolc dm-3)**, v. 1, p. 1–4, 2020.