

**ELISA COUTO BERG**

**BACTÉRIAS, FITORMÔNIO E LUZ LED COMO FATORES PROMOTORES DO  
DESEMPENHO DE LENTILHAS D'ÁGUA NA FITORREMEDIAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Alisson Carraro Borges

Coorientadores: André Pereira Rosa  
Maurício Dutra Costa

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da Universidade Federal de  
Viçosa – Campus Viçosa**

Berg, Elisa Couto, 1995-2023.  
B493b Bactérias, fitormônio e luz LED como fatores promotores  
2022 do desempenho de lentilhas d'água na fitorremediação  
/ Elisa Couto Berg. -- Viçosa, MG, 2022.  
1 dissertação eletrônica (70 f.) : il. (algumas color.).

Orientador: Alisson Carraro Borges  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Engenharia Agrícola, 2022.

Referências bibliográficas: f. 65-70.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.039>

Modo de acesso: World Wide Web

1. Fitorremediação. 2. Lentilha. 3. Hormônios vegetais.  
4. Luz LED. 5. Bactérias. I. Borges, Alisson Carraro, 1977-  
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Engenharia Agrícola. Programa de Pós-Graduação  
em Engenharia Agrícola. III. Título.

CDD 22. ed. 628.164

Bibliotecário responsável: Euzébio Luiz Pinto – CRB 6/3317

**ELISA COUTO BERG**


**BACTÉRIAS, FITORMÔNIO E LUZ LED COMO FATORES PROMOTORES DO  
DESEMPENHO DE LENTILHAS D'ÁGUA NA FITORREMEDIAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 24 de fevereiro de 2022.

Assentimento:

† *in memoriam*  
Elisa Couto Berg  
Autora

Documento assinado digitalmente  
 ALISSON CARRARO BORGES  
Data: 21/02/2023 10:48:39-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Alisson Carraro Borges  
Orientador

*A todos aqueles que estão  
no caminho do autoconhecimento*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, ao Universo e à vida por todo aprendizado que essa experiência me proporcionou, por tudo que vivi, e pela melhor versão de mim mesma que sou hoje.

Aos meus pais, Carmen e James, pela dádiva de estar aqui hoje, pelo amor que sempre recebi, pelo apoio incondicional nas minhas escolhas, por me ajudarem a encontrar força nos momentos difíceis e por serem luz e alegria em minha vida.

À minha terapeuta, Ane, por me ajudar a enxergar quem sou, por me incentivar a viver a minha verdade, por me colocar nos trilhos nos momentos de desespero e por estar de mãos dadas comigo ao longo de todo o mestrado.

Às minhas amigas Gabriela, Laís, Bianka, Larissa e Isabela e ao amigo Lucas, por todo apoio emocional, por trazerem leveza em dias difíceis e por serem inspiração em minha vida.

À minha prima Lavínia pelo amor, abraços, sorrisos e carinho.

À toda a minha família, por trazerem alegria e força aos meus dias.

Aos meus companheiros de laboratório por toda ajuda, todo conhecimento compartilhado, por risadas em meio ao caos e pelo incentivo. Em especial, ao Eder por estar ao meu lado durante toda a pesquisa, por toda ajuda, dentro e fora do laboratório, pelos conselhos e trocas compartilhadas.

Ao professor Alisson, pela orientação, pelos conhecimentos e ideias compartilhados, pela motivação de trabalhar com algo novo e por me tranquilizar nos momentos desafiadores.

Ao professor Maurício, ao Argemiro e ao Lucas por toda ajuda no trabalho com as bactérias e por estarem sempre muito solícitos.

Ao professor Dimas, pelo auxílio com os fitormônios.

Ao Dilson, pelos conselhos, conhecimentos trocados e disposição em ajudar.

Ao Javier, por toda ajuda no trabalho com as luzes LED.

Ao professor Paulo Cecon, pela ajuda com a parte estatística do projeto.

Ao professor Pedro Bond Schwartsburd, pela identificação da espécie de planta utilizada no estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

*“Se você aproveitar o tempo a fim de melhorar-se,  
o tempo aproveitará você para realizar maravilhas”. (André Luiz)*

## RESUMO

BERG, Elisa Couto, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2022. **Bactérias, fitormônio e luz led como fatores promotores do desempenho de lentilhas d'água na fitorremediação.** Orientador: Alisson Carraro Borges. Coorientadores: André Pereira Rosa e Maurício Dutra Costa.

A fitorremediação é uma tecnologia natural de tratamento de águas residuárias que faz uso de plantas para remoção de poluentes do meio aquático. Dentre as plantas que podem ser utilizadas nesse processo, encontram-se as lentilhas d'água, sendo uma de suas espécies a *Landoltia punctata*. Essas plantas possuem uma biomassa com relevantes concentrações de amido e proteínas, que permitem com que elas possam ser utilizadas na produção de biocombustíveis e alimentação animal. Com relação às plantas, protagonistas no processo de fitorremediação, sabe-se que luz, bactérias promotoras de crescimento e fitormônios possuem potencial para aumentar o crescimento vegetal. Nesse sentido, investigou-se se esses fatores auxiliariam na remoção de nutrientes, assim como se interfeririam nas concentrações de pigmentos e biomassa de lentilhas d'água. Para isso, plantas da espécie *Landoltia punctata* foram cultivadas em solução nutritiva Clark por 10 dias, com variações nos fatores luz (colorida e branca), bactérias (ausência e presença) e fitormônio (ausência e presença). Obteve-se remoção significativa de  $P-PO_4^{3-}$  no quinto dia de experimento, com interação tripla entre os fatores luz x bactéria x fitormônio. Também foi obtido remoção significativa de  $N-NO_3^-$  nos dias 5 e 10 de experimento. Com relação à massa úmida, foi observada interação dupla entre luz x bactéria e luz x fitormônio. No que diz respeito às eficiências mássicas de remoção, analisando-se todos os tratamentos no último dia de experimento, observou-se que a remoção de  $P-PO_4^{3-}$  foi acima de 99%, de  $N-NH_4^+$  foi entre 59,88% e 73,56%, e de  $N-NO_3^-$  foi entre 1,82% e 4,20%. Os resultados obtidos mostraram o potencial de lentilhas d'água na remoção de nutrientes do meio aquático. No entanto, concluiu-se que outras condições devem ser avaliadas, como a remoção de nutrientes em efluente *in natura*, assim como a cinética desse processo.

Palavras-chave: Plantas aquáticas. Fósforo. Nitrogênio. Biomassa. Descontaminação.

## ABSTRACT

BERG, Elisa Couto, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2022. **Bacteria, phytohormone and led light as performance promoting factors of duckweed in phytoremediation.** Adviser: Alisson Carraro Borges. Co-advisers: André Pereira Rosa and Maurício Dutra Costa.

Phytoremediation is a natural wastewater treatment technology that uses plants to remove pollutants from aquatic environment. Among the plants that can be used in this process are duckweeds, being one of these species the *Landoltia punctata*. These plants have a biomass rich in starch and proteins, which allow them to be reused in the production of biofuels and animal feed. Regarding plants, protagonists in the phytoremediation process, it is known that light, growth-promoting bacteria and phytohormones have the potential to increase plant growth. In this sense, it was investigated if these factors would help in the removal of nutrients, as well as if they would interfere in the concentrations of pigments and biomass of duckweed. For this, plants of the species *Landoltia punctata* were cultivated in Clark nutrient solution for 10 days, with variations in light (colorful and white), bacteria (absence and presence) and phytohormone (absence and presence) factors. Significant removal of  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  was obtained on the fifth day of the experiment, with a triple interaction between the light x bacteria x phytohormone factors. Significant removal of  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  was also obtained on days 5 and 10 of the experiment. Regarding the wet mass, a double interaction was observed between light x bacteria and light x phytohormone. With regard to mass removal efficiencies, analyzing all treatments on the last day of the experiment, it is observed that the removal of  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  was above 99%, of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  was between 59.88% and 73.56 %, and of  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  was between 1.82% and 4.20%. Obtained results show duckweed's potential in removing nutrients from aquatic environment. However, it is concluded that other conditions need to be evaluated, like nutrient's removal in effluents *in natura*, as the kinetics of this process.

Keywords: Aquatic plants. Phosphorus. Nitrogen. Biomass. Decontamination.

## SUMÁRIO

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 INTRODUÇÃO.....                                                                         | 10 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....                                                              | 12 |
| 2.1. Lentilhas d'água e sua presença no território brasileiro.....                        | 12 |
| 2.2 Uso das lentilhas na fitorremediação de águas contaminadas.....                       | 15 |
| 2.3 Aproveitamento das lentilhas na produção de biocombustíveis e alimentação animal..... | 16 |
| 2.4 As bactérias como mecanismo promotor de crescimento em plantas.....                   | 17 |
| 2.5 Os fitormônios como mecanismo promotor de crescimento.....                            | 19 |
| 2.6 A luz como mecanismo promotor de crescimento.....                                     | 19 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                 | 22 |
| 3.1 Obtenção da lentilha d'água.....                                                      | 22 |
| 3.3. Esquema de arranjo do delineamento experimental.....                                 | 24 |
| 3.4. Estrutura experimental.....                                                          | 25 |
| 3.4. Fatores de otimização do crescimento.....                                            | 27 |
| 3.4.1. Bactérias promotoras de crescimento.....                                           | 27 |
| 3.4.2 Cultivo e seleção das Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas.....           | 28 |
| 3.4.3. Estudos preliminares para seleção das células bacterianas.....                     | 29 |
| 3.4.2. Fitormônio.....                                                                    | 30 |
| 3.4.3. Fonte de luz.....                                                                  | 30 |
| 3.4.3.1 Estabelecimento das condições do fotoperíodo e intensidade luminosa.....          | 31 |
| 3.5. Aclimação das plantas em luz LED.....                                                | 32 |
| 3.6. Análises quantitativas.....                                                          | 33 |
| 3.6.1. Análises realizadas no experimento.....                                            | 33 |
| 3.6.2. Cultivo de <i>Landoltia punctata</i> em Solução Clark.....                         | 33 |
| 3.6.3. Quantificação de nutrientes no substrato líquido.....                              | 34 |
| 3.6.4. Análises das plantas.....                                                          | 36 |
| 3.6.4.1. Quantificação de pigmentos.....                                                  | 36 |
| 3.6.4.2 Crescimento.....                                                                  | 37 |
| 3.7. Análises estatísticas.....                                                           | 37 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                                            | 39 |
| 4.1. Seleção da cepa de bactéria promotora de crescimento.....                            | 39 |
| 4.2. Substrato líquido do experimento.....                                                | 42 |
| 4.2.1. Resultados da ANOVA para as variáveis analisadas.....                              | 42 |
| 4.2.2. Desdobramentos das interações para o quinto dia de experimento.....                | 46 |
| 4.2.3. Desdobramentos das interações para o dia 10 de experimento.....                    | 55 |

|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| 4.3. Eficiências mássicas de remoção ..... | 59 |
| 5 CONCLUSÕES .....                         | 63 |
| REFERÊNCIAS .....                          | 65 |

## 1 INTRODUÇÃO

A água é elemento essencial para a vida. Ela está presente em diversas atividades da nossa sociedade, como na produção agrícola e pecuária, beneficiamento de produtos da indústria, além do consumo humano e animal. No entanto, o aumento da população mundial associado com a exploração desenfreada dos recursos naturais, mudanças climáticas e poluição do meio ambiente, tem causado a escassez qualitativa e quantitativa dos recursos hídricos. É necessário, portanto, propor soluções eficazes para solucionar tal problema e proporcionar o uso mais sustentável da água.

Uma das formas de poluição dos recursos hídricos é por meio do descarte de águas residuárias contaminadas. Esse problema faz parte da realidade de países em desenvolvimento, principalmente devido às dificuldades existentes para a implantação de sistemas de tratamento nesses países, como apoio financeiro e governamental. Nesse sentido, sistemas naturais de tratamento de efluentes, por serem mais simples de operar e gerarem co-produtos, são uma alternativa promissora.

A fitorremediação é uma das soluções baseadas na natureza que permite a depuração do ambiente associado ao aproveitamento de biomassa. Dentre as plantas que vem sendo utilizadas nessa técnica, encontram-se as lentilhas d'água. Elas são plantas aquáticas de tamanho diminuto, com capacidade de absorver nutrientes do meio e que podem ser utilizadas para diversos fins, conforme poderá ser visto nos próximos tópicos desse trabalho.

Diversos estudos têm sido conduzidos com as lentilhas d'água, especialmente devido às aplicabilidades dessas plantas e necessidade de conservação dos recursos naturais. Como exemplo, uma consulta na plataforma *Web of Science* englobando todos os campos com a palavra “*duckweeds*” retornava 71 resultados para o ano 2011. Dez anos depois, considerando-se o ano de 2021, o número de resultados com os mesmos critérios aumenta para 172.

Diante da importância de se investir em tecnologias naturais de tratamento de efluentes, da necessidade de conservação dos recursos hídricos e das potencialidades apresentadas pelas lentilhas d'água, fica claro que pesquisas que investiguem técnicas de aumento de sua produtividade devem ser realizadas. Algumas das alternativas com capacidade para estimular o crescimento vegetal são: i) luz LED; ii) fitormônios; e iii) bactérias promotoras de crescimento em plantas. Esses fatores são estudados para plantas terrestres, e nessa pesquisa procurou-se estender seu uso para englobar também as plantas aquáticas, de maneira particular a espécie *Landoltia punctata*. Portanto, buscou-se verificar se os fatores de crescimento utilizados em

plantas terrestres também promoveriam o crescimento de lentilhas d'água, e se isso impactaria na sua capacidade como planta fitorremediadora.

Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os impactos da adição de fitormônio e de bactéria promotora de crescimento em plantas, assim como a influência de diferentes cores de luz LED, na remoção de nutrientes por lentilhas d'água, no crescimento da biomassa e na concentração de pigmentos. De forma específica, objetivou-se:

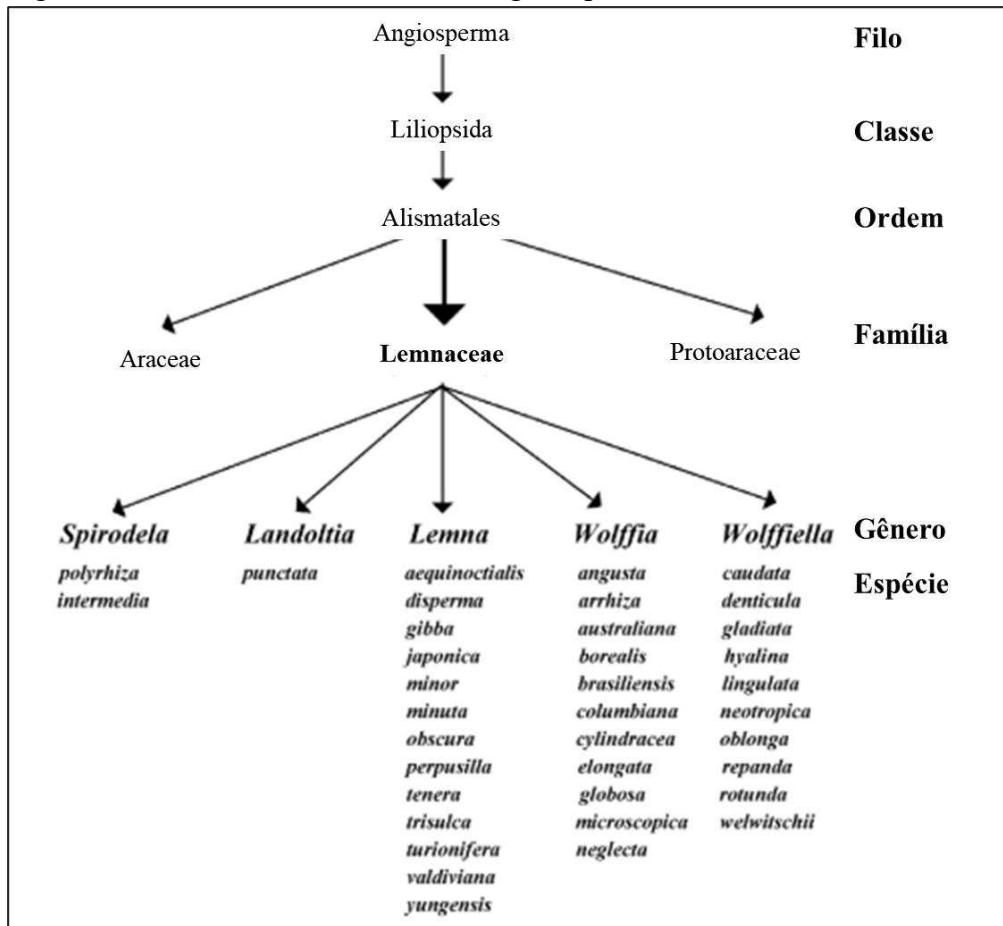
- Testar, de forma paralela e multiparamétrica, se introduzir fitormônio e bactéria promotora de crescimento, em sistema cultivado com a planta aquática *Landolia punctata* em solução nutritiva Clark, sob influência de luz LED, reduz a concentração de fósforo como fosfato ( $P-PO_4^{3-}$ ), nitrogênio como amônio ( $N-NH_4^+$ ) e nitrogênio como nitrato ( $N-NO_3^-$ ) do substrato de cultivo.
- Testar se a biomassa e a concentração de pigmentos da planta aquática *Landolia punctata* aumenta, quando cultivada em solução nutritiva Clark, sob influência de luz LED e em substrato de cultivo acrescido de fitormônio e de bactéria promotora de crescimento.
- Identificar quais são as alterações produzidas no substrato de cultivo após introduzir bactéria promotora de crescimento e fitormônio, em sistema cultivado com a planta aquática *Landolia punctata* em solução nutritiva Clark, sob influência de luz LED.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Lentilhas d'água e sua presença no território brasileiro

As lentilhas d'água são monocotiledôneas do filo Angiosperma, de tamanho extremamente reduzido e presentes em ambientes lânticos (APPENROTH; BORISJUK; LAM, 2013; KHAIRINA et al., 2021). São cinco os gêneros existentes dentro da família das lentilhas d'água (Lemnaceae), sendo eles: *Lemna* spp., *Landoltia* sp., *Spirodela* spp., *Wolffia* spp. e *Wolffiella* spp, que contemplam um total de 37 espécies (Figura 1) (APPENROTH; BORISJUK; LAM, 2013).

Figura 1 – Taxonomia das lentilhas d'água a partir de seu filo.



Fonte: Adaptado de Appenroth; Borisjuk e Lam (2013)

No Brasil, estudos florísticos com essa família foram realizados apenas em alguns estados, tendo sido encontradas oito espécies no estado de São Paulo, cinco no estado do Ceará, onze no estado do Rio de Janeiro e seis no estado do Paraná (ANDRADE et al., 2013; ARACEAE, 2019; PEREIRA; POTT; TEMPONI, 2016; POTT, 2002). Estudos mais antigos

também registraram essas plantas no semi-árido baiano, em um total de quatro espécies (BEZERRA; FRANÇA, 1999) e no Pantanal (estados do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), tendo sido identificadas nove espécies (POTT; CERVI, 1999).

Dentro do gênero *Landoltia* sp. existe apenas uma espécie registrada até hoje, sendo ela a *Landoltia punctata* (APPENROTH; BORISJUK; LAM, 2013; FOUROUNJIAN; FAKHOORIAN; CAO, 2020). Essa espécie apresenta de duas até cinco raízes por fronde, possui mais de duas nervuras (PEREIRA; POTT; TEMPONI, 2016). Além disso, sua fronde apresenta forma ovada, coloração verde com bordas em tom de vermelho arroxeado e dimensões de 1-6 x 2-4 mm (Figura 2) (PEREIRA; POTT; TEMPONI, 2016). As frondes são caules modificados com poucas diferenciações celulares (FOUROUNJIAN; FAKHOORIAN; CAO, 2020).

Figura 2 – a) Vista adaxial da *Landoltia punctata*, b) frondes com bordas arroxeadas da *Landoltia punctata*, c) *Landoltia punctata* com duas nervuras por fronde.



Fonte: Adaptado de Pereira; Pott e Temponi (2016).

Com relação à sua adaptação ao meio, as lentilhas d'água são tolerantes a condições extremas e apresentam alta produtividade (BAEK; SAEED; CHOI, 2021). Esta característica está associada à sua forma de reprodução majoritariamente vegetativa (APPENROTH; BORISJUK; LAM, 2013). O processo ocorre de forma que as frondes “mães” amadurecem, formam frondes “filhas” (KUREPA; SHULL; SMALLE, 2018) e quando estas se soltam das “mães”, já possuem características propícias para formar novas frondes, fazendo com que seu crescimento apresente forma exponencial (APPENROTH; BORISJUK; LAM, 2013). Com relação à produtividade, Cheng et al. (2002) realizou um experimento com *Lemna minor* cultivada em líquido diluído de lagoa suína e condições climáticas naturais, em que a taxa de crescimento da lentilha d'água alcançou o máximo de  $28,5 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , quando o experimento foi realizado na primavera e o líquido encontrava-se 20% diluído.

Conforme poderá ser visto por meio dos estudos a seguir, alguns dos benefícios que fazem com que as lentilhas d'água sejam promissoras para usos diversos é o seu conteúdo de amido e proteínas, além da sua capacidade de acumular nutrientes de águas contaminadas.

Segundo um estudo de revisão feito por Baek, Saeed e Choi (2021), o conteúdo de proteína das lentilhas d'água pode variar de 19,8 a 48,2%, valores próximos aos encontrados por Cheng e Stomp (2009), que relatam conteúdos de proteína variando de 15 a 45%. Ainda, segundo Baek, Saeed e Choi (2021), o conteúdo de amido nessas plantas pode variar de 4 a 29,8%. Além disso, elas contêm metabólitos secundários benéficos como antiocina, luteolina e tanino (BAEK; SAEED; CHOI, 2021).

Zhao et al. (2014) em seu trabalho, compararam o conteúdo de fósforo presente nas lentilhas d'água e no aguapé (*Eichhornia crassipes*) e observaram que em todas as estações climáticas do ano, o conteúdo de fósforo nas lentilhas era maior que no aguapé. Cheng e Stomp (2009) observaram um processo ainda mais interessante sobre o acúmulo de nutrientes nas lentilhas d'água crescendo em águas residuárias. Segundo esses autores, mesmo após os nutrientes se tornarem escassos no meio, as lentilhas podem continuar crescendo por meio do uso dos nutrientes acumulados em seus tecidos (CHENG; STOMP, 2009).

Existem algumas possibilidades de induzir o acúmulo de amido nas lentilhas d'água, como inserção de fitormônios (LIU et al., 2018, 2019) controle das condições nutritivas do meio (XU et al., 2019) e de outras condições de crescimento, como a luz (YIN et al., 2015; ZHONG et al., 2022). Além da intensidade luminosa (YIN et al., 2015) e dos diferentes comprimentos de onda do espectro do visível (XU et al., 2019; ZHONG et al., 2022), outros fatores como campo magnético constante, campos eletromagnéticos e elétricos, radiação ultravioleta, infravermelha e a laser podem influenciar sistemas biológicos (OL'SHANSKAYA et al., 2018), e conseqüentemente, podem afetar as lentilhas d'água.

Segundo Lasfar et al. (2007), alguns fatores importantes para modelar o crescimento dessas plantas aquáticas são a densidade da manta formada pelas frondes, o tempo de retenção da biomassa e a forma de colheita utilizada. O crescimento das lentilhas d'água ainda pode ser controlado por meio do cultivo em ambientes fechados. Esse tipo de cultivo já é amplamente utilizado para frutas e vegetais e não dependem do clima externo, podendo inclusive proporcionar melhor desenvolvimento da cultura por meio do controle de temperatura, umidade, iluminação, dentre outros fatores (PINHO; JOKINEN; HALONEN, 2017). Por se tratar de plantas aquáticas, o cultivo das lentilhas d'água em ambientes fechados deve ser feito por meio de hidroponia. Segundo Ol'shanskaya et al. (2018), o cultivo fechado das lentilhas d'água associado às suas vantagens naturais faz com que esse sistema de cultivo seja facilmente controlado.

Diversos estudos sobre as lentilhas d'água são feitos pois elas possuem muitas aplicações, como a fitorremediação, produção de bioetanol, biogás, ração animal,

fitotoxicologia e alimentação humana (APPENROTH; BORISJUK; LAM, 2013). Diante das várias vantagens e possibilidades de uso dessas plantas, fica evidente que otimizar seu processo de crescimento, seja para quaisquer dos seus múltiplos usos, é vantajoso.

## 2.2 Uso das lentilhas na fitorremediação de águas contaminadas

As águas residuárias provenientes de atividades domésticas, industriais e da agropecuária apresentam impurezas de características físicas, químicas e biológicas, como matéria orgânica biodegradável, nutrientes e organismos patogênicos (VON SPERLING, 2014). Dentre as tecnologias de tratamento de efluentes existentes, aquelas que são baseadas em soluções naturais têm ganhado cada vez mais espaço, pois são mais baratas e ainda apresentam a possibilidade de recuperar nutrientes (FOUROUNDJIAN; FAKHOORIAN; CAO, 2020).

As lentilhas d'água podem ser úteis para tratar águas contaminadas, por meio do processo da fitorremediação. No ambiente aquático, essa técnica faz o uso de plantas para remover poluentes do meio (EKPERUSI; SIKOKI; NWACHUKWU, 2019). Dentre as formas de remediação empregadas pelas plantas para depurar águas residuárias e águas superficiais, encontram-se a rizofiltração, fitodegradação e rizodegradação (KALFE et al., 2022).

A remediação por meio da rizofiltração ocorre de forma que os poluentes são absorvidos ou adsorvidos pelas raízes das plantas (KAFLE et al., 2022). Se tratando de contaminantes metálicos, Ansari et al. (2020) ainda relata a precipitação próxima às raízes como forma de remoção. Na remediação pela fitodegradação ou rizodegradação, os poluentes são metabolizados, e destruídos nos tecidos das plantas, se o tecido for pertencente a região da rizosfera, recebe a denominação especial de rizodegradação (KAFLE et al., 2022). Choudhary, Muduli e Ray (2022) relatam que na rizodegradação, os microrganismos associados às plantas também desempenham um papel na decomposição dos contaminantes.

O processo de fitorremediação se faz vantajoso porque essas plantas podem crescer em águas residuárias e eutrofizadas, reduzindo custos com fertilizantes (APPENROTH; BORISJUK; LAM, 2013), já que captam os nutrientes necessários para seu desenvolvimento nos ambientes contaminados ou eutrofizados. Dentre esses nutrientes, destacam-se principalmente o fósforo e o nitrogênio (AL-NOZAILY; ALAERTS; VEENSTRA, 2000; APPENROTH; BORISJUK; LAM, 2013). Nesse sentido, a fitorremediação não deve ser encarada apenas como o tratamento de um passivo ambiental, mas sim como uma fonte de aproveitamento de nutrientes.

O fósforo e o nitrogênio são nutrientes que podem ser recuperados por meio do tratamento com lentilhas d'água e tem elevado interesse agrícola. O fósforo é um recurso finito não renovável (MAUCIERI; SALVATO; BORIN, 2020) essencial para garantir a segurança alimentar (CORDELL; WHITE, 2015). Apesar de sua necessidade global na agricultura, a qualidade das reservas de fósforo está diminuindo ao longo do tempo (CORDELL; WHITE, 2011). Além disso, limitações físicas, técnicas, geopolíticas, sociais, dentre outras, fazem com que a quantidade de fósforo disponível para uso seja inferior à quantidade de recursos disponíveis no solo (CORDELL; WHITE, 2011). A utilização de fertilizantes constituídos por macronutrientes como fósforo e nitrogênio tem sido cada vez mais necessária para alimentar a crescente população mundial, nesse sentido, a recuperação de nitrogênio de águas residuárias é uma alternativa viável (LI; WAN; WANG, 2020).

Outra vantagem de se utilizar as lentilhas d'água para tratar efluentes é que seu processo de colheita é simples (CAICEDO et al., 2000). Além disso, o sistema de tratamento com lentilhas d'água apresenta baixo consumo de energia e é uma tecnologia ambientalmente amigável (TOYAMA et al., 2017).

Além dos benefícios de se aplicar as lentilhas d'água no processo de fitorremediação, tem-se ainda a possibilidade de reaproveitar sua biomassa para diversos usos, e assim contribuir para o fechamento do ciclo de sistemas de tratamento de efluentes.

### 2.3 Aproveitamento das lentilhas na produção de biocombustíveis e alimentação animal

Nesse tópico, serão apresentadas duas formas de reaproveitamento muito interessantes do ponto de vista da agricultura, pecuária e energia, que são a produção de biocombustíveis e alimentação animal. Ressalta-se, entretanto, a necessidade dessa biomassa ser devidamente processada antes de ser aplicada para esses usos. Especialmente quando se trata da produção para alimentação animal, é necessário assegurar que as rações apresentem padrões de segurança e qualidade adequados para essa finalidade.

As mudanças climáticas associadas a outros problemas ambientais têm promovido a busca por fontes de energias alternativas, dentre elas, destacam-se os biocombustíveis (BAEK; SAEED; CHOI, 2021). Diversos tipos de biocombustíveis têm sido produzidos e investigados, como o etanol produzido a partir da cana-de-açúcar e o bio-óleo oriundo do coco, no entanto, essas fontes energéticas naturais também são fontes de alimento para a população (SU et al., 2014). Nesse sentido, é preciso garantir a segurança alimentar em conjunto com a proteção dos

recursos naturais e a produção energética, fazendo com que a busca por uma biomassa renovável e não-alimentar se torne cada vez mais desejável (SU et al., 2014).

Nesse contexto, as lentilhas d'água têm se apresentado como uma fonte de biomassa para a produção de biocombustíveis, em especial para a produção de bioetanol, devido ao alto conteúdo de amido dessas plantas (CHENG; STOMP, 2009). Ishizawa et al. (2020) também relatam que o alto teor de amido e proteínas e baixo teor de fibras faz com que as lentilhas d'água apresentem potencial para a produção de ração animal e biocombustíveis. Quanto maior o acúmulo de amido pela lentilha d'água, mais interessante ela se torna sob o ponto de vista energético (ZHONG et al., 2022). Zhao et al. (2014) encontraram uma produção estimada de etanol de  $5,13 \times 10^3 \text{ L ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  para uma taxa de acumulação de amido de  $2,06 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  em lentilhas d'água. Outro benefício do uso dessas plantas como bioetanol é que elas apresentam baixo conteúdo de lignina e celulose e altas taxas de crescimento (LIU et al., 2019).

A alimentação animal com lentilhas d'água é interessante pois essas plantas são ricas em proteínas. Historicamente utilizadas na aquicultura do Sudeste Asiático, recentemente tem sido avaliado o seu potencial como ração animal (FOUROUNJIAN; FAKHOORIAN; CAO, 2020). Além dos benefícios ambientais, o uso de lentilhas d'água provenientes da fitorremediação pode aumentar a renda de agricultores (FOUROUNJIAN; FAKHOORIAN; CAO, 2020). Atualmente, os agricultores que fazem uso das lentilhas d'água na alimentação animal encontram-se principalmente na Ásia e América Central (FOUROUNJIAN; FAKHOORIAN; CAO, 2020).

#### 2.4 As bactérias como mecanismo promotor de crescimento em plantas

Bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) são aquelas que, como o nome indica, possuem mecanismos capazes de promover o crescimento das plantas (OLANREWAJU; GLICK; BABALOLA, 2017), seja por meio da interferência em seu metabolismo ou estimulando seu crescimento e produtividade (OLIVEIRA et al., 2014). Seu uso pode ser benéfico para aumentar a produção de alimentos, reduzir o consumo de fertilizantes e pesticidas e ser incorporado no processo de fitorremediação (GLICK, 2012; KHAIRINA et al., 2021).

Segundo Glick (2012), são diferentes os tipos de bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP), sendo elas: bactérias de vida livre, bactérias que vivem de forma simbiótica com plantas, bactérias endofíticas e cianobactérias. Além das bactérias promotoras de crescimento, existem também as bactérias inibidoras de crescimento (BICP), que tem

capacidade de reduzir o crescimento das plantas sem apresentar sintomas patogênicos (ISHIZAWA et al., 2017).

Os microrganismos podem se desenvolver na parte externa (por meio de biofilme) e interna da planta, sendo estes últimos denominados endofíticos (TRIVEDI et al., 2020). Trivedi et al. (2021) relatam como ocorre a colonização das plantas pelos microrganismos. As plantas liberam substâncias na forma de exsudatos que são identificados pelos microrganismos, que se deslocam em direção à planta e aderem à sua superfície (TRIVEDI et al., 2020). A atuação das BPCP pode ser de forma direta ou indireta (GLICK, 2012). Os mecanismos diretos são: i) facilitar a aquisição de recursos por meio da fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato e sequestrando ferro; ii) modulando os níveis de fitormônios, sendo eles citocininas, giberelinas, ácido indolacético (auxina) e etileno (GLICK, 2012). Os mecanismos indiretos são: i) produção de antibióticos e enzimas líticas; ii) produção de sideróforos; iii) competição entre organismos; iv) produção de etileno e; i) resistência sistêmica induzida (GLICK, 2012).

Além dos microrganismos benéficos para as plantas, existem também aqueles que são patogênicos e outros que são neutros (TRIVEDI et al., 2021). Além disso, a distribuição dos microrganismos na planta não é homogênea, indicando que a região da planta e sua dinâmica com o ambiente vai influenciar em quais microrganismos se estabelecerão ali (TRIVEDI et al., 2021). A depender das condições ambientais e da espécie de planta, as bactérias podem ou não atuar como promotoras de crescimento (GLICK, 2012). As BPCP podem ter seus efeitos alterados ou inibidos dependendo do meio em que são cultivadas com as plantas, e bactérias presentes no próprio meio de cultivo, conforme observado por Khairina et al. (2021), podem ser promotoras de crescimento (KHAIRINA et al., 2021).

Além das interações entre microrganismos e plantas, existem também as interações entre os próprios microrganismos, que podem ser de cooperação ou competição (TRIVEDI et al., 2021). Ishizawa et al. (2019) relatam que ainda existem desafios para serem superados com relação à utilização das BPCP em lentilhas d'água, como a interferência de bactérias presentes nos meios naturais das plantas.

Diversos estudos já utilizaram bactérias promotoras de crescimento em lentilhas d'água. Toyama et al. (2017) conduziu um estudo para avaliar o crescimento que a bactéria *Acinetobacter calcoaceticus* P23 causaria em três espécies de lentilha d'água sob diferentes condições de cultivo. Ishizawa et al. (2017) encontraram várias cepas de bactérias promotoras e inibidoras de crescimento, destacando *Aquitalea magnusonii* H3 como promotora de crescimento em todas as condições avaliadas. Khairina et al. (2021) fizeram experimento com duas bactérias previamente identificadas como promotoras de crescimento (*Acinetobacter*

*calcoaceticus* P23 e *Pseudomonas fulva* Ps6) e identificaram cepas de bactérias provenientes do cultivo de lentilhas d'água em água residuária como promotoras de crescimento, dentre elas encontram-se cepas de *Chryseobacterium*.

Apesar de já se terem descoberto BPCP para as lentilhas d'água e muito já se ter avançado, estudos que investiguem o funcionamento das BPCP em diferentes condições ambientais ainda são necessários (ISHIZAWA et al., 2019). Visando promover o cultivo sustentável das lentilhas d'água, devem ser incentivadas pesquisas que investiguem as relações entre essas plantas e seus microrganismos potencialmente benéficos (ISHIZAWA et al., 2017).

## 2.5 Os fitormônios como mecanismo promotor de crescimento

Como visto no item anterior, BPCP podem modular os níveis de fitormônios nas plantas. Outra possibilidade para aumentar a produtividade de lentilhas d'água é a adição externa.

Os fitormônios regulam vários processos celulares nas plantas (WANI et al., 2016) e têm a capacidade de alterar o crescimento, produção (LIU et al., 2019), desenvolvimento e respostas ambientais das plantas (WAADT, 2020). Os fitormônios também agem no crescimento e respostas a estresses nas plantas (STIRK; VAN STADEN, 2020).

As classes de fitormônios existentes são: os ácidos abscísico e salicílico, as auxinas, os brassinosteróides, as citocininas, o etileno, as estrigolactonas, giberelinas e os jasmonatos (STIRK; VAN STADEN, 2020).

As citocininas podem atuar de diferentes maneiras na planta, sendo algumas delas: i) crescimento da parte aérea da planta; ii) inibição do crescimento da raiz; iii) crescimento de gemas laterais; iv) retardamento da senescência foliar; v) mobilização de nutrientes; vi) regulação do desenvolvimento vascular; e vii) formação de nódulos fixadores de nitrogênio em plantas leguminosas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

## 2.6 A luz como mecanismo promotor de crescimento

A luz é imprescindível para o desenvolvimento das plantas (HAN et al., 2017), pois, na presença de luz e carbono inorgânico, elas realizam a fotossíntese. Diante disso, no cultivo fechado, a seleção apropriada da luz é um fator muito importante para o crescimento das plantas (TANG; MAO; GUO, 2020).

Iluminação artificial com lâmpadas incandescentes, de iodetos metálicos e fluorescentes, muitas vezes utilizadas em cultivos fechados, apresentam alguns pontos negativos como consumo energético e ciclo de vida pequeno (HAN et al., 2017).

Os modelos com diodo emissor de luz, ou *light emitting diode* (LED), por outro lado, permitem o controle da intensidade, periodicidade e comprimento de onda fornecidos aos cultivos em ambientes fechados (PINHO; JOKINEN; HALONEN, 2017). Além disso, podem ser colocadas próximos das plantas, devido ao seu reduzido valor de calor radiante gerado (VIRŠILĚ et al., 2020). Outro ponto interessante citado por Pinho; Jokinen e Halonen (2017) é que a associação de biotecnologia e modificações genéticas das plantas com as luzes LED pode fazer com que as plantas absorvam mais nutrientes do meio, o que é muito importante na perspectiva da fitorremediação.

As plantas absorvem a energia da luz numa faixa denominada radiação fotossinteticamente ativa (RFA). A RFA é aquela capaz de desencadear a fotossíntese nas plantas e compreende uma faixa de comprimento de onda de 400 a 700 nm (COPE; SNOWDEN; BUGBEE, 2014). O fitocromo é um pigmento que absorve luz principalmente nas cores vermelho e vermelho-distante, mas tem capacidade de também absorver na cor azul (TAIZ; ZEIGER, 2013). Eles possuem proteínas que absorvem luz nas cores vermelhas em dois comprimentos de onda, 660nm e 730 nm (LEE; PARK; OH, 2015). Paolacci, Harrison e Jansen (2018) relatam que as plantas têm capacidade de se adaptar às condições luminosas ambientais. Além disso, os efeitos dos diferentes comprimentos de onda nas plantas são variados e dependem da espécie estudada (HAN et al., 2017; TANG; MAO; GUO, 2020). Portanto, torna-se interessante estudar como cada espécie de planta reage quando em contato com diferentes comprimentos de onda, ou seja, diferentes cores de luz. Com o objetivo de avaliar como os diferentes comprimentos de onda afetam as plantas, estudos com diferentes cores de luz LED têm sido desenvolvidos (COPE; SNOWDEN; BUGBEE, 2014).

O fotoperíodo é outro fator importante de ser controlado no cultivo das lentilhas d'água. Ele representa o tempo em que as plantas serão expostas a períodos de luz e escuridão (YIN et al., 2015). As plantas podem responder ao fotoperíodo de três maneiras diferentes (JACKSON, 2009). Quando a resposta na planta é estimulada quando o fotoperíodo é, respectivamente, menor ou maior que o fotoperíodo crítico, tem-se plantas de dias curtos ou plantas de dias longos (JACKSON, 2009). Já quando a planta não responde ao fotoperíodo, tem-se plantas de dia neutro (JACKSON, 2009). Yin et al. (2015) realizou um estudo em que foram avaliadas diferentes intensidades luminosas e fotoperíodos no cultivo de lentilhas d'água. Nesse estudo, os fotoperíodos estudados foram de 12h / 12h, 16h / 8h, 24h / 0h de luz / escuro (Yin et al.,

2015). Os autores observaram que, com exceção das intensidades luminosas de 200 e 400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , ao se aumentar a intensidade luminosa e o fotoperíodo, aumenta-se também o crescimento da planta (Yin et al., 2015).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção da lentilha d'água

Exemplares de lentilhas d'água foram coletadas em um reservatório localizado no Horto Botânico da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situado no município de Viçosa (MG). O município possui altitude de 649 m e clima enquadrado como Cwa, segundo a classificação de Köppen e Geiger (CLIMATE-DATA, 2022; VIÇOSA, 2022). O reservatório encontra-se exposto às condições ambientais e apresenta diversas espécies de plantas aquáticas.

As plantas coletadas foram levadas para o Laboratório da Qualidade Ambiental (LQA), localizado no Departamento de Engenharia Agrícola da UFV. Visualmente foi possível observar o número de raízes por fronde nas lentilhas d'água coletadas. Com base em chaves de identificação que indicavam que a espécie *Landoltia punctata* apresentava de duas a cinco raízes por fronde (PEREIRA; POTT; TEMPONI, 2016) e de duas a seis raízes por fronde (LOURENÇO; BOVE, 2019), foi feita a seleção dessa espécie para cultivo no experimento, especificamente, um exemplar com 3 frondes (Figura 3).

Ressalta-se que antes de se iniciar a aclimação, as plantas foram higienizadas em solução a 1% de hipoclorito de sódio durante 60 segundos, em seguida foram lavadas com água corrente, e por fim, enxaguadas com água destilada (adaptado de LEÃO et al., 2014).

Figura 3 – Exemplar de *Landoltia punctata* cultivada em laboratório.



Fonte: Autora

É importante destacar que as chaves de identificação apresentam outras informações importantes como número de nervuras, coloração e formato das frondes (PEREIRA; POTT; TEMPONI, 2016; LOURENÇO; BOVE, 2019). Associado ao fato de que a seleção prévia da espécie foi feita visualmente e com base apenas em uma característica, foi necessário fazer a confirmação da espécie com um profissional da área.

Nesse sentido, após se ter uma quantidade maior de plantas, amostras de algumas delas prosseguiram para confirmação da identificação da espécie pelo professor Pedro Bond Schwartsburd, do Laboratório de Ecologia e Evolução de Plantas (LEEP/DBV/UFV), com base em chaves de identificação de lentilhas d'água no território brasileiro (PEREIRA; POTT; TEMPONI, 2016; LOURENÇO; BOVE, 2019), verificando-se que a planta era de fato da espécie *Landoltia punctata*.

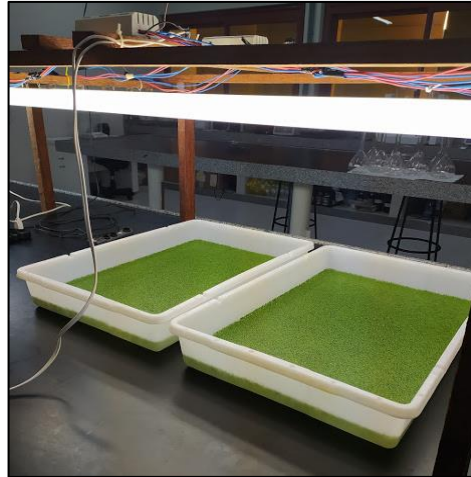
### 3.2. Aclimação da lentilha d'água

Para a aclimação, as plantas foram cultivadas em 100 mL de solução Clark (CLARK, 1975), a pH 6,5, temperatura ambiente (BRAGA, 2019) e com fotoperíodo de 16 h / 8 h (luz / escuro) (HUANG et al., 2016; LIU et al., 2019; TOYAMA et al., 2017). A iluminação artificial era fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares brancas de 40W e a intensidade luminosa média era de  $41,59 \pm 14,63 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Semanalmente era feita a troca da solução Clark antiga por uma nova. Previamente à renovação da solução, esta era aerada por meio de um compressor. O tempo de aeração variava de 15 a 30 min, a depender do volume de solução Clark que era renovado. Ressalta-se que à medida que as plantas se reproduziram, o volume de solução preparado e o tamanho dos potes em que elas eram cultivadas foi aumentado.

Após 6 meses da coleta das lentilhas d'água, estas estavam sendo cultivadas com 6 L de solução Clark (Figura 4).

Figura 4 – Plantas cultivadas em solução Clark após 6 meses da primeira coleta realizada no Horto Botânico da UFV.

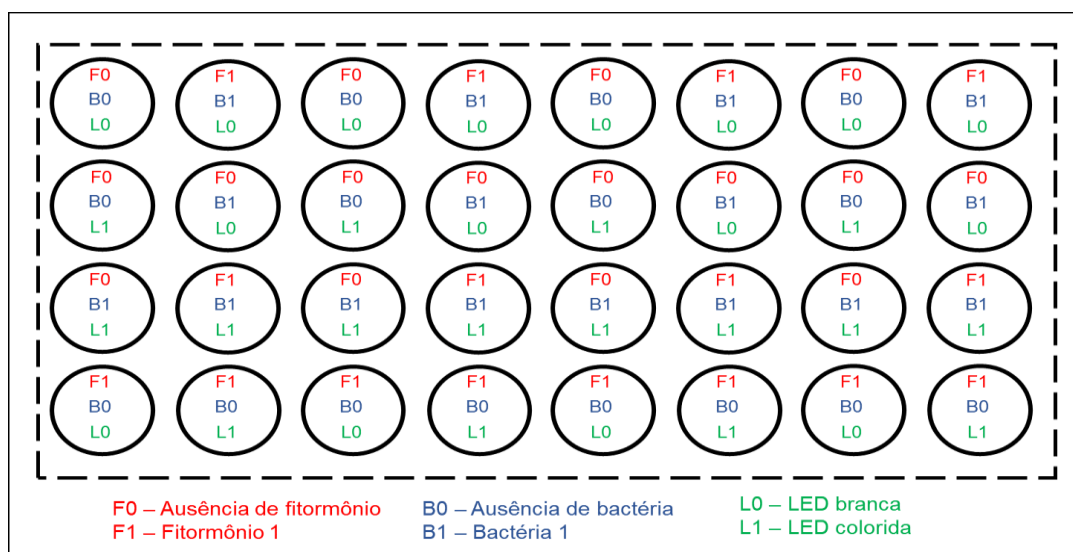


Fonte: Autora

### 3.3. Esquema de arranjo do delineamento experimental

No experimento foram avaliadas as interferências dos fatores bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP), fitormônios e luz LED no crescimento das plantas aquáticas. Nos dois primeiros fatores, foi avaliada sua presença e ausência, já no último, a interferência de LED colorida comparada à LED branca. Dessa forma, o experimento constitui-se de um esquema fatorial  $2 \times 2 \times 2$ , com 8 tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, totalizando 32 unidades de amostragem (Figura 5).

Figura 5 – Esquema de arranjo do experimento.



Fonte: Autora

Para melhor organização dos dados e resultados do estudo, os tratamentos foram nomeados como grupos, de acordo com a cor da luz e a presença e ausência de bactérias/fitormônio (Tabela 1).

Tabela 1 – Organização dos tratamentos testados no experimento por meio de grupos.

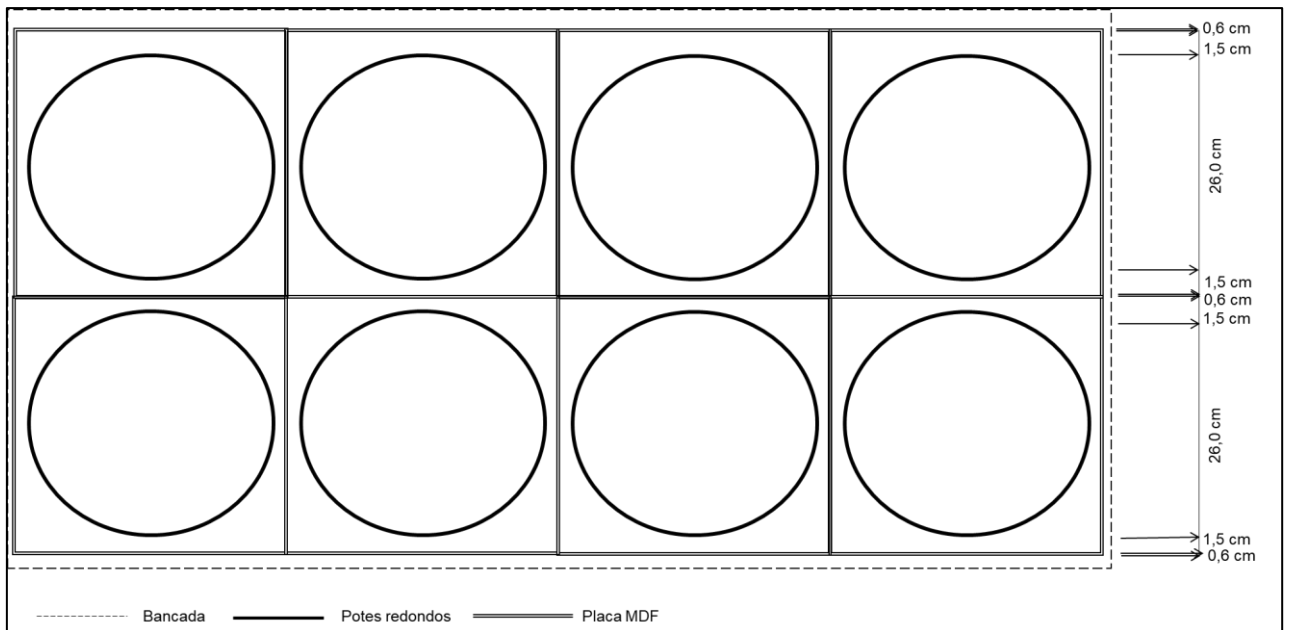
|         | <b>Luz</b> | <b>Bactéria</b> | <b>Fitormônio</b> | <b>Nome do grupo</b> |
|---------|------------|-----------------|-------------------|----------------------|
| Grupo 1 | Branca     | Inoculada       | Presente          | <b>BIP</b>           |
| Grupo 2 | Branca     | Inoculada       | Ausente           | <b>BIA</b>           |
| Grupo 3 | Branca     | Não inoculada   | Presente          | <b>BNP</b>           |
| Grupo 4 | Branca     | Não inoculada   | Ausente           | <b>BNA</b>           |
| Grupo 5 | Colorida   | Inoculada       | Presente          | <b>CIP</b>           |
| Grupo 6 | Colorida   | Inoculada       | Ausente           | <b>CIA</b>           |
| Grupo 7 | Colorida   | Não inoculada   | Presente          | <b>CNP</b>           |
| Grupo 8 | Colorida   | Não inoculada   | Ausente           | <b>CNA</b>           |

### 3.4. Estrutura experimental

A estrutura experimental foi alocada no Laboratório da Qualidade Ambiental (LQA) do Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa (UFV), exposto a temperatura ambiente.

Suportes de placas de fibras de médias densidade (MDF) de 50 cm de altura e 6 mm de espessura, na cor branca, foram utilizados para formar laterais de 32 cubos desprovidos de base superior e inferior. Para facilitar o manuseio da unidade experimental, os 32 cubos foram divididos em 4 grupos compostos de 8 cubos cada. Dentro de cada cubo, foram inseridos potes redondos de plástico com capacidade de 4 L e diâmetro externo de 26 cm. A distância entre os pontos extremos do diâmetro de cada pote e a lateral das placas de MDF foi de 1,5 cm (Figura 6). As placas apresentavam cortes transversais que permitiam que elas fossem moduláveis e de fácil manuseio.

Figura 6 – Esquema da estrutura do grupo de 8 cubos do experimento. Imagem fora de escala.

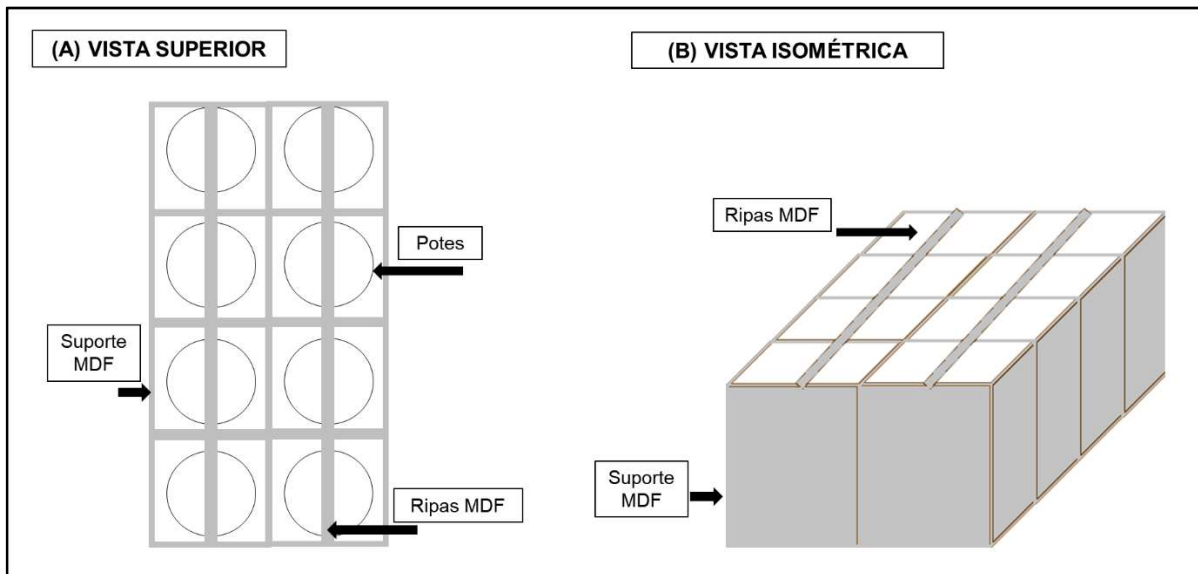


Fonte: Autora.

A estrutura completa do experimento (4 grupos de 8 cubos cada) foi apoiada em bancadas do LQA, ocupando uma área superficial de aproximadamente 2,8 m<sup>2</sup> (119 cm x 237,4 cm).

Apoiados na parte superior de cada cubo, foram colocadas ripas de MDF. Nestas, foram feitas instalações elétricas para inserção das diferentes lâmpadas utilizadas no experimento, de forma que cada cubo sofria interferência de apenas um tipo de LED. Essa estrutura permitiu que os tratamentos utilizados no experimento ficassem completamente isolados entre si. Na Figura 7 visualiza-se o esquema da estrutura experimental de um grupo de 8 cubos.

Figura 7 – Esquema da estrutura de um grupo de 8 cubos do experimento com (A) vista superior e (B) vista isométrica. A cor cinza para as placas de MDF foi utilizada para facilitar a visualização do esquema.



Fonte: Autora.

Dentro de cada pote redondo foram colocados 3 L de solução Clark,  $2,5 \pm 0,01$  g das plantas aquáticas (base úmida), as BPCP e o fitormônio. Após essa etapa, as ripas com luzes LED foram apoiadas na parte superior dos cubos, totalizando 8 ripas.

### 3.4. Fatores de otimização do crescimento

#### 3.4.1. Bactérias promotoras de crescimento

Essa etapa do trabalho foi feita em parceria com o Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da UFV. As informações apresentadas nos itens 3.4.1 e 3.4.2 foram baseadas em metodologia utilizada em estudo desse programa, em especial, no trabalho de Martins Filho (2021).

A bactérias utilizadas foram obtidas no Laboratório de Ecologia Microbiana, do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da UFV. As bactérias estavam armazenadas em microtubos com 0,30 ml de glicerol e 1,70 ml de cultura, congeladas em nitrogênio líquido em um freezer a temperatura  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Para sua reativação e formação de cultura, 100  $\mu\text{L}$  das bactérias foram colocados em caldo nutritivo (caldo de batata-dextrose ou caldo nutriente) e cultivados em “*shaker*” 24 h, a  $28^{\circ}\text{C}$  e 150 rpm. "Após essa fase, 1 mL da cultura reativada foi adicionado em uma cubeta para

verificação da densidade óptica (DO) por meio de um espectrofotômetro. A DO desejada era de 0,6. Caso a leitura no espectrofotômetro revelasse que a DO não estava apropriada, 1 mL da cultura reativada era adicionado em microtubos de 2 mL e centrifugado. O objetivo desse procedimento era formar um aglomerado de bactérias no fundo dos microtubos, denominado “*pellet*”, para concentrar as bactérias. Em seguida, o sobrenadante dos microtubos era eliminado e por meio de cálculos de diluição, um volume de caldo nutritivo era acrescentado ao microtubo, visando alcançar a DO 0,6. Após isso, esses recipientes eram agitados por meio de um agitador magnético, visando homogeneizar o “*pellet*” e o caldo nutritivo adicionado. O líquido homogeneizado foi chamado nesse trabalho de “substrato com bactérias”. Esse foi o procedimento padrão utilizado para cultivo de bactérias em todo o experimento.

#### 3.4.2 Cultivo e seleção das Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas

Para seleção da bactéria promotora de crescimento utilizada no experimento principal, foi feito um pré-teste no LQA com 23 cultivos bacterianos pertencentes à coleção do Laboratório de Ecologia Microbiana. Durante a realização do pré-teste, essas bactérias foram cultivadas em dois tipos de substratos nutritivos, sendo eles: i) caldo de batata-dextrose e ii) caldo nutriente. Para a melhor organização do experimento, foi feita a diferenciação das bactérias que haviam sido cultivadas em caldo de batata-dextrose, denominando-as de “Grupo 1”, daquelas cultivadas em caldo nutriente, denominando-as de “Grupo 2”.

Ressalta-se que para facilitar a escrita do texto, as bactérias serão apresentadas na forma de códigos numéricos, assim como estavam representadas no Laboratório de Ecologia Microbiana. A identificação das bactérias do Grupo 1 foi proveniente do trabalho de Martins Filho (2021), conforme apresentado na Tabela 2 (MARTINS FILHO, 2021). As bactérias do Grupo 2 não foram identificadas.

Tabela 2 – Identificação das Bactérias do Grupo 1.

| G1: Bactérias | Espécie                                                                           |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| B01           | <i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> ) |
| B10           | <i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> ) |
| B12           | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )   |
| B14           | <i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> ) |
| B15           | <i>Virgibacillus pantothenicus</i> ( <i>Bacillus</i> )                            |
| B17           | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )   |
| B19           | <i>Virgibacillus pantothenicus</i> ( <i>Bacillus</i> )                            |
| B24           | <i>Burkholderia cenocepacia</i>                                                   |
| B27           | <i>Bacillus cereus</i> GCsubgroupB                                                |
| B29           | <i>Bacillus cereus</i> GCsubgroupB                                                |
| B34           | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )   |

Fonte: Adaptado de Martins Filho (2021).

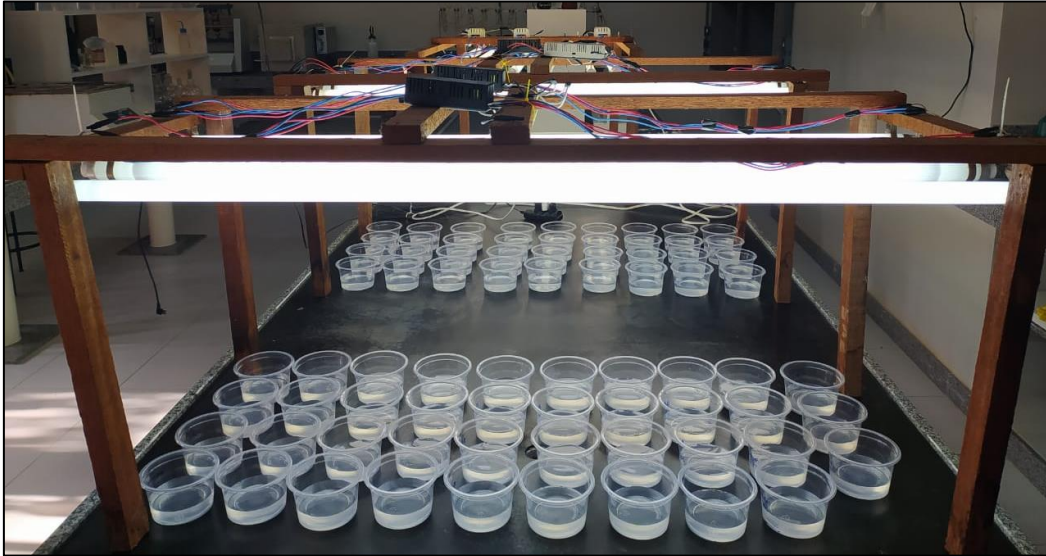
### 3.4.3. Estudos preliminares para seleção das células bacterianas

O estudo preliminar foi realizado por delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 23 bactérias e 2 controles, um para cada grupo. Todos os tratamentos foram feitos com 3 repetições, totalizando 75 unidades amostrais (Figura 8).

A estrutura experimental era constituída de iluminação por lâmpadas fluorescentes tubulares brancas de intensidade luminosa média de  $30,18 \pm 14,67 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 h / 8 h (luz / escuro), sendo este o mesmo utilizado na etapa de aclimatação das plantas e no experimento principal. Abaixo das bancadas, potes redondos com capacidade de 250 ml foram preenchidos com 100 ml de solução Clark.

O volume do substrato com bactérias utilizado no pré-teste foi de 1 mL, volume suficiente para que as plantas ficassem submersas nesse meio. O procedimento de inoculação consistiu em deixar 10 frondes de *Landoltia punctata* imersas em 1mL do substrato com bactérias por 1 hora. Após esse período, o substrato com bactéria e as lentilhas d'água foram inseridos nos potes redondos, que já continham solução Clark.

Figura 8 – Estrutura utilizada para o estudo preliminar na seleção da bactéria promotora de crescimento do projeto.



Fonte: Autora.

O pré-teste ficou em operação por 12 dias. Após esse período, a massa seca em cada pote foi contabilizada. Os resultados dos testes preliminares foram usados na seleção do cultivo bacteriano para promover o crescimento das lentilhas d'água.

#### 3.4.2. Fitormônio

O fitormônio utilizado na etapa principal do estudo foi citocinina (6-Benzilaminopurina, Sigma-Aldrich®). A seleção desse fitormônio foi baseada no estudo de Liu et al. (2019), em que a citocinina, comparada a outros fitormônios, apresentou melhor desempenho no acúmulo de biomassa. A aplicação na superfície das plantas foi feita através da pulverização de 5 mL de uma solução contendo  $10^{-3}$  mM do fitormônio (LIU et al. 2019) e dispersante Tween 80® na concentração de 0,02% (2 gotas de dispersante para 100 ml de solução). A aplicação foi realizada apenas no primeiro dia do experimento, após a etapa de inoculação das bactérias.

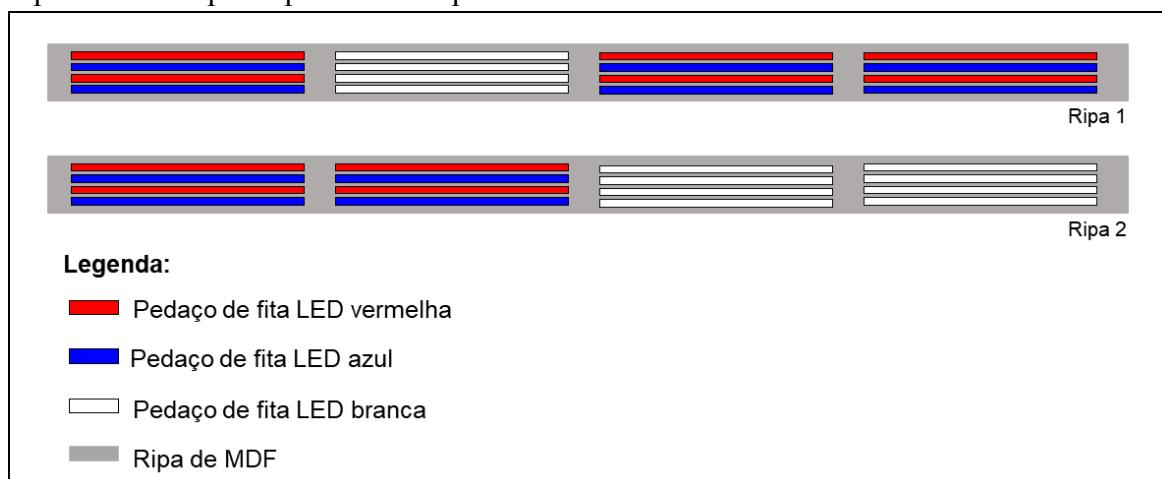
#### 3.4.3. Fonte de luz

As cores de luz LED selecionadas para o estudo foram azul e vermelha, que possuem comprimentos de onda presentes na faixa da radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Além disso, segundo Taiz e Zeiger (2013), a clorofila absorve luz principalmente nos comprimentos de onda de 430 nm (cor azul) e 660 nm (cor vermelha). Com isso, a seleção dessas cores

objetivou induzir a produção fotossintética, e assim, aumentar a produtividade das lentilhas d'água. Para esse estudo, foram utilizadas luzes LED devido aos benefícios a ela associados, conforme visto no item 2.6, no entanto, ressalta-se que outros tipos de lâmpadas também podem promover o crescimento vegetal.

As luzes LED utilizadas foram do modelo de fita. Cada uma das 8 ripas da estrutura foi dividida em 4 partes. Em cada parte, foram fixados 4 pedaços de fita de 25 cm cada, lado a lado, da cor de luz LED selecionada. Na Figura 9 apresenta-se um esquema de colocação das luzes na estrutura. Ressalta-se que para as luzes coloridas, foram colocados de forma alternada 2 segmentos da LED vermelha e 2 segmentos da LED azul. A distribuição das cores de luz LED instaladas em cada parte das ripas foi feita por meio de sorteio.

Figura 9 – Esquema de colocação das fitas de luz LED no experimento. Representação hipotética feita para apenas duas ripas.



Fonte: Autora.

#### 3.4.3.1 Estabelecimento das condições do fotoperíodo e intensidade luminosa

O fotoperíodo de operação das luzes LED foi de 16 h / 8 h (luz / escuro) (HUANG et al., 2016; LIU et al., 2019; TOYAMA et al., 2017) e a intensidade luminosa média de cada cor de luz encontra-se na Tabela 3. Com base no artigo de Yin et al. (2015), a melhor intensidade luminosa no cultivo de lentilhas d'água, sob o ponto de vista econômico, é de  $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Entretanto, obter essa exatidão em laboratório para os valores de intensidade luminosa é uma tarefa árdua, logo, objetivou-se ajustar as condições experimentais de forma que a intensidade luminosa fosse o mais próxima possível do valor reportado por Yin et al. (2015). As medições foram feitas com o sensor PAR Smart Sensor acoplado ao registrador de dados HOBO®

Weather Station. O sensor tem capacidade de medir a RFA numa faixa de 400 a 700 nm e 0 a 2500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Cada leitura foi feita no ponto central do conjunto de fitas LED e variou de 5 a 10 min.

Tabela 3 – Valores da Radiação Fotossinteticamente Ativa de cada conjunto de fitas LED.

| LEDs brancas               |                                                                    | LEDs coloridas             |                                                                    |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Identificação <sup>1</sup> | Média FRA <sup>2</sup><br>( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) | Identificação <sup>1</sup> | Média FRA <sup>2</sup><br>( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) |
| 1,1                        | 137,23                                                             | 1,3                        | 165,86                                                             |
| 1,2                        | 143,35                                                             | 1,5                        | 153,78                                                             |
| 1,4                        | 139,12                                                             | 1,7                        | 153,68                                                             |
| 1,6                        | 133,57                                                             | 2,1                        | 132,10                                                             |
| 1,8                        | 131,47                                                             | 2,2                        | 115,04                                                             |
| 2,3                        | 92,27                                                              | 2,5                        | 121,73                                                             |
| 2,4                        | 102,40                                                             | 2,6                        | 121,39                                                             |
| 2,7                        | 89,50                                                              | 3,1                        | 156,47                                                             |
| 2,8                        | 110,13                                                             | 3,2                        | 153,07                                                             |
| 3,3                        | 140,80                                                             | 3,4                        | 155,07                                                             |
| 3,5                        | 148,90                                                             | 3,7                        | 139,35                                                             |
| 3,6                        | 134,72                                                             | 4,2                        | 134,47                                                             |
| 3,8                        | 112,37                                                             | 4,5                        | 133,53                                                             |
| 4,1                        | 107,37                                                             | 4,6                        | 120,63                                                             |
| 4,3                        | 125,35                                                             | 4,7                        | 121,07                                                             |
| 4,4                        | 111,017                                                            | 4,8                        | 96,75                                                              |
| <b>Média:</b>              | <b>122,47</b>                                                      | <b>Média:</b>              | <b>135,87</b>                                                      |
| <b>Mediana:</b>            | <b>128,41</b>                                                      | <b>Mediana:</b>            | <b>134,00</b>                                                      |
| <b>Desvio padrão:</b>      | <b>18,87</b>                                                       | <b>Desvio padrão:</b>      | <b>19,12</b>                                                       |

<sup>1</sup>Código numérico de identificação dado para cada conjunto de 4 pedaços de fita LED. Juntos, eles compõem 32 partes das 8 ripas utilizadas no experimento.

<sup>2</sup>Radiação Fotossinteticamente Ativa.

### 3.5. Aclimação das plantas em luz LED

Como as plantas estavam sendo cultivadas sob luz fluorescente (item 3.2), foi necessário fazer nova aclimação em luz LED. Para isso, aproximadamente 85 g de massa úmida das plantas foram retiradas das bandejas da estrutura de aclimação e divididas em 6 potes contendo 3 L de solução Clark. O posicionamento dos potes foi alternando a cada 2 dias, de forma que as plantas ficassem em contato ora com a luz LED branca e ora com a luz LED colorida. A intensidade luminosa média da luz colorida na aclimação das plantas era de  $19,67 \pm 1,14 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e da luz branca era de  $17,80 \pm 1,04 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . O período de aclimação foi de 14 dias. A massa úmida corresponde à massa de plantas que não passaram pelo processo

de secagem em estufa. Para sua pesagem, foi feita apenas a retirada superficial de água com papel absorvente.

Ressalta-se, novamente, que a luz LED foi escolhida para o estudo devido às suas vantagens, como controle da intensidade, comprimento de onda e reduzido calor radiante gerado (PINHO; JOKINEN; HALONEN, 2017; VIRŠILĖ et al., 2020), conforme visto no item 2.6.

### 3.6. Análises quantitativas

#### 3.6.1. Análises realizadas no experimento

Um resumo das análises realizadas no experimento encontra-se na Tabela 4. As metodologias utilizadas para cada análise encontram-se detalhadas nos sub-itens dessa seção.

Tabela 4 – Resumo das análises realizadas no experimento e base de coleta.

| <b>Análises quantitativas</b>                             | <b>Substrato líquido dos recipientes</b> | <b>Solução nutritiva Clark</b> | <b>Plantas</b> |
|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------|----------------|
| Nitrogênio como amônio (N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )  | X                                        | X                              |                |
| Nitrogênio como nitrato (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) | X                                        | X                              |                |
| Fósforo como fosfato (P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )   | X                                        | X                              |                |
| Turbidez (TU)                                             | X                                        |                                |                |
| Oxigênio dissolvido (OD)                                  | X                                        |                                |                |
| Condutividade elétrica (CE)                               | X                                        |                                |                |
| Potencial de oxirredução (POR)                            | X                                        |                                |                |
| pH                                                        | X                                        | X                              |                |
| Clorofila a (Clor a)                                      |                                          |                                | X              |
| Clorofila b (Clor b)                                      |                                          |                                | X              |
| Carotenoides (Car)                                        |                                          |                                | X              |

#### 3.6.2. Cultivo de *Landoltia punctata* em Solução Clark

Como são múltiplas as aplicações das lentilhas d'água e visando analisar primeiramente os efeitos que os tratamentos causariam nas plantas em um ambiente que não causasse estresse

biológico na *Landoltia punctata*, o experimento principal foi conduzido em substrato nutritivo Clark (BRAGA et al., 2021).

A solução apresenta vários macro e micronutrientes e as concentrações dos principais nutrientes avaliados nesse estudo idealmente são de 12,6 mg L<sup>-1</sup> de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 96,6 mg L<sup>-1</sup> de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e 2,14 mg L<sup>-1</sup> de P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>. No entanto, devido à inexatidão nos procedimentos laboratoriais, como pequenas diferenças entre a massa ideal de reagente a ser pesado e a massa de fato pesada na balança, as concentrações iniciais de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> no experimento foram de 15,47 ± 2,12 mg L<sup>-1</sup>, 99,54 ± 0,90 mg L<sup>-1</sup> e 1,44 ± 0,03 mg L<sup>-1</sup>. As características iniciais da solução Clark utilizada como substrato de cultura para o experimento encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 – Características da solução nutritiva Clark no primeiro dia de experimento.

| Variável                                              | Valor        |
|-------------------------------------------------------|--------------|
| N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )  | 15,47 ± 2,12 |
| N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )  | 99,54 ± 0,90 |
| P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg L <sup>-1</sup> ) | 1,44 ± 0,03  |
| pH                                                    | 6,5 ± 0,04   |

As análises de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> e OD seguiram os métodos indicados no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2017), procedimentos 4500-NH<sub>3</sub> B e C, 4500-NO<sub>3</sub> C, 4500-P E e 4500-O C, respectivamente. Para as análises de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, que necessitavam de curva padrão, foram obtidos coeficientes de determinação, em ambos os casos de 0,9999. A medição de pH e temperatura foi feita com o sensor HACH® IntellicCAL PHC101.

Previamente à colocação nos potes, o pH foi ajustado para 6,5 ± 0,04 e o ar foi saturado nas condições de pressão e temperatura de Viçosa (MG), que possui uma média de 20,4°C (CLIMATE-DATA, 2022).

### 3.6.3. Quantificação de nutrientes no substrato líquido

Amostras compostas do substrato líquido de cada recipiente foram coletadas e analisadas quanto à concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, pH, CE, POR, TU e OD. As análises de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> e OD seguiram os métodos indicadas em APHA (2017), sendo os mesmos procedimentos indicados anteriormente. A medição de pH foi feita com o

sensor HACH® IntellicCAL PHC101, POR e CE foram analisados com medidor eletroquímico HACH® MP-6 Kit e a turbidez foi medida com o turbidímetro Thermo Scientific® AQ3010 Orion AQUAfast. Para as análises de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, foi feita a filtração das amostras em membrana de 0,45 µm e a leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro da HACH® modelo DR6000 Benchtop.

Foram feitas coletas das amostras para análise em dois intervalos de tempo: 5 e 10 dias. Além disso, foi feita a medição da evapotranspiração nos dias 5 e 10 do experimento, para avaliar o balanço de massa de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> no substrato líquido. O período máximo de 10 dias para a realização do teste foi baseado no trabalho de Braga et al. (2021), também realizado com a espécie *Landoltia punctata* na temática da fitorremediação.

O balanço de massa do dia 5 foi calculado por meio da seguinte fórmula (Eq. 1):

$$M_5 = C_5 \cdot (V_i - V_{ev5}) \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que:

M<sub>5</sub> = Massa de saída do nutriente no dia 5 (mg);

C<sub>5</sub> = Concentração do nutriente no substrato líquido do experimento, no dia 5 (mg L<sup>-1</sup>);

V<sub>i</sub> = Volume inicial de solução Clark no pote, equivalente a 3 L (L)

V<sub>ev5</sub> = Volume evapotranspirado acumulado nos primeiros 5 dias de teste.

Já o balanço de massa do dia 10 foi calculado por meio da seguinte fórmula (Eq. 2):

$$M_{10} = C_{10} \cdot [V_i - (V_{ev5} + V_{ev10})] \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que:

M<sub>10</sub> = Massa de saída do nutriente no dia 10 (mg);

C<sub>10</sub> = Concentração do nutriente no substrato líquido do experimento, no dia 10 (mg L<sup>-1</sup>);

V<sub>i</sub> = Volume inicial de solução Clark no pote, equivalente a 3 L (L);

V<sub>a</sub> = Volume de amostragem no dia 5, equivalente a 0,5 L (L);

V<sub>ev5</sub> = Volume evapotranspirado acumulado nos primeiros 5 dias de teste;

V<sub>ev10</sub> = Volume evapotranspirado acumulado entre os sexto e o décimo dias de teste.

A eficiência de remoção de nutrientes do substrato líquido pelos tratamentos aplicados foi obtida com base no balanço de massa, por meio da seguinte equação (Eq. 3):

$$E = \frac{M_i - M_s}{M_i} \cdot 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que:

E = Eficiência mássica de remoção, (%);

M<sub>i</sub> = Massa inicial do nutriente no dia 0, (mg);

M<sub>s</sub> = Massa de nutriente no dia analisado, sendo dia 5 ou 10, (mg).

### 3.6.4. Análises das plantas

#### 3.6.4.1. Quantificação de pigmentos

No dia de início do experimento (dia 0) e no final do experimento (dia 10), foram feitas análises de clorofila a, clorofila b e carotenoides na massa úmida das plantas. O método de extração foi adaptado de Su et al. (2010), utilizando etanol 95% e fazendo-se a leitura dos pigmentos após aproximadamente 30 min da finalização do processo de extração. A equação utilizada nos cálculos dos pigmentos foi adaptada de Lichtenthaler (1987), com alteração nos comprimentos de onda utilizados para 664 nm, 649 nm e 470 nm. Também foi feita a leitura no comprimento de onda de 750 nm, para retirar as interferências da turbidez na leitura dos pigmentos (PANCHA et al., 2014). Dessa forma, as equações utilizadas para cálculo de clorofila a, clorofila b e carotenoides estão representadas nas Equações 4, 5 e 6. O espectrofotômetro utilizado nessas análises foi o HACH® modelo DR6000 Benchtop.

$$\text{Clor a } (\mu\text{g/mL}) = 13,36 \cdot (\text{Abs } 664 - \text{Abs } 750) - 5,19 \cdot (\text{Abs } 649 - \text{Abs } 750) \quad (\text{Eq. 4})$$

$$\text{Clor b } (\mu\text{g/mL}) = 27,43 \cdot (\text{Abs } 649 - \text{Abs } 750) - 8,12 \cdot (\text{Abs } 664 - \text{Abs } 750) \quad (\text{Eq. 5})$$

$$\text{Caro } (\mu\text{g/mL}) = \frac{1000 \cdot (\text{Abs } 470 - \text{Abs } 750) - 2,13 \cdot \text{Clor a} - 97,64 \cdot \text{Clor b}}{209} \quad (\text{Eq. 6})$$

Em que:

Clor a = Concentração de clorofila a nas plantas;

Clor b = Concentração de clorofila b nas plantas;

Caro = Concentração de carotenoides nas plantas;

Abs 664 = Valor de absorção no comprimento de onda de 664 nm;  
 Abs 649 = Valor de absorção no comprimento de onda de 649 nm;  
 Abs 470 = Valor de absorção no comprimento de onda de 470 nm;  
 Abs 750 = Valor de absorção no comprimento de onda de 750 nm;

Para obter-se a massa de pigmentos por massa úmida de plantas, foram utilizadas as seguintes equações (Eq. 7, Eq. 8 e Eq. 9):

$$Clor\ a\ (mg/g) = \frac{Clor\ a\ (\mu g/mL).25mL}{1000.m_{plantas}} \quad (Eq. 7)$$

$$Clor\ b\ (mg/g) = \frac{Clor\ b\ (\mu g/mL).25mL}{1000.m_{plantas}} \quad (Eq. 8)$$

$$Caro\ (mg/g) = \frac{Caro\ (\mu g/mL).25mL}{1000.m_{plantas}} \quad (Eq. 9)$$

Em que:

Clor a = Concentração de clorofila a nas plantas;

Clor b = Concentração de clorofila b nas plantas;

Caro = Concentração de carotenoides nas plantas;

$m_{plantas}$  = Corresponde a massa úmida das plantas pesada para extração de clorofila.

#### 3.6.4.2 Crescimento

A análise feita para avaliar o crescimento das plantas ao longo do tempo de experimento foi por meio da aferição de sua massa úmida no décimo dia.

#### 3.7. Análises estatísticas

No pré-teste para seleção da bactéria promotora de crescimento mais promissora, aplicou-se a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Scott-Knott com 5% de nível de probabilidade.

No experimento principal, os dados foram tratados para identificação de *outliers* pelo método gráfico de Box-Plot. Foram calculados os quartis 1 (Q1) e 3 (Q3) seguido da distância

interquartil (IQD), dado por  $Q3 - Q1$ . Os pontos que estavam abaixo do limite inferior ( $Q1 - 1,5.IQD$ ) e acima do limite superior ( $Q3 + 1,5.IQD$ ) foram definidos como *outliers*.

Após retirada dos *outliers*, todos os dados foram submetidos aos testes de normalidade e heterocedasticidade, seguidos da ANOVA. As médias foram então comparadas utilizando-se o teste de Tukey com 5% de probabilidade. Para os resultados que foram significativos, foi feito o desdobramento da interação de maior grau entre os fatores luz (L), bactéria (B) e fitormônio (F). Para as variáveis-resposta massa úmida e nutrientes foi usado o nível de significância de 10%. As demais variáveis foram avaliadas nos níveis de 1% e 5%. Para os resultados não significativos, assumiu-se o resultado equivalente ao da média geral.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Seleção da cepa de bactéria promotora de crescimento

Os valores de massa seca para cada grupo de bactérias após 12 dias de pré-teste encontram-se na Tabela 6. Ressalta-se que em ensaios realizados previamente à condução deste trabalho, foi observado que as plantas cultivadas apresentavam um conteúdo de água em torno de 94,4%. Isso justifica os valores encontrados nas pesagens de massa seca.

Tabela 6 – Resultados do teste de massa seca para identificar quais bactérias testadas poderiam promover crescimento em *Landoltia punctata*.

| Repetição | GRUPO 1     |                 | GRUPO 2     |                 |
|-----------|-------------|-----------------|-------------|-----------------|
|           | Bactérias   | Massa seca (mg) | Bactérias   | Massa seca (mg) |
| 1         | Controle G1 | 2,0             | Controle G2 | 2,7             |
| 2         | Controle G1 | 3,0             | Controle G2 | 1,5             |
| 3         | Controle G1 | 3,8             | Controle G2 | 1,9             |
| 1         | B01         | 3,0             | B24 G2      | 2,9             |
| 2         | B01         | 2,6             | B24 G2      | 2,6             |
| 3         | B01         | 2,7             | B24 G2      | 2,9             |
| 1         | B10         | 1,1             | B28         | 2,9             |
| 2         | B10         | 2,9             | B28         | 3,8             |
| 3         | B10         | 2,2             | B28         | 3,3             |
| 1         | B12         | 2,2             | B29 G2      | 2,9             |
| 2         | B12         | 2,1             | B29 G2      | 2,4             |
| 3         | B12         | 3,4             | B29 G2      | 3,4             |
| 1         | B14         | 3,5             | B32         | 2,7             |
| 2         | B14         | 2,9             | B32         | 3,4             |
| 3         | B14         | 2,2             | B32         | 3,7             |
| 1         | B15         | 3,0             | B33         | 2,9             |
| 2         | B15         | 2,3             | B33         | 1,7             |

Continuação

| GRUPO 1   |           |                 | GRUPO 2   |                 |
|-----------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|
| Repetição | Bactérias | Massa seca (mg) | Bactérias | Massa seca (mg) |
| 3         | B15       | 2,5             | B33       | 2,1             |
| 1         | B17       | 3,2             | B34 G2    | 2,3             |
| 2         | B17       | 3,9             | B34 G2    | 2,4             |
| 3         | B17       | 2,1             | B34 G2    | 2,7             |
| 1         | B19       | 3,9             | B46       | 3,9             |
| 2         | B19       | 2,0             | B46       | 2,7             |
| 3         | B19       | 2,6             | B46       | 2,1             |
| 1         | B24 G1    | 2,8             | B81       | 3,4             |
| 2         | B24 G1    | 2,7             | B81       | 2,8             |
| 3         | B24 G1    | 2,1             | B81       | 3,3             |
| 1         | B27       | 2,1             | B147      | 1,4             |
| 2         | B27       | 3,2             | B147      | 1,9             |
| 3         | B27       | 2,8             | B147      | 2,1             |
| 1         | B29 G1    | 3,3             | B170      | 3,4             |
| 2         | B29 G1    | 3,0             | B170      | 1,9             |
| 3         | B29 G1    | 2,2             | B170      | 2,7             |
| 1         | B34 G1    | 3,0             | B211      | 2,8             |
| 2         | B34 G1    | 2,0             | B211      | 2,8             |
| 3         | B34 G1    | 2,9             | B211      | 2,6             |
| 1         | -         | -               | B232      | 2,6             |
| 2         | -         | -               | B232      | 3,6             |
| 3         | -         | -               | B232      | 2,7             |

Não foram encontradas diferenças significativas para nível de significância de 5% aplicando-se a ANOVA nos dados médios de massa seca do Grupo 1 ( $p = 0,93275$ ), dessa forma, essas bactérias foram desconsideradas do trabalho como potenciais bactérias promotoras de crescimento para as lentilhas d'água sob as condições estudadas. Em contrapartida, para o

mesmo nível de significância, foram encontradas diferenças significativas para o Grupo 2 ( $p = 0,027287$ ).

Como havia um número grande de tratamentos, optou-se por aplicar o teste de Scott-Knott a 5% de significância. A partir desse teste, encontrou-se que as bactérias B28, B32, B81, B232, B29 G2, B46, B24 G2, B211 e B170 foram promotoras de crescimento em *Landoltia punctata* nas condições de cultivo testadas (Tabela 7). Apesar dos resultados médios entre essas bactérias serem estatisticamente iguais, foi necessário selecionar uma delas para ser utilizada no experimento. Dessa forma, optou-se pela seleção da bactéria que apresentou o maior valor numérico de média de massa seca, sendo ela a B28.

Tabela 7 – Resultado do teste de Scott-Knott ( $\alpha = 5\%$ ) para as médias de massa seca de cada bactéria do Grupo 2.

| Grupos | Tratamentos | Massa seca média (mg) $\pm$ desvio padrão |
|--------|-------------|-------------------------------------------|
| a      | B28         | 3,3 $\pm$ 0,5                             |
| a      | B32         | 3,3 $\pm$ 0,5                             |
| a      | B81         | 3,2 $\pm$ 0,3                             |
| a      | B232        | 3,0 $\pm$ 0,6                             |
| a      | B29 G2      | 2,9 $\pm$ 0,5                             |
| a      | B46         | 2,9 $\pm$ 0,9                             |
| a      | B24 G2      | 2,8 $\pm$ 0,2                             |
| a      | B211        | 2,7 $\pm$ 0,1                             |
| a      | B170        | 2,7 $\pm$ 0,8                             |
| b      | B34 G2      | 2,5 $\pm$ 0,2                             |
| b      | B33         | 2,2 $\pm$ 0,6                             |
| b      | Controle G2 | 2,0 $\pm$ 0,6                             |
| b      | B147        | 1,8 $\pm$ 0,4                             |

Ishizawa et al. (2017) conduziram um estudo com 22 microrganismos isolados de lentilhas d'água e encontraram bactérias promotoras e inibidoras de crescimento nessas plantas. Além disso, as interações entre os diferentes microrganismos também causam efeitos diversos nas plantas. Por exemplo, no estudo desses autores foram obtidos efeitos promotores ao se associarem cepas promotoras com inibidoras de crescimento (ISHIZAWA et al., 2017).

Nesse estudo não foi feita a esterilização de *Landoltia punctata* antes de inoculá-las com as 23 bactérias testadas justamente para avaliar as interações entre elas e os microrganismos presentes na planta. Portanto, provavelmente além da influência das interações bactéria-planta

na determinação de BPCP para *Landoltia punctata*, a interação bactéria-microrganismos também pode ter tido papel importante.

#### 4.2. Substrato líquido do experimento

##### 4.2.1. Resultados da ANOVA para as variáveis analisadas

Nas Tabelas 8, 9, 10 e 11 apresentam-se os resultados da ANOVA obtidos para todas as variáveis analisadas nesse estudo, nos dias 5 e 10 de experimento.

Tabela 8 – Resultados da ANOVA para as análises de P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nos dias 5 e 10 de experimento. Os valores do nível de significância encontram-se entre parênteses após o valor do Quadrado Médio (QM).

| Fonte       | GL | QM (p-valor)                       |                      |                                |                       |                                |                       |
|-------------|----|------------------------------------|----------------------|--------------------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------|
|             |    | P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>    |                      | N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> |                       | N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> |                       |
|             |    | Dia 5                              | Dia 10               | Dia 5                          | Dia 10                | Dia 5                          | Dia 10                |
| L           | 1  | 2,1279 <sup>***</sup><br>(<0,0001) | 0,0001 <sup>ns</sup> | 10,3814 <sup>ns</sup>          | 20,0275 <sup>ns</sup> | 117,4043 <sup>ns</sup>         | 13,6879 <sup>ns</sup> |
| B           | 1  | 0,0024 <sup>ns</sup>               | 0,0001 <sup>ns</sup> | 68,1223 <sup>ns</sup>          | 4,6712 <sup>ns</sup>  | 128,3777*<br>(0,0873)          | 18,7849 <sup>ns</sup> |
| F           | 1  | 0,0023 <sup>ns</sup>               | 0,0000 <sup>ns</sup> | 34,8031 <sup>ns</sup>          | 0,6815 <sup>ns</sup>  | 218,0402**<br>(0,0290)         | 13,0920 <sup>ns</sup> |
| LxB         | 1  | 0,2493*<br>(0,0662)                | 0,0000 <sup>ns</sup> | 54,1435 <sup>ns</sup>          | 2,4501 <sup>ns</sup>  | 29,9663 <sup>ns</sup>          | 10,5834 <sup>ns</sup> |
| LxF         | 1  | 0,0128 <sup>ns</sup>               | 0,0000 <sup>ns</sup> | 40,8821 <sup>ns</sup>          | 48,3212 <sup>ns</sup> | 14,8471 <sup>ns</sup>          | 0,7863 <sup>ns</sup>  |
| BxF         | 1  | 0,0358 <sup>ns</sup>               | 0,0000 <sup>ns</sup> | 53,0563 <sup>ns</sup>          | 12,7203 <sup>ns</sup> | 10,0366 <sup>ns</sup>          | 159,0903*<br>(0,0515) |
| LxBxF       | 1  | 0,3922**<br>(0,0238)               | 0,0001 <sup>ns</sup> | 78,7205 <sup>ns</sup>          | 24,7689 <sup>ns</sup> | 48,1138 <sup>ns</sup>          | 23,3351 <sup>ns</sup> |
| Resíduo     | 24 | 0,0673                             | 0,0001               | 31,2132                        | 19,2454               | 40,3932                        | 37,8654               |
| CV          |    | 14,1711                            | 165,7226             | 14,4336                        | 28,2142               | 2,1137                         | 2,1183                |
| Média geral |    | 1,8305<br>(mg)                     | 0,0046<br>(mg)       | 38,7076<br>(mg)                | 15,5488<br>(mg)       | 300,6863<br>(mg)               | 290,4870<br>(mg)      |

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*\*\*</sup> Significativo ao nível de 1%; <sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 5%; <sup>\*</sup> Significativo ao nível de 10%; GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação; QM: quadrado médio; B: Bactéria; F: Fitormônio; L: Luz LED.

Os resultados não foram significativos para P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (dia 10) e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (dias 5 e 10) sob todos os tipos de interações; para P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (dia 5) nas interações simples de bactéria e fitormônio e duplas de LxF e BxF; para N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (dia 5) na interação simples de luz e todas as interações duplas e tripla; e para N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (dia 10) em todas as interações simples e tripla, e nas interações duplas de LxB e LxF. As interações significativas presentes na Tabela 8 serão abordadas no item 4.2.2 e 4.2.3.

Tabela 9 – Resultados da ANOVA para as análises de clorofila a, clorofila b, carotenoides e massa úmida das plantas após 10 dias de experimento. Os valores do nível de significância encontram-se entre parênteses após o valor do quadrado médio (QM).

| Fonte       | GL | QM (p-valor)                    |                                 |                                 |                      |
|-------------|----|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------|
|             |    | Clorofila a                     | Clorofila b                     | Carotenoides                    | Massa úmida          |
| L           | 1  | 0,0000 <sup>ns</sup>            | 0,0001 <sup>ns</sup>            | 0,0000 <sup>ns</sup>            | 1,3343 <sup>ns</sup> |
| B           | 1  | 0,0057 <sup>ns</sup>            | 0,0009 <sup>ns</sup>            | 0,0006 <sup>ns</sup>            | 0,8508 <sup>ns</sup> |
| F           | 1  | 0,0002 <sup>ns</sup>            | 0,0000 <sup>ns</sup>            | 0,0000 <sup>ns</sup>            | 2,1808*<br>(0,0784)  |
| LxB         | 1  | 0,0088 <sup>ns</sup>            | 0,0014 <sup>ns</sup>            | 0,0007 <sup>ns</sup>            | 3,0316**<br>(0,0403) |
| LxF         | 1  | 0,0000 <sup>ns</sup>            | 0,0002 <sup>ns</sup>            | 0,0000 <sup>ns</sup>            | 2,1424*<br>(0,0809)  |
| BxF         | 1  | 0,0142 <sup>ns</sup>            | 0,0008 <sup>ns</sup>            | 0,0005 <sup>ns</sup>            | 0,9809 <sup>ns</sup> |
| LxBxF       | 1  | 0,0010 <sup>ns</sup>            | 0,0000 <sup>ns</sup>            | 0,0001 <sup>ns</sup>            | 0,0844 <sup>ns</sup> |
| Resíduo     | 24 | 0,0052                          | 0,0008                          | 0,0004                          | 0,6451               |
| CV          |    | 7,6598                          | 8,1891                          | 7,3577                          | 9,6514               |
| Média geral |    | 0,9394<br>(mg g <sup>-1</sup> ) | 0,3486<br>(mg g <sup>-1</sup> ) | 0,2582<br>(mg g <sup>-1</sup> ) | 8,322<br>(mg)        |

<sup>ns</sup> Não significativo; \*\*\* Significativo ao nível de 1%; \*\* Significativo ao nível de 5%; \* Significativo ao nível de 10%; GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação; CV: coeficiente de variação; QM: quadrado médio; B: Bactéria; F: Fitormônio; L: Luz LED.

Não foram encontrados resultados significativos para nenhum dos pigmentos analisados. Para massa úmida, os resultados não foram significativos para os fatores simples de luz e bactéria, para a interação dupla de BxF e para a interação tripla. As interações significativas presentes na Tabela 9 serão abordadas no item 4.2.2. e 4.2.3.

Os valores iniciais médios de clorofila a, clorofila b e carotenoides foram de, respectivamente,  $0,978 \pm 0,040$  mg g<sup>-1</sup>,  $0,417 \pm 0,021$  mg g<sup>-1</sup> e  $0,284 \pm 0,015$  mg g<sup>-1</sup>. A massa úmida média no dia inicial de experimento para os grupos BIP, BIA, BNP e BNA, foram de,

respectivamente,  $2,496 \pm 0,0007$  g,  $2,502 \pm 0,006$  g,  $2,497 \pm 0,004$  g e  $2,505 \pm 0,006$  g. Para os grupos CIP, CIA, CNP e CNA, a massa úmida média inicial foi de, respectivamente,  $2,498 \pm 0,007$  g,  $2,497 \pm 0,005$  g,  $2,498 \pm 0,007$  g e  $2,504 \pm 0,005$  g. Ressalta-se que, conforme mencionado previamente, a massa úmida corresponde à massa de plantas que não foram secadas em estufa.

Tabela 10 – Resultados da ANOVA para as análises de oxigênio dissolvido (OD), potencial de oxirredução (POR) e condutividade elétrica (CE) para os dias 5 e 10 de experimento. Os valores do nível de significância encontram-se entre parênteses após o valor do Quadrado Médio (QM).

| Fonte       | GL | QM (p-valor)                    |                                 |                         |                          |                                     |                                     |
|-------------|----|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
|             |    | OD                              |                                 | POR                     |                          | CE                                  |                                     |
|             |    | Dia 5                           | Dia 10                          | Dia 5                   | Dia 10                   | Dia 5                               | Dia 10                              |
| L           | 1  | 18,1792**<br>(0,0454)           | 1,2423*<br>(0,0606)             | 1682,0000*<br>(0,0707)  | 770,2812 <sup>ns</sup>   | 2610,0310***<br>(0,0015)            | 4255,0310***<br>(0,0003)            |
| B           | 1  | 0,8196 <sup>ns</sup>            | 5,3002***<br>(0,0004)           | 2178,0000**<br>(0,0417) | 3762,7800**<br>*(0,0036) | 1,53125 <sup>ns</sup>               | 1471,5310**<br>(0,0216)             |
| F           | 1  | 0,6686 <sup>ns</sup>            | 2,0338**<br>(0,0188)            | 420,5000 <sup>ns</sup>  | 1188,2810*<br>(0,0827)   | 318,7812 <sup>ns</sup>              | 282,0312 <sup>ns</sup>              |
| LxB         | 1  | 8,0244 <sup>ns</sup>            | 3,5848***<br>(0,0027)           | 2380,5000**<br>(0,0339) | 101,5312 <sup>ns</sup>   | 830,2812*<br>(0,0543)               | 2719,5310***<br>(0,0027)            |
| LxF         | 1  | 0,1228 <sup>ns</sup>            | 0,8284 <sup>ns</sup>            | 4,5000 <sup>ns</sup>    | 657,0312 <sup>ns</sup>   | 472,7812 <sup>ns</sup>              | 1092,7810**<br>(0,0447)             |
| BxF         | 1  | 0,8196 <sup>ns</sup>            | 2,2913**<br>(0,0133)            | 8,0000 <sup>ns</sup>    | 124,0312 <sup>ns</sup>   | 639,0312*<br>(0,0886)               | 621,2812 <sup>ns</sup>              |
| LxBxF       | 1  | 3,8284 <sup>ns</sup>            | 0,2229 <sup>ns</sup>            | 1624,5000*<br>(0,0754)  | 157,5312 <sup>ns</sup>   | 569,5312 <sup>ns</sup>              | 1140,0310**<br>(0,0407)             |
| Resíduo     | 24 | 4,0804                          | 0,3204                          | 470,3333                | 362,2396                 | 202,7812                            | 243,5104                            |
| CV          |    | 129,5646                        | 13,3677                         | 8,2148                  | 6,6628                   | 1,2876                              | 1,2846                              |
| Média geral |    | 1,5591<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | 4,2341<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | 264<br>(mV)             | 285,6562<br>(mV)         | 1105,9062<br>(μS cm <sup>-1</sup> ) | 1214,7188<br>(μS cm <sup>-1</sup> ) |

<sup>ns</sup> Não significativo; \*\*\* Significativo ao nível de 1%; \*\* Significativo ao nível de 5%; \* Significativo ao nível de 10%; GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação; QM: quadrado médio; B: Bactéria; F: Fitormônio; L: Luz LED.

Não foram encontradas diferenças significativas para OD (dia 5) nas interações simples de bactéria e fitormônio, assim como em nenhuma das interações duplas e na interação tripla. Para essa mesma variável no dia 10, não foram observadas diferenças significativas para a

interação dupla de LxF e para a interação tripla. Para POR (dia 5), não foram observadas diferenças significativas na interação simples de fitormônio e nas interações duplas de LxF e BxF. No dia 10, não foram encontradas diferenças significativas em POR para a interação simples de luz, e para nenhuma das interações duplas e tripla. Para CE (dia 5), não foram observadas diferenças significativas para as interações simples de bactéria e fitormônio, para a interação dupla de LxF e para a interação tripla. Para CE no dia 10, não houve interação significativa para a interação simples de fitormônio e para a interação dupla de BxF. As interações significativas presentes na Tabela 10 serão abordadas no item 4.2.2. e 4.2.3.

Tabela 11 – Resultados da ANOVA para turbidez, pH e evapotranspiração para os dias 5 e 10 de experimento. Os valores do nível de significância encontram-se entre parênteses após o valor do Quadrado Médio (QM).

| Fonte       | GL | QM (p-valor)          |                       |                       |                      |                        |                           |
|-------------|----|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|---------------------------|
|             |    | Turbidez              |                       | pH                    |                      | Evapotranspiração      |                           |
|             |    | Dia 5                 | Dia 10                | Dia 5                 | Dia 10               | Dia 5                  | Dia 10                    |
| L           | 1  | 0,6884***<br>(0,0001) | 31,1458**<br>(0,0341) | 0,6699***<br>(0,0001) | 0,0003 <sup>ns</sup> | 3032,2580*<br>(0,0704) | 14867,3500***<br>(0,0015) |
| B           | 1  | 0,3472***<br>(0,0033) | 30,6349**<br>(0,0355) | 0,2831***<br>(0,0074) | 0,0000 <sup>ns</sup> | 3032,2580*<br>(0,0704) | 15,4707 <sup>ns</sup>     |
| F           | 1  | 0,0014 <sup>ns</sup>  | 1,7719 <sup>ns</sup>  | 0,0088 <sup>ns</sup>  | 0,0000 <sup>ns</sup> | 556,9453 <sup>ns</sup> | 8184,0020**<br>(0,0135)   |
| LxB         | 1  | 0,0257 <sup>ns</sup>  | 0,6527 <sup>ns</sup>  | 0,3634***<br>(0,0029) | 0,0025*<br>(0,0871)  | 61,8828 <sup>ns</sup>  | 758,0645 <sup>ns</sup>    |
| LxF         | 1  | 0,0440 <sup>ns</sup>  | 6,3814 <sup>ns</sup>  | 0,0215 <sup>ns</sup>  | 0,0000 <sup>ns</sup> | 61,8828 <sup>ns</sup>  | 758,0645 <sup>ns</sup>    |
| BxF         | 1  | 0,0347 <sup>ns</sup>  | 0,6584 <sup>ns</sup>  | 0,0140 <sup>ns</sup>  | 0,0008 <sup>ns</sup> | 61,8828 <sup>ns</sup>  | 758,0645 <sup>ns</sup>    |
| LxBxF       | 1  | 0,0383 <sup>ns</sup>  | 1,2051 <sup>ns</sup>  | 0,2433**<br>(0,0121)  | 0,0018 <sup>ns</sup> | 61,8828 <sup>ns</sup>  | 758,0645 <sup>ns</sup>    |
| Resíduo     | 24 | 0,0325                | 6,1711 <sup>ns</sup>  | 0,0330                | 0,0008               | 845,7318               | 1149,9890                 |
| CV          |    | 22,7341               | 37,4492               | 4,1825                | 0,8225               | 25,1958                | 16,4214                   |
| Média geral |    | 0,7929<br>(UNT)       | 6,6334<br>(UNT)       | 4,3459                | 3,4143               | 115,4219<br>(mm)       | 206,5078<br>(mm)          |

<sup>ns</sup> Não significativo; \*\*\* Significativo ao nível de 1%; \*\* Significativo ao nível de 5%; \* Significativo ao nível de 10%; GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação; QM: quadrado médio  
B: Bactéria; F: Fitormônio; L: Luz LED.

Não foram encontradas diferenças significativas para Turbidez (dia 5) na interação simples de fitormônio, em todas as interações duplas e na interação tripla. No dia 10 para essa variável, não houve diferenças significativas na interação simples de fitormônio, em nenhuma interação dupla e nem na interação tripla. Para pH no dia 5, não foram observadas diferenças significativas na interação simples de fitormônio e nas interações duplas de LxF e BxF. Para pH (dia 10), não foram encontradas diferenças significativas em nenhuma interação simples, nas interações duplas de LxF e BxF e na interação tripla. Para evapotranspiração (dia 5), não foram observadas diferenças significativas para a interação simples de fitormônio e para nenhuma interação dupla e tripla. Para a mesma variável no dia 10, não houve interação significativa na interação simples de bactéria e em nenhuma interação dupla e tripla. As interações significativas presentes na Tabela 11 serão abordadas no item 4.2.2. e 4.2.3.

#### 4.2.2. Desdobramentos das interações para o quinto dia de experimento

Conforme citado no item 3.7, foi feito o desdobramento de algumas variáveis considerando-se o nível de 10% de probabilidade. Tal fato se justifica, pois experimentos com organismos vivos e sem controle de temperatura e umidade podem apresentar maior variabilidade, e as variáveis elencadas eram as de maior interesse no trabalho.

Para análise das tabelas, considera-se que: i) luz colorida é representada por 1 e luz branca é representada por 0; ii) presença de bactéria é representada por 1 e ausência de bactéria é representada por 0 e; iii) presença de fitormônio é representada por 1 e ausência de fitormônio é representada por 0.

Para os resultados que foram significativos, foi feito o desdobramento das interações de maior grau. Nas Tabelas 12 a 14 apresentam-se as interações simples, a Tabela 15 a interação dupla e as Tabelas 16 e 17 as interações triplas, para as variáveis analisadas no dia 5 de experimento.

Tabela 12 – Valores médios de oxigênio dissolvido no dia 5 (5OD), condutividade elétrica no dia 5 (5CE) e turbidez no dia 5 (5TU) de experimento, para os respectivos níveis de luz. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 1% ou 5% de probabilidade pelo teste F.

| Luz | 5OD** (mg L <sup>-1</sup> ) | 5CE*** (μS cm <sup>-1</sup> ) | 5TU*** (UNT) |
|-----|-----------------------------|-------------------------------|--------------|
| 0   | 2,31 a                      | 1096,87 b                     | 0,6462 b     |
| 1   | 0,8 b                       | 1114,93 a                     | 0,9395 a     |

\*\*\* Significativo ao nível de 1%; \*\* Significativo ao nível de 5%.

As possíveis causas naturais de aumento de OD em um ambiente, segundo Von Sperling (2014) são a dissolução de oxigênio atmosférico e a produção por organismos fotossintetizantes. Neste estudo, a dissolução de oxigênio atmosférica pode ser excluída como causa do aumento de OD pois os potes estavam submetidos à mesma temperatura, pressão atmosférica e não sofreram nenhum processo de agitação.

Durante a realização do experimento, foi observado a presença de microalgas no substrato líquido onde se encontravam as plantas. A ocorrência de microalgas é possível uma vez que as plantas não foram esterilizadas previamente ao experimento principal. Logo, é provável que elas tivessem microrganismos aderidos em suas frondes e/ou raízes, que se reproduziram diante das diferentes condições experimentais.

A partir desse ponto, duas causas possíveis para as diferenças nos níveis de OD sob as diferentes iluminações podem ser elencadas. A primeira é que sob luz branca, as plantas e microalgas se reproduziram mais, acarretando o aumento da fotossíntese, conseqüentemente, na maior liberação de OD no meio.

A segunda, em contraposição à primeira, é de que na luz colorida ocorre aumento da biomassa no substrato. Isso se justifica, pois, as plantas, assim como as microalgas, utilizam o gás carbônico (CO<sub>2</sub>) para a fotossíntese. Nesse sentido, pode ter ocorrido a competição entre plantas e microalgas por CO<sub>2</sub> e nutrientes, ocasionando na morte das microalgas e prevalência das plantas, já que estas são organismos superiores e ficam na superfície do meio líquido. Isso faria com que a concentração de OD no meio diminuísse, em um processo semelhante, mas em menor escala, à eutrofização dos corpos hídricos.

Essas observações podem ser um indicativo de que as menores concentrações de OD na luz colorida ( $p \leq 0,05$ ) são resultado indireto do aumento da biomassa no substrato. Essa hipótese inclusive apresenta maior concordância com as diferenças significativas de menores concentrações de P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> sob luz colorida, conforme será visto posteriormente. Ressalta-se, entretanto, que não foram observadas diferenças significativas nos valores de massa úmida das plantas que pudessem justificar as hipóteses levantadas.

A condutividade elétrica relaciona-se com a concentração de íons na água. Na presença de luz colorida, observou-se aumento da CE no dia 5. Esse aumento pode indicar alterações nos estados dos macro e micronutrientes presentes na solução Clark, presença de exsudatos liberados pelas plantas e de compostos liberados pelos microrganismos.

Vives-Peris et al. (2020) fizeram um compilado de tipos de exsudatos liberados pelas raízes das plantas, com base em trabalhos de outros autores (DAKORA; PHILLIPS; 2002; DENNIS et al.; 2010 *apud* VIVES-PERIS et al., 2020), e mencionam que eles são substâncias

dos grupos aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos, ácidos graxos, esteróis, atores de crescimento e vitaminas, enzimas, flavonóides, nucleotídeos/purinas e outros.

A solução Clark foi feita com as substâncias:  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeEDTA}$ . Com o passar do tempo e devido às alterações observadas no pH, essas substâncias podem ter alterado seu estado químico, influenciando na condutividade elétrica do substrato.

Tabela 13 – Valores médios de turbidez (5TU) e nitrato (5N) no dia 5 de experimento, para os respectivos níveis de bactéria. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 1% ou 10% de probabilidade pelo teste F.

| Bactéria | 5TU <sup>***</sup> (UNT) | 5N (mg) <sup>*</sup> |
|----------|--------------------------|----------------------|
| 0        | 0,6887 b                 | 302,6892 a           |
| 1        | 0,8970 a                 | 298,6833 b           |

<sup>\*\*\*</sup> Significativo ao nível de 1%; <sup>\*</sup> Significativo ao nível de 10%.

A Turbidez no dia 5 foi maior ( $p \leq 0,01$ ) nos recipientes em que as plantas haviam sido inoculadas com bactéria. Uma possível justificativa para esse fato são que as bactérias podem ter migrado da superfície das plantas para o substrato líquido, e, ao encontrarem condições propícias para seu crescimento, se reproduziram e contribuíram para aumentar a turbidez deste ambiente.

O  $\text{N-NO}_3^-$  apresentou menor massa remanescente ( $p \leq 0,10$ ) na presença de bactéria. Podem ser levantadas algumas hipóteses para essas diferenças observadas. A primeira é que, apesar de não terem sido observadas diferenças significativas no crescimento de massa úmida das plantas, as bactérias inoculadas contribuíram de alguma forma para o aumento da absorção de  $\text{N-NO}_3^-$  pelas lentilhas d'água e isso causou redução da massa desse nutriente no substrato. Conforme visto, as bactérias promotoras de crescimento podem atuar na fixação de nitrogênio (GLICK, 2012). Segundo Malavolta (2006), para plantas terrestres, a principal forma de absorção de nitrogênio é na forma de nitrato.

Tabela 14 – Valores médios da massa de nitrato no dia 5 (5N) de experimento, para os respectivos níveis de fitormônio. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

| Fitormônio | 5N (mg)  |
|------------|----------|
| 0          | 303,29 a |
| 1          | 298,07 b |

A massa de nitrato no dia 5 de experimento foi menor ( $p \leq 0,05$ ) na presença de fitormônio. Como não foram observadas interações entre os fitormônios e massa úmida das plantas, não é possível associar a remoção de  $N-NO_3^-$  com a maior quantidade de plantas absorvendo esse nutriente. Pode-se, entretanto, relacionar o aumento da massa de nitrato na presença de luz branca ao aumento da concentração de OD no substrato, conforme foi observado na Tabela 11.

Tabela 15 – Valores médios de potencial de oxirredução no dia 5 (5POR) de experimento, para as respectivas combinações de luz e bactéria. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna para cada variável não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

| 5POR (mV) |           |           |
|-----------|-----------|-----------|
| L         | B = 0     | B = 1     |
| 0         | 273,62 Aa | 239,87 Bb |
| 1         | 270,87 Aa | 271,87 Aa |

B: Bactéria; L: Luz LED.

O potencial de oxirredução do dia 5 de experimento foi maior na presença de bactéria com a luz colorida ( $p \leq 0,05$ ). O POR foi maior ( $p \leq 0,05$ ) na luz branca com ausência de bactéria.

Tabela 16 – Valores médios de  $P-PO_4^{3-}$  (mg) no dia 5 de experimento, para as respectivas combinações de bactéria, fitormônio e luz. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada variável não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

|       |  | F = 0          |                | F = 1          |                |
|-------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
|       |  | B = 0          | B = 1          | B = 0          | B = 1          |
| L = 0 |  | 1,8531 Ab (mg) | 2,3004 Aa (mg) | 2,1646 Aa (mg) | 2,0353 Aa (mg) |
| L = 1 |  | 1,7753 Aa (mg) | 1,4268 Ba (mg) | 1,5639 Ba (mg) | 1,5244 Ba (mg) |
|       |  | L = 0          |                | L = 1          |                |
|       |  | B = 0          | B = 1          | B = 0          | B = 1          |
| F = 0 |  | 1,8531 A (mg)  | 2,3004 A (mg)  | 1,7753 A (mg)  | 1,4268 A (mg)  |
| F = 1 |  | 2,1646 A (mg)  | 2,0353 A (mg)  | 1,5639 A (mg)  | 1,5244 A (mg)  |

B: Bactéria; F: Fitormônio; L: Luz LED.

Foi observada interação tripla entre luz, bactéria e fitormônio no dia 5 para a massa de  $P-PO_4^{3-}$  no substrato. Analisando-se a tabela, foram obtidas as seguintes interações significativas:

- Na ausência de fitormônio e presença de bactéria, a luz colorida apresenta menor massa de  $P-PO_4^{3-}$  ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo CIA.
- Na presença de fitormônio e ausência de bactéria, a luz colorida apresenta menor massa de  $P-PO_4^{3-}$  ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo CNP.
- Na presença de fitormônio e presença de bactéria, a luz colorida apresenta menor massa de  $P-PO_4^{3-}$  ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo CIP.
- Na ausência de bactéria e presença de fitormônio, a luz colorida apresenta menor massa de  $P-PO_4^{3-}$  ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo CNP.
- Na presença de bactéria e ausência de fitormônio, a luz colorida apresenta menor massa de  $P-PO_4^{3-}$  ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo CIA.
- Na presença de bactéria e presença de fitormônio, a luz colorida apresenta menor massa de  $P-PO_4^{3-}$  ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo CIP.
- Na ausência de fitormônio e luz branca, a ausência de bactéria apresenta menor massa de  $P-PO_4^{3-}$  ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo BNA.

A menor massa de  $P-PO_4^{3-}$  observada significa de ele foi removido do meio líquido. Al-Nozaily; Alaerts e Veenstra (2000) utilizaram um sistema com lentilhas d'água e esgoto municipal e indicaram que dentre as formas que o fósforo pode ser removido do sistema, tem-se a absorção pelas plantas, utilização pelos microrganismos, precipitação com cátions e adsorção em matéria orgânica e argila. Como no presente estudo foi utilizado solução Clark, pode-se descartar a remoção por adsorção em matéria orgânica e argila. Além disso, como no sistema foram trabalhadas soluções para aumentar o crescimento da planta com as diferentes condições luminosas e acréscimo de BPCP e fitormônio, as hipóteses levantadas para remoção de fósforo como fosfato são principalmente a utilização pelos microrganismos e absorção pelas plantas.

Com relação à luz, a maioria dos efeitos significativos foram observados com a luz colorida, com exceção do grupo BNA. Bawiec; Pawęska e Pulikowski (2020) fizeram um estudo com uma associação de luzes LED vermelha e azul e usando como controle a ausência de luz para avaliar a remoção de nutrientes de esgoto, em um sistema de iluminação noturna. Esses autores avaliaram conjuntamente a influência de acrescentar CO<sub>2</sub> e aerar o efluente. Os autores encontraram que, independentemente se havia aeração ou aplicação de CO<sub>2</sub>, os valores médios de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NT e PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> eram menores no sistema com LEDs azul e vermelha.

Xu et al. (2019) fizeram um estudo com luzes de diferentes comprimentos de onda, sendo eles: i) Azul (450 nm – A450), ii) Vermelho 1 (630 nm – V630) e iii) Vermelho 2 (660 nm – V660), para avaliar os efeitos em *Spirodela polyrhiza*. Os autores ainda associaram essas luzes em algumas proporções de vermelho e azul (V/A), sendo elas de: i) 1/2, ii) 1/1, iii) 2/1 e iv) 4/1. O controle foi feito com luz fluorescente. Esses autores encontraram maior produção de biomassa para as luzes V/A de 2/1 e 4/1 quando as plantas foram cultivadas em solução Hoagland.

Zhong et al. (2022) estudaram os efeitos da luz LED azul (460 nm), luz vermelha (660 nm) e luz branca (380-800 nm) em *Spirodela polyrhiza*. Os autores registraram que tanto a luz vermelha quanto a azul proporcionaram maiores taxas de crescimento nas lentilhas d'água que a luz branca. No presente trabalho, os grupos que continham luzes coloridas e que obtiveram resultados significativos, com base na Tabela 16, foram CIP, CIA e CNP. O crescimento desses grupos (obtido pela diferença entre as massas úmidas no último e primeiro dia de experimento, dividido pela massa úmida do primeiro dia), foram de 2,51, 2,39, e 2,01 vezes, respectivamente.

Ma, Xu e Cheng (2021) fizeram uma meta-análise para identificar efeitos que diferentes cores de luz LED causavam nas plantas. Eles avaliaram as cores azul, vermelha e vermelha e azul (V/A) na proporção 1/1, como controle, foram utilizadas luzes fluorescentes e LED na cor branca. Quando a luz fluorescente foi usada como controle e foi analisado V/A 1/1, o peso seco foi afetado positivamente em 161%.

Os estudos de Xu et al. (2019), Zhong et al. (2022) e Ma, Xu e Cheng (2021) mostram que sob influência de luz vermelha e azul, as plantas produzem maior biomassa. Portanto, mesmo que não tenham sido estatisticamente diferentes, uma possível explicação é que a luz colorida tenha proporcionado aumento da massa de lentilhas d'água e que isso tenha contribuído para maior remoção de fosfato do substrato líquido do experimento.

Ainda, Zhong et al. (2022) observaram os efeitos que as diferentes cores de luz causaram no cloroplasto das plantas, sendo que a luz azul causou bom desenvolvimento dos cloroplastos.

A presença da luz azul no sistema de luzes coloridas, portanto, pode ter contribuído para melhor desenvolvimento dos cloroplastos, influenciando nas funções fisiológicas da planta.

Com relação as interações entre fitormônio e bactéria, foram observados que, independentemente da ordem analisada, a i) presença de fitormônio e ausência de bactéria, ii) presença de fitormônio e presença de bactéria, iii) ausência de fitormônio e presença de bactéria, e iv) ausência de fitormônio e ausência de bactéria, causaram maior remoção de  $P-PO_4^{3-}$ .

Liu et al. (2019) conduziram um experimento com vários fitormônios em *Landoltia punctata* visando avaliar a produção de amido e crescimento da biomassa. Para isso, várias concentrações foram testadas, sendo elas:  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-2}$  mM. A citocinina (6-BA) na concentração de  $10^{-3}$  mM foi capaz de aumentar a produção de biomassa em 37,41%, destacando-se diante dos outros fitormônios utilizados. Com base na Tabela 16, observa-se que os tratamentos que foram significativos com a presença de fitormônio eram CNP e CIP. Calculando-se o crescimento de massa úmida durante o experimento de forma semelhante ao citado nos parágrafos anteriores, o crescimento para CNP foi de 2,01 vezes e para CIP foi de 2,51 vezes.

Kurepa, Sull e Smalle (2018) estudaram os efeitos da citocinina em *Lemna gibba* e *Spirodela polirhiza* e encontraram promoção de crescimento em *Lemna gibba* devido ao aumento da divisão celular e da expansão celular. Para *Spirodela polirhiza*, o crescimento foi advindo apenas do aumento da divisão celular (Kurepa, Sull e Smalle, 2018). Com relação aos efeitos esperados pela citocinina, os autores relatam que houve redução no comprimento da raiz para ambas as espécies, semelhante ao que ocorre com espécies terrestres, já o efeito de expansão celular provocado em *Lemna gibba* é atípico.

Toyama et al. (2017) encontraram que a bactéria *Acinetobacter calcoaceticus* P23 aumentou a produção de biomassa (peso seco) de *Lemna aequinoctialis*, *Lemna minor* e *Spirodela polyrhiza* em, respectivamente, 3,8-4,3 vezes, 2,3-3,3 vezes e 1,4-1,5 vezes quando cultivadas em solução Hoagland. Os mesmos autores encontraram aumento da biomassa de *Lemna minor* em 1,9 vezes quando as plantas foram cultivadas em água de lado esterilizada e 2,4 vezes quando cultivadas em água de lagoa não esterilizada. Quando cultivadas em esgoto, *Lemna minor* teve um aumento de biomassa de 1,7 vezes. Neste trabalho, os tratamentos significativos com inoculação de bactéria foram referentes aos grupos CIA, CIP e BIA. O crescimento de massa úmida desses grupos entre o primeiro e último dia de experimento, calculado conforme exposto anteriormente, foi de, respectivamente, 2,39, 2,51 e 2,06 vezes.

Conforme observado nos estudos de Liu et al. (2019), Kurepa, Sull e Smalle (2018) e Toyama et al. (2017), fitormônios e bactérias promoveram aumento da biomassa.

Baseando-se nos resultados encontrados, é provável que os mecanismos de atuação das bactérias nesse estudo foram a solubilização de fosfato e modulação dos níveis de fitormônios (GLICK, 2012). O primeiro mecanismo facilitaria a aquisição de fosfato, inclusive do fósforo orgânico presentes em tecidos vegetais de raízes mortas na solução nutritiva. O segundo fator seria importante para estimular hormônios de crescimento da planta, como por exemplo os de alongamento de raiz, que promoveria maior absorção de fosfato por difusão. Nas plantas terrestres, o fósforo é absorvido pelas raízes majoritariamente por difusão (MALAVOLTA, 2006). Esse processo se caracteriza pela movimentação do nutriente de um meio de maior concentração para outro de menor concentração (MALAVOLTA, 2006).

A presença de fitormônio pode ter atuado: i) na divisão celular, efeito típico da citocinina (TAIZ; ZEIGER, 2013) e observado por Kurepa, Sull e Smalle (2018) para *Lemna gibba* e *Spirodela polirhiza*, e ii) na expansão celular, conforme observado pelos mesmos autores para *Lemna gibba*.

Deve-se considerar também que os microrganismos presentes na solução possam ter removido parte do  $P-PO_4^{3-}$  do substrato líquido. Segundo Khairina et al. (2021) em seu estudo com bactérias promotoras de crescimento em água residuária, foi levantada a hipótese de que pode haver competição entre as lentilhas d'água e as BPCP por nutrientes.

Observa-se que os grupos CIA, CNP, CIP e BNA foram os que removeram significativamente  $P-PO_4^{3-}$  do substrato. Dentre esses grupos, apenas BNA possuía luz branca. Além disso, esse grupo não possuía inoculação de bactéria nem fitormônios. Apesar de estatisticamente iguais, pensando nos recursos empregados em cada um desses grupos, os que demandariam menos investimento seriam em primeiro lugar o BNA (luz branca, ausência de bactéria e de fitormônio), seguido de CNP (luz colorida, ausência de bactéria e presença de fitormônio) e CIA (luz colorida, presença de bactéria e ausência de fitormônio), e por fim, CIP (luz colorida, presença de bactéria e presença de fitormônio). Portanto, seria interessante realizar um estudo econômico para avaliar qual dessas alternativas seria mais viável do ponto de vista financeiro.

Por fim, ressalta-se que o reaproveitamento de fósforo é cada vez mais necessário, visto que atualmente este é minerado, aplicado na agricultura e, devido a sua dinâmica com o ambiente, lixiviado para os corpos hídricos, onde causa problemas de eutrofização (FOUROUNDJIAN; FAKHOORIAN; CAO, 2020). Reaproveitar o fósforo, principalmente por meio sistemas de tratamento de efluentes, promove a economia circular e evita a escassez desse recurso (FOUROUNDJIAN; FAKHOORIAN; CAO, 2020).

Tabela 17 – Valores médios de pH no dia 5 de experimento, para as respectivas combinações de bactéria, fitormônio e luz. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada variável não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

|       | F = 0     |           | F = 1     |           |
|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|       | B = 0     | B = 1     | B = 0     | B = 1     |
| L = 0 | 4,1725 Ab | 4,7900 Aa | 4,4075 Aa | 4,5925 Aa |
| L = 1 | 4,3225 Aa | 4,1650 Ba | 4,1050 Ba | 4,2125 Ba |

|       | L = 0    |          | L = 1    |          |
|-------|----------|----------|----------|----------|
|       | B = 0    | B = 1    | B = 0    | B = 1    |
| F = 0 | 4,1725 A | 4,7900 A | 4,3225 A | 4,1650 A |
| F = 1 | 4,4075 A | 4,5925 A | 4,1050 A | 4,2125 A |

B: Bactéria; F: Fitormônio; L: Luz LED.

Foi observada interação tripla entre luz, bactéria e fitormônio no dia 5 para o pH no substrato. Analisando-se a Tabela 17, foram obtidas as seguintes interações significativas:

- Na ausência de fitormônio e presença de bactéria, a luz branca promove maior pH ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (BIA).
- Na presença de fitormônio e ausência de bactéria, a luz branca promove maior pH ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (BNP).
- Na presença de fitormônio e presença de bactéria, a luz branca promove maior pH ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (BIP).
- Na ausência de bactéria e presença de fitormônio, a luz branca promove maior pH ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (BNP).
- Na presença de bactéria e ausência de fitormônio, a luz branca promove maior pH ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (BIA).
- Na presença de bactéria e presença de fitormônio, a luz branca promove maior pH ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (BIP).
- Na ausência de fitormônio e luz branca, a presença de bactéria promove maior pH ( $p \leq 0,05$ ) no substrato líquido. Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (BIA).

Pode-se observar que todos os efeitos significativos de maiores valores de pH ocorreram na luz LED branca. As interações entre bactéria e fitormônio foram significativas, independente da ordem analisada, para i) presença de fitormônio e ausência de bactéria, ii) presença de fitormônio e presença de bactéria e iii) ausência de fitormônio e presença de bactéria.

A variação de pH pode ocorrer devido a fotossíntese (VON SPERLING, 2014), de forma que quanto maior a taxa fotossintética, o meio vai ficando básico. Os valores de pH observados neste estudo para o dia 5 estão na faixa ácida, nesse sentido, pode-se descartar a fotossíntese como promotora das alterações de pH. O crescimento da biomassa, hipótese levantada para a maior remoção de  $P-PO_4^{3-}$ , pode ter causado a maior liberação de exsudatos pelas plantas, por exemplo, que causaram a redução do pH. Esses fatos não foram investigados no presente estudo.

#### 4.2.3. Desdobramentos das interações para o dia 10 de experimento

De forma semelhante ao dia 5, foi feito o desdobramento das interações de maior grau dos resultados que foram significativos no dia 10 de experimento. As Tabelas 18, 19 e 20 apresentam as interações simples, as Tabelas 21, 22 e 23 as interações duplas e a Tabela 24 a interação tripla para as variáveis analisadas no dia 10 de experimento.

Tabela 18 – Valores médios da evapotranspiração no dia 10 (10EV) e turbidez no dia 10 (10TU) de experimento, para os respectivos níveis de luz. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 1% e 5% de probabilidade pelo teste F.

| Luz | 10EV*** (mm) | 10TU** (UNT) |
|-----|--------------|--------------|
| 0   | 184,95 b     | 5,64 b       |
| 1   | 228,06 a     | 7,62 a       |

\*\*\* Significativo ao nível de 1%; \*\* Significativo ao nível de 5%

Pode-se observar que a presença da luz colorida ocasionou em aumento da evapotranspiração ( $p \leq 0,01$ ). Foi observado também maior turbidez ( $p \leq 0,05$ ) no líquido dos potes submetidos à luz colorida. O aumento da evapotranspiração na luz colorida provavelmente está relacionado ao aumento da massa úmida observado quando há presença de bactéria e luz colorida (Tabela 21), uma vez que a maior biomassa de plantas demandaria mais água do meio de cultivo para suprir suas necessidades metabólicas. Já o aumento da turbidez no dia 10 poderia estar relacionado ao desprendimento de raízes e frondes mortas da biomassa, tendo em vista o maior tempo decorrido desde o início do experimento.

Tabela 19 – Valores médios do potencial de oxirredução (10POR) e turbidez (10TU) no dia 10 de experimento, para os para os respectivos níveis de bactéria. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 1% e 5% de probabilidade pelo teste F.

| Bactéria | 10POR <sup>***</sup> (mV) | 10TU <sup>**</sup> (UNT) |
|----------|---------------------------|--------------------------|
| 0        | 296,50 a                  | 5,65 b                   |
| 1        | 274,81 b                  | 7,61 a                   |

<sup>\*\*\*</sup> Significativo ao nível de 1%; <sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 5%

Observa-se que o POR é maior ( $p \leq 0,01$ ) na ausência de bactéria e que a turbidez é maior ( $p \leq 0,05$ ) na presença de bactérias. Assim como proposto no dia 5, possivelmente a maior turbidez esteja relacionada à perpetuação das bactérias para todo o substrato líquido dos potes

Tabela 20 – Valores médios de evapotranspiração no dia 10 (10EV) de experimento, para os para os respectivos níveis de fitormônio. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

| Fitormônio | 10EV (mm) |
|------------|-----------|
| 0          | 222,50 a  |
| 1          | 190,51 b  |

A evapotranspiração no dia 10 foi maior na ausência de fitormônio ( $p \leq 0,05$ ). Conforme visto no item 2.5, dentre os efeitos dos fitormônios nas plantas, tem-se impactos no crescimento, produção e desenvolvimento desses organismos (LIU et al., 2019; WAADT, 2020). Especificamente, um dos efeitos da citocinina nas plantas é o crescimento da parte aérea e de gemas laterais (TAIZ; ZEIGER, 2013). Logo, era esperado que a adição de citocinina causasse o aumento do crescimento das plantas, e que este, indiretamente, acarretasse o aumento da evapotranspiração. No entanto, isso não foi o observado, já que a evapotranspiração foi maior na ausência de fitormônio.

Tabela 21 – Valores médios de massa úmida no dia 10 (10MU) e oxigênio dissolvido no dia 10 (10OD), para as respectivas combinações de luz e bactéria. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna para cada variável não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

|   | 10MU (g) |         | 10OD (mg L <sup>-1</sup> ) |         |
|---|----------|---------|----------------------------|---------|
| L | B = 0    | B = 1   | B = 0                      | B = 1   |
| 0 | 8,67 Aa  | 8,38 Aa | 3,68 Ab                    | 5,17 Aa |
| 1 | 7,64 Bb  | 8,58 Aa | 3,96 Aa                    | 4,10 Ba |

B: Bactéria; L: Luz LED.

Na ausência de bactéria, o tratamento com luz branca apresenta maior massa úmida ( $p \leq 0,05$ ) após 10 dias de experimento, já na luz colorida, a presença de bactéria promove aumento ( $p \leq 0,05$ ) da massa úmida. Percebe-se, portanto, que analisando apenas as interações entre luz e bactéria, quando se tem luz colorida, a presença de bactéria proporciona maior crescimento de biomassa. De forma geral, conforme visto no item 2.4, as bactérias promotoras de crescimento têm a capacidade de fazer a planta crescer (OLANREWAJU; GLICK; BABALOLA, 2017). De alguma forma, seja por resposta das plantas à luz colorida ou efeito da luz na própria microbiota presente no substrato líquido, observou-se o melhor desenvolvimento das plantas quando na presença de luz colorida e bactéria.

Khairina et al. (2021) encontraram que a bactérias *Acinetobacter calcoaceticus* P23 e *Pseudomonas fulva* Ps6 aumentaram o crescimento de *Lemna gibba* em 1,6 e 1,7 vez, respectivamente, em solução nutritiva Hoagland. Com relação ao oxigênio dissolvido, a presença de bactéria com luz branca promove aumento ( $p \leq 0,05$ ) nas concentrações de OD, já na presença de luz branca, a presença de bactéria ocasiona aumento ( $p \leq 0,05$ ) nas concentrações de OD.

Tabela 22 – Valores médios de oxigênio dissolvido (10OD) e de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (10N) no dia 10 de experimento, para as respectivas combinações de bactéria e fitormônio. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna para cada variável não diferem entre si ao nível de 5% ou 10% de probabilidade pelo teste de Tukey.

|   | 10OD** (mg L <sup>-1</sup> ) |         | 10N* (mg)   |             |
|---|------------------------------|---------|-------------|-------------|
|   | F = 0                        | F = 1   | F = 0       | F = 1       |
| 0 | 4,34 Aa                      | 3,30 Bb | 286,8515 Bb | 292,5901 Aa |
| 1 | 4,62 Aa                      | 4,65 Aa | 292,8432 Aa | 289,6631 Aa |

\*\* Significativo ao nível de 5%; \* Significativo ao nível de 10%; B: Bactéria; F: Fitormônio.

Na presença de fitormônio, a presença de bactéria promove maior concentração de oxigênio dissolvido ( $p \leq 0,05$ ). Na ausência de bactéria, a ausência de fitormônio promove maior concentração de OD ( $p \leq 0,05$ ). No dia 10, observam-se, portanto, dois opostos na relação entre fitormônio e bactéria: ou a presença de ambos causa maior concentração de OD, ou a ausência de ambos.

Na ausência de fitormônio e ausência de bactéria, a remoção de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> do substrato é maior ( $p \leq 0,10$ ). Ao final do dia 10, como a maior remoção de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> do substrato ocorreu tanto na ausência de bactéria quanto de fitormônio, pode-se supor que outros mecanismos atuaram na remoção deste composto.

Tabela 23 – Valores médios de massa úmida no dia 10 de experimento, para as respectivas combinações de luz e fitormônio. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna para cada variável não diferem entre si ao nível de 10% de probabilidade pelo teste de Tukey.

| 10MU (g) |             |             |
|----------|-------------|-------------|
| L        | F = 0       | F = 1       |
| 0        | 9,046017 Aa | 8,006412 Ab |
| 1        | 8,120125 Ba | 8,115512 Aa |

F: Fitormônio; L: Luz LED.

Na ausência de fitormônio e luz branca, a massa úmida das plantas é maior ( $p \leq 0,10$ ). De forma semelhante, na luz branca e ausência de fitormônio, a massa úmida das plantas também é maior ( $p \leq 0,10$ ). Nessas condições, o efeito encontrado é oposto ao esperado, uma vez que a adição de fitormônio deveria promover o crescimento da biomassa das plantas, conforme visto no item 2.5.

Tabela 24 – Valores médios de condutividade elétrica (CE) (mV) no dia 10 de experimento, para as respectivas combinações de bactéria, fitormônio e luz. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada variável não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

|       |  | F = 0           |                 | F = 1           |                 |
|-------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|       |  | B = 0           | B = 1           | B = 0           | B = 1           |
| L = 0 |  | 1216,00 Aa (mV) | 1208,00 Ba (mV) | 1195,25 Ba (mV) | 1193,50 Ba (mV) |
| L = 1 |  | 1197,00 Ab (mV) | 1249,75 Aa (mV) | 1223,50 Aa (mV) | 1234,75 Aa (mV) |
|       |  | L = 0           |                 | L = 1           |                 |
|       |  | B = 0           | B = 1           | B = 0           | B = 1           |
| F = 0 |  | 1216,00 A (mV)  | 1208,00 A (mV)  | 1197,00 B (mV)  | 1249,75 A (mV)  |
| F = 1 |  | 1195,25 A (mV)  | 1193,50 A (mV)  | 1223,50 A (mV)  | 1234,75 A (mV)  |

B: Bactéria; F: Fitormônio; L: Luz LED.

Foi observada interação tripla entre luz, bactéria e fitormônio no dia 10 para a CE no substrato. Analisando a tabela, foram obtidas as seguintes interações significativas:

- Na luz colorida e ausência de bactéria, a presença de fitormônio promove maior condutividade elétrica ( $p \leq 0,05$ ). Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (CNP).

- Na ausência de fitormônio e presença de bactéria, a luz colorida promove maior valor de condutividade elétrica ( $p \leq 0,05$ ). Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (CIA).
- Na presença de fitormônio e ausência de bactéria, a luz colorida promove maior valor de condutividade elétrica ( $p \leq 0,05$ ). Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (CNP).
- Na presença de fitormônio e presença de bactéria, a luz colorida promove maior valor de condutividade elétrica ( $p \leq 0,05$ ). Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (CIP).
- Na ausência de bactéria e presença de fitormônio, a luz colorida promove maior valor de condutividade elétrica ( $p \leq 0,05$ ). Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (CNP).
- Na presença de bactéria e ausência de fitormônio, a luz colorida promove maior valor de condutividade elétrica ( $p \leq 0,05$ ). Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (CIA).
- Na presença de bactéria e presença de fitormônio, a luz colorida promove maior valor de condutividade elétrica ( $p \leq 0,05$ ). Essas condições de tratamento são representadas pelo grupo (CIP).

Com relação à luz, todos os efeitos significativos observados que aumentaram o valor de CE são para a luz colorida. Isso pode significar que, indiretamente, seja por meio de alterações nas plantas ou microrganismos, a luz colorida pode interferir na organização química dos compostos da solução, causando maior liberação de íons no substrato e aumentando a CE.

As interações entre bactéria e fitormônio foram significativas, independente da ordem analisada, para i) presença de fitormônio e ausência de bactéria, ii) presença de fitormônio e presença de bactéria e iii) ausência de fitormônio e presença de bactéria. Os grupos que apresentaram maior CE do substrato são CIP, CIA e CNP.

#### 4.3. Eficiências mássicas de remoção

Na Tabela 25 apresentam-se os valores das eficiências mássicas médias de remoção de nutrientes nos dias 5 e 10 de experimento.

Tabela 25 – Eficiência mássica média de remoção de  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-NO}_3^-$  e  $\text{P-PO}_4^{3-}$  nos dias 5 e 10 de experimento para cada grupo estudado.

| Grupos | Eficiências mássicas de remoção (%) |        |                   |        |                      |        |
|--------|-------------------------------------|--------|-------------------|--------|----------------------|--------|
|        | $\text{N-NH}_4^+$                   |        | $\text{N-NO}_3^-$ |        | $\text{P-PO}_4^{3-}$ |        |
|        | Dia 5                               | Dia 10 | Dia 5             | Dia 10 | Dia 5                | Dia 10 |
| BIP    | 9,37                                | 66,87  | 2,65              | 2,25   | 52,87                | 99,89  |
| BIA    | 22,06                               | 59,88  | -0,75             | 1,87   | 46,72                | 99,89  |
| BNP    | 21,00                               | 68,64  | -0,54             | 2,23   | 49,87                | 99,78  |
| BNA    | 9,07                                | 63,79  | -1,55             | 3,68   | 57,08                | 99,90  |
| CIP    | 29,06                               | 62,39  | -0,56             | 3,75   | 64,70                | 99,93  |
| CIA    | 18,49                               | 73,56  | -1,41             | 2,01   | 66,96                | 99,98  |
| CNP    | 15,96                               | 69,35  | -0,81             | 1,82   | 63,78                | 99,95  |
| CNA    | 7,80                                | 67,51  | -2,55             | 4,20   | 58,89                | 99,83  |

BIP: luz branca, bactéria inoculada, fitormônio presente; BIA: luz branca, bactéria inoculada, fitormônio ausente; BNP: luz branca, bactéria não inoculada, fitormônio presente; BNP: luz branca, bactéria não inoculada, fitormônio ausente; CIP: luz colorida, bactéria inoculada, fitormônio presente; CIA: luz colorida, bactéria inoculada, fitormônio ausente; CNP: luz colorida, bactéria não inoculada, fitormônio presente; CNP: luz colorida, bactéria não inoculada, fitormônio ausente.

A remoção de  $\text{P-PO}_4^{3-}$  no último dia de experimento é quase completa, para todos os grupos, indicando que provavelmente a partir do dia 10 o fósforo poderia vir a ser um nutriente limitante no desenvolvimento das plantas. Por outro lado, mostra a grande capacidade das lentilhas d'água em remover esse nutriente do substrato e, por consequência, a possibilidade de utilizar essa planta para depurar efluentes ricos em nutrientes e de ter sua biomassa reaproveitada. Ressalta-se, entretanto, que fatores como toxicidade, competição por nutrientes, presença de sólidos suspensos, dentre outros, vão interferir no desenvolvimento das plantas em águas residuárias. Logo, estudos que avaliem os efeitos da luz, bactérias e fitormônio em efluentes de escala plena devem ser investigados.

Apesar de não ter sido feita a comparação estatística entre os grupos, verifica-se que no dia 5 de experimento, a maioria dos grupos que continham luz colorida apresentaram eficiência de remoção de  $\text{P-PO}_4^{3-}$  maiores que 60%. Isso está em consonância com os resultados encontrados na análise estatística de que grupos CIP, CIA e CNP promoveram maior remoção de  $\text{P-PO}_4^{3-}$  do meio.

Al-Nozaily, Alaerts e Veenstra (2000) relatam que as formas de remoção de amônia em uma lagoa de lentilhas d'água são por meio da captação pelas lentilhas d'água, processos de nitrificação e desnitrificação, volatilização da amônia em pH maior que 8 e utilização por algas e bactérias. Na Tabela 26 apresentam-se os valores de pH médios para cada grupo analisado no estudo, nos dias 5 e 10 de experimento.

Tabela 26 – Média dos valores de pH no substrato líquido das plantas nos dias 5 e 10 de experimento para cada grupo estudado.

| Grupos | Média pH $\pm$ desvio padrão |                 |
|--------|------------------------------|-----------------|
|        | Dia 5                        | Dia 10          |
| BIP    | 4,59 $\pm$ 0,22              | 3,37 $\pm$ 0,10 |
| BIA    | 5,34 $\pm$ 0,41              | 3,60 $\pm$ 0,32 |
| BNP    | 4,41 $\pm$ 0,12              | 3,42 $\pm$ 0,03 |
| BNA    | 4,17 $\pm$ 0,24              | 3,37 $\pm$ 0,07 |
| CIP    | 4,21 $\pm$ 0,22              | 3,40 $\pm$ 0,02 |
| CIA    | 4,17 $\pm$ 0,19              | 3,40 $\pm$ 0,01 |
| CNP    | 4,11 $\pm$ 0,10              | 3,42 $\pm$ 0,01 |
| CNA    | 4,32 $\pm$ 0,23              | 3,43 $\pm$ 0,05 |

Observa-se que o pH do presente estudo manteve-se abaixo de 8 durante todo o tempo monitorado, logo, a remoção da amônia por volatilização, possibilidade abordada por Al-Nozaily, Alaerts e Veenstra (2000), pode ser negligenciada. Portanto, a redução nas concentrações desse nutriente ocorreu pela assimilação das plantas e microrganismos presentes no substrato líquido do experimento. A remoção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, apesar de menor no dia 5 de experimento, alcançou faixas variando de 59,88% a 73,56% no dia 10 de experimento.

Al-Nozaily, Alaerts e Veenstra (2000) observaram em seu experimento que quanto maior era a concentração de amônio, menor era a taxa de extração de fósforo do sistema, podendo o amônio ser tóxico acima de concentrações específicas. Por exemplo, para uma concentração de 96 mg L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a remoção de fósforo foi de 7%, já para a concentração de 25 mg L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, a remoção foi de 44%. No presente estudo, a concentração inicial de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi de 15,47  $\pm$  2,12 mg L<sup>-1</sup>, o que é equivalente a 19,89 mg L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. A média da concentração de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> para todos os grupos estudados no quinto dia de experimento foi de 16,59  $\pm$  1,49 mg L<sup>-1</sup>, que é próxima à concentração de 25 mg L<sup>-1</sup> do estudo de Al-Nozaily, Alaerts e Veenstra (2000). Nesse período de experimento (entre dia 0 e dia 5), a média de remoção mássica de P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> foi de 57,61  $\pm$  7,35%, superior à dos autores. Apesar da comparação feita, ressalva-se que os experimentos conduzidos possuem configurações diferentes.

Zhao et al. (2014) realizaram um estudo com lentilhas d'água e aguapé cultivados em águas residuárias e observaram recuperação de 60% de nitrogênio pelas lentilhas d'água, devido à presença de mais bactérias fixadoras de nitrogênio do que nitrificantes. Além disso, nessa pesquisa foram encontradas eficiências de remoção de fósforo total, nitrogênio total, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e

turbidez ao longo de todo o ano de estudo de, respectivamente, 48,18%, 46,42%, 58,10% e 86,96%, pelas lentilhas d'água (ZHAO et al., 2014).

Tanto no dia 5 quanto no dia 10 de experimento, os valores de remoção de nitrato são muito pequenos. Os valores negativos de eficiência de remoção de  $\text{N-NO}_3^-$  no dia 5 de experimento podem ser devido ao processo de nitrificação. O processo de nitrificação consiste na conversão de amônia a nitrito, e de nitrito a nitrato, com consumo de oxigênio (VON SPERLING, 2014). O aumento da concentração de  $\text{N-NO}_3^-$  no substrato, provavelmente devido à nitrificação, explicaria então a remoção negativa dessa substância no sistema.

Com relação à cinética de remoção dos nutrientes, observa-se que, principalmente para  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{P-PO}_4^{3-}$ , entre o dia 5 e 10 de experimento os nutrientes são consumidos mais rapidamente no substrato. Nesse sentido, pode-se propor como objeto futuro de pesquisa, o estudo da cinética de remoção desses nutrientes. Além disso, com base no estudo da cinética de remoção de nutrientes, seria possível propor um sistema de sistema de tratamento de efluentes com lentilhas d'água em escala plena.

Por fim, é importante destacar que, mesmo tomando todos os cuidados necessários para a realização do experimento e das análises, erros não intencionais podem ter ocorrido. Alguns exemplos são a aeração do substrato de cultivo das plantas no processo de coleta de amostras nos dias 5 e/ou 10 de experimento, influenciando nas concentrações de oxigênio dissolvido; perda de massa de plantas durante a coleta das amostras para as análises, afetando os valores de massa úmida; contaminações de vidrarias e equipamentos utilizados no laboratório não perceptíveis a olho nu, dentre outros. Além disso, não foi feito controle da luz externa da sala onde o experimento foi conduzido, o que também pode trazido algum erro não intencional nos resultados.

## 5 CONCLUSÕES

Foram identificados efeitos significativos no nível de 5% de probabilidade para  $P-PO_4^{3-}$  no dia 5 de experimento, e nos níveis de 5% e 10% de probabilidade no dia 5, e 10% de probabilidade no dia 10, para  $N-NO_3^-$ . Para  $N-NH_4^+$  não foram encontradas diferenças significativas. Para  $P-PO_4^{3-}$ , foi identificada interação tripla entre luz x bactéria x fitormônio, sendo que os grupos CIA, CNP e CIP produziram maior remoção de  $P-PO_4^{3-}$  do substrato. Para  $N-NO_3^-$  no dia 5, foi identificado efeito simples ( $\alpha=10\%$ ) pelo fator bactéria, com maior remoção de  $N-NO_3^-$  na presença de bactéria, e efeito simples ( $\alpha=5\%$ ) de fitormônio, com maior remoção de  $N-NO_3^-$  na presença de fitormônio. No dia 10, foi identificada interação dupla entre bactéria e fitormônio ( $\alpha=10\%$ ), com maior remoção de  $N-NO_3^-$  do substrato com ausência de fitormônio e ausência de bactéria.

Não foram identificados aumentos nas concentrações de clorofila a, clorofila b e carotenoides na biomassa das plantas. Entretanto, a massa úmida das plantas é estatisticamente diferente nos níveis de 5% e 10% de probabilidade para as interações entre luz x bactéria e luz x fitormônio, respectivamente. No primeiro caso (LxB), o aumento de massa úmida ocorre nas condições de ausência de bactéria e luz branca e, luz colorida e presença de bactéria. No segundo caso (LxF), o aumento de massa úmida ocorre nas condições de ausência de fitormônio e luz branca.

As variáveis afetadas significativamente pelos efeitos de luz, bactéria e fitormônio neste estudo foram, no dia 5 de experimento:  $P-PO_4^{3-}$ ,  $N-NO_3^-$ , evapotranspiração, potencial de oxirredução, condutividade elétrica, turbidez e pH. Para o dia 10 de experimento, as variáveis afetadas significativamente foram:  $N-NO_3^-$ , massa úmida, evapotranspiração, oxigênio dissolvido, potencial de oxirredução, condutividade elétrica, turbidez e pH.

Na pesquisa foram apresentados resultados inovadores sobre fatores de otimização de crescimento de lentilhas d'água. Um dos resultados que pode ser considerado de importância é o aumento da remoção de  $P-PO_4^{3-}$  do substrato líquido com interação tripla entre luz x bactéria x fitormônio no dia 5 de experimento. Como se sabe, isto é de grande importância diante do contexto atual de redução das reservas mundiais de fósforo e ao fato de que este é um nutriente essencial para as culturas agrícolas.

A fitorremediação com lentilhas d'água visando remover nutrientes de águas residuárias é uma alternativa promissora para auxiliar no tratamento de efluentes e recuperação de recursos. Em escala plena, essas plantas poderiam ser cultivadas em estruturas semelhantes à de lagoas facultativas, atentando-se para a necessidade de haver um mecanismo de remoção periódica do

excesso de plantas. A remoção poderia ser feita por meio de um raspador automatizado ou então manualmente, por meio de peneiras. Estudos futuros podem ser realizados visando desenvolver e/ou aprimorar uma tecnologia de tratamento de efluentes com as lentilhas d'água.

Diante do exposto, estudos que investiguem a influência dos fatores avaliados em efluente de estações de escala plena também devem ser incentivados. Por fim, destaca-se que este foi um estudo pioneiro que investigou a relação dos fatores luz, bactéria e fitormônio de forma conjunta em lentilhas d'água.

## REFERÊNCIAS

- AL-NOZAILY, F.; ALAERTS, G.; VEENSTRA, S. Performance of duckweed-covered sewage lagoons-II. Nitrogen and phosphorus balance and plant productivity. **Water Research**, v. 34, n. 10, p. 2734–2741, 2000.
- ANDRADE, I. M. DE; MAYO, S. J.; SILVA, M. F. S.; SOUSA, D. J. L. DE.; MATIAS, L. Q.; RIBEIRO, T. A. The Araceae in Ceará, Brazil: Humid forest plants in a semi-arid region. **Rodriguesia**, v. 64, n. 3, p. 445–477, 2013.
- ANSARI, A. A. *et al.* Phytoremediation of contaminated waters: An eco-friendly technology based on aquatic macrophytes application. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, 2020. v. 46, n. 4, p. 371–376. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.03.002>>.
- APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23 ed, Washington: APHA, 2017
- APPENROTH, K. J.; BORISJUK, N.; LAM, E. Telling duckweed apart: Genotyping technologies for the Lemnaceae. **Chinese Journal of Applied and Environmental Biology**, v. 19, n. 1, p. 1–10, 2013.
- BAEK, G.; SAEED, M.; CHOI, H.-K. Duckweeds: their utilization, metabolites and cultivation. **Applied Biological Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 64-73, 2021.
- BAWIEC, A.; PAWĘSKA, K.; PULIKOWSKI, K. LED light use for the improvement of wastewater treatment in the hydroponic system. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 41, n. 16, p. 2024-2036, 2020.
- BEZERRA, M. G.; FRANÇA, F. Arales De Lagoas Em Uma Área Do Semi-Árido. **Sitientibus**, n. 20, p. 45–54, 1999.
- BRAGA, A. F. **Fitorremediação de águas contaminadas com fluoreto por *Landoltia punctata* e *Eichhornia crassipes***. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2019.
- BRAGA, A. F. *et al.* PHYTOREMEDIATION OF FLUORIDE-CONTAMINATED WATER BY *Landoltia punctata*. **Engenharia Agrícola**, 2021. v. 41, n. 2, p. 171–180.
- JACKSON, S. D. Plant responses to photoperiod. **New Phytologist**, 2009. v. 181, p. 517–531.
- CAICEDO, J. R.; VAN DER STEEN, N. P.; ARCE, O.; GIJZEN, H. J. Effect of total ammonia nitrogen concentration and pH on growth rates of duckweed (*Spirodela polyrrhiza*). **Water Research**, v. 34, n. 15, p. 3829–3835, 2000.
- CHENG, J.; LANDESMAN, L.; BERGMANN, B.; A.; CLASSEN, J.; J.; HOWARD, J.; W.; YAMAMOTO, Y.; T. Nutrient Removal from Swine Lagoon Liquid by *Lemna minor* 8627. **TRANSACTIONS OF THE ASAE**. v. 45., n. 4. p. 1003–1010, 2002.
- CHENG, J. J.; STOMP, A-M. Growing Duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 37, n. 1, p. 17–26, 2009.
- CHOUDHARY, M.; MUDULI, M.; RAY, S. A comprehensive review on nitrate pollution

- and its remediation : conventional and recent approaches. **Sustainable Water Resources Management**, 2022. p. 1–25. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s40899-022-00708-y>>.
- CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, p. 458-460, 1975.
- CLIMATE-DATA.ORG. Viçosa Clima (Brasil). Disponível em: < <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/minas-gerais/vicosa-25021/>>. Acesso em: 14 fev., 2022.
- COPE, K. R.; SNOWDEN, M. C.; BUGBEE, B. Photobiological interactions of blue light and photosynthetic photon flux: Effects of monochromatic and broad-spectrum light sources. **Photochemistry and Photobiology**, v. 90, n. 3, p. 574–584, 2014.
- CORDELL, D.; WHITE, S. Peak phosphorus: Clarifying the key issues of a vigorous debate about long-term phosphorus security. **Sustainability**, v. 3, n. 10, p. 2027-2049, 2011.
- CORDELL, D.; WHITE, S. Tracking phosphorus security: indicators of phosphorus vulnerability in the global food system. **Food Security**, v. 7, p. 337-350, 2015.
- DAKORA, F.; D.; PHILLIPS, D.; A. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. **Plant Soil**. v. 245, p. 35–47. 2002.
- DENNIS, P.; G.; MILLER, A.; J.; HIRSCH, P.; R. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? **FEMS Microbiol Ecol**. v. 72, p. n. 3, 313–327, 2010.
- EKPERUSI, A. O.; SIKOKI, F. D.; NWACHUKWU, E. O. Application of common duckweed (*Lemna minor*) in phytoremediation of chemicals in the environment: State and future perspective. **Chemosphere**, v. 223, p. 285-309, 2019.
- FOUROUNJIAN, P.; FAKHOORIAN, T.; CAO, X. H. Importance of Duckweeds in Basic Research and Their Industrial Application. In: CAO, X. H.; FOUROUNJIAN, P.; WANG, W. **The Duckweed Genomics**, 2020. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/978-3-030-11045-1>>.
- GLICK, B. R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**. v. 2012, 15p., 2012. Número do artigo: 963401.
- HAN, T.; VAGANOV, V.; CAO, S.; LI, Q.; LING, L.; CHENG, X.; PENG, L.; ZHANG, C.; YAKOVLEV, A. N.; ZHONG, Y.; TU, M. Improving “color rendering” of LED lighting for the growth of lettuce. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1–7, 2017. Número do artigo: 45944.
- HUANG, Meng *et al.* Rapid and highly efficient callus induction and plant regeneration in the starch-rich duckweed strains of *Landoltia punctata*. **Acta Physiologiae Plantarum**, 2016. v. 38, p. 122.
- ISHIZAWA, H.; KURODA, M.; MORIKAWA, M.; IKE, M. Evaluation of environmental bacterial communities as a factor affecting the growth of duckweed *Lemna minor*. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, n. 62, 10 p., 2017.
- ISHIZAWA, H.; TADA, M.; KURODA, M.; INOUE, D.; IKE, M. Performance of plant growth-promoting bacterium of duckweed under different kinds of abiotic stress factors. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 19, 2019. Número do artigo: 101146.

ISHIZAWA, H.; OGATA, Y.; HACHIYA, Y.; TOKURA, K.; KURODA, M.; INOUE, D.; TOYAMA, T.; TANAKA, Y.; MORI, K.; MORIKAWA, M.; IKE, M. Enhanced biomass production and nutrient removal capacity of duckweed via two-step cultivation process with a plant growth-promoting bacterium, *Acinetobacter calcoaceticus* P23. **Chemosphere**, v. 238, 2020. Número do artigo: 124682.

KAFLE, A. *et al.* Phytoremediation: Mechanisms, plant selection and enhancement by natural and synthetic agents. **Environmental Advances**, 2022. v. 8, n. February, p. 100203. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100203>>.

KHAIRINA, Y.; JOG, R.; BOONMAK, C.; TOYAMA, T.; OYAMA, T.; MORIKAWA, M. Indigenous bacteria, an excellent reservoir of functional plant growth promoters for enhancing duckweed biomass yield on site. **Chemosphere**, v. 268, 2021. Número de página: 129247.

KUREPA, J.; SHULL, T. E.; SMALLE, J. A. Cytokinin-induced growth in the duckweeds *Lemna gibba* and *Spirodela polyrhiza*. **Plant Growth Regulation**, v. 86, p. 477–486, 2018.

LASFAR, S.; MONETTE, F.; MILLETTE, L.; AZZOUZ, A. Intrinsic growth rate: A new approach to evaluate the effects of temperature, photoperiod and phosphorus-nitrogen concentrations on duckweed growth under controlled eutrophication. **Water Research**, v. 41, p. 2333–2340, 2007.

LEÃO, G. A.; OLIVEIRA, J. A. DE; FELIPE, R. T. A.; FARNESE, F. S.; GUSMAN, G. S. Anthocyanins, thiols, and antioxidant scavenging enzymes are involved in *Lemna gibba* tolerance to arsenic. **Journal of Plant Interactions**. v.9, n.1, p. 143-151, 2014.

LEE, M-J.; PARK, S-Y.; OH, M-M. Growth and cell division of lettuce plants under various ratios of red to far-red light-emitting diodes. **Horticulture Environment and Biotechnology**, v. 56, n. 2, p. 186–194, 2015.

LI, N.; WAN, Y.; WANG, X. Nutrient conversion and recovery from wastewater using electroactive bacteria. **Science of the Total Environment**, v. 706, 2020. Número do artigo: 135690.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**. V. 148. P.350-382. 1987.

LIU, Y.; CHEN, X.; WANG, X.; FANG, Y.; HUANG, M.; GUO L.; ZHANG, Y.; ZHAO, H. Improving biomass and starch accumulation of bioenergy crop duckweed (*Landoltia punctata*) by abscisic acid application. **Scientific Reports**, v. 8, 2018. Número do artigo: 9544.

LIU, Y.; CHEN, X.; WANG, X.; FANG, Y.; ZHANG, Y.; HUANG, M.; ZHAO, H. The influence of different plant hormones on biomass and starch accumulation of duckweed: A renewable feedstock for bioethanol production. **Renewable Energy**, v. 138, p. 659-665, 2019.

LOURENÇO, A. R.; BOVE, C. P. Flora do Rio de Janeiro: Lemnoideae (Araceae). **Rodriguésia**, v. 70. p. e02312016, 2019.

MA, Y.; XU, A.; CHENG, Z. M. Effects of light emitting diode lights on plant growth, development and traits a meta-analysis. **Horticultural Plant Journal**, v. 7, n. 6, p. 552–564, 2021.

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: Ceres, 2006, 632p.

- MARTINS FILHO, A. P. **Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento vegetal na rizosfera de Eucalipto**. 2021. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2021.
- MATOS, A. T., de. *Qualidade do Meio Físico Ambiental: Práticas de Laboratório*. Viçosa, MG: Ed. UFV, 150p, 2012.
- MAUCIERI, C.; SALVATO, M.; BORIN, M. Vegetation contribution on phosphorus removal in constructed wetlands. **Ecological Engineering**, v. 152, 2020. Número do artigo: 105853.
- OL'SHANSKAYA, L. N.; POLITAEVA, N. A.; AREF'EVA, O. A.; VALIEV, R. S. Intensification of biomass cultivation process of *Lemna minor* at physical exposure. **Nature Environment and Pollution Technology**, v. 17, n. 2, p. 619–624, 2018.
- OLANREWaju, O. S.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 197, 16 p., 2017.
- OLIVEIRA, A. L. M. DE.; COSTA, K. DOS REIS.; FERREIRA, D. C.; MILANI, K. M. L.; SANTOS, O. J. A. P. DOS.; SILVA, M. B.; ZULUAGA, M. Y. A. Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a sustentabilidade da agricultura. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 3, n. 1, p. 56-77, 2014.
- PANCHA, I.; CHOKSHI, K.; GEORGE, B.; GHOSH, T.; PALIWAL, C.; MAURYA, R.; MISHRA, S. Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. **Bioresource Technology**, v. 156, p. 146-154, 2014.
- PAOLACCI, S.; HARRISON, S.; JANSEN, M. A. K. The invasive duckweed *Lemna minuta* Kunth displays a different light utilisation strategy than native *Lemna minor* Linnaeus. **Aquatic Botany**, v. 146, p. 8–14, 2018.
- PEREIRA, S. DE. F.; POTT, V. J.; TEMPONI, L. G. Lemnoideae (Araceae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguesia**, v. 67, n. 3, p. 839–848, 2016.
- PINHO, P.; JOKINEN, K.; HALONEN, L. The influence of the LED light spectrum on the growth and nutrient uptake of hydroponically grown lettuce. **Lighting Res. Technol.** v. 49, p. 866-881, 2017.
- POTT, V. J.; CERVI, A. C. A família Lemnaceae Gray no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 2, p. 153–174, 1999.
- POTT, V. J. Lemnaceae. In: WANDERLEY, M. D. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: HUCITEC, 2002, v. 2, p. 134-140.
- STIRK, W. A.; VAN STADEN, J. Potential of phytohormones as a strategy to improve microalgae productivity for biotechnological applications. **Biotechnology Advances**, v. 44, 2020. Número de página: 107612.
- SU, H.; ZHAO, Y.; JIANG, J.; LU, Q.; LI, Q.; LUO, Y.; ZHAO, H.; WANG, M. Use of duckweed (*Landoltia punctata*) as a fermentation substrate for the production of higher alcohols as biofuels. **Energy and Fuels**, v. 28, n. 5, p. 3206–3216, 2014.

SU, S.; ZHOU, Y.; QIN, J. G.; YAO, W.; MA, Z. Optimization of the Method for Chlorophyll Extraction in Aquatic Plants. **Journal of Freshwater Ecology**. v. 25, n. 4, p. 531-538, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 918p.

TANG, Y.; MAO, R.; GUO, S. Effects of LED spectra on growth, gas exchange, antioxidant activity and nutritional quality of vegetable species. **Life Sciences in Space Research**, v. 26, p. 77–84, 2020.

TOYAMA, T.; KURODA, M.; OGATA, Y.; HACHIYA, Y.; QUACH, A.; TOKURA, K.; TANAKA, Y.; MORI, K.; MORIKAWA, M.; IKE, M. Enhanced biomass production of duckweeds by inoculating a plant growth-promoting bacterium, *Acinetobacter calcoaceticus* P23, in sterile medium and non-sterile environmental waters. **Water Science and Technology**, v. 76, n. 6, p. 1418-1428, 2017. DOI 10.2166/wst.2017.296

TRIVEDI, P.; LEACH, J. E.; TRINGE, S. G.; SA, T.; SINGH, B. K. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, p. 607–621, 2020.

VIÇOSA, PREFEITURA DE VIÇOSA. Viçosa – Como chegar. Disponível em: <<https://www.vicosamg.gov.br/detalhe-da-materia/info/vicosamg-como-chegar/11013>>. Acesso em: 14 fev., 2022.

VIRŠILĖ, A.; BRAZAITYTĖ, A.; VAŠTAKAITĖ-KAIRIENĖ, V.; MILIAUSKIENĖ, J.; JANKAUSKIENĖ, J.; NOVIČKOVAS, A.; LAUŽIKĖ, K.; SAMUOLIENĖ, G. The distinct impact of multi-color LED light on nitrate, amino acid, soluble sugar and organic acid contents in red and green leaf lettuce cultivated in controlled environment. **Food Chemistry**, v. 310, 2020. Número do artigo: 125799.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. Vol 1: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 4 ed. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2014, 470p.

VIVES-PERIS, V.; OLLAS, C.; GÓMEZ-CADENAS, A.; PÉREZ-CLEMENTE, R.; M.. Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. **Plant Cell Reports**, 2020. v. 39, p. 3–17. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00299-019-02447-5>>.

WAADT, R. Phytohormone signaling mechanisms and genetic methods for their modulation and detection. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 57, p. 31–40, 2020.

WANI, S. H.; KUMAR, V.; SHRIRAM, V.; SAH, S. K. Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. **Crop Journal**, 2016. v. 4, p. 162–176, 2016.

XU, Y. L.; TAN, L.; GUO, L.; YANG, G-L.; LI, Q.; LAI, F.; HE, K-Z.; JIN, Y-L.; DU, A.; FANG, Y.; ZHAO, H. Increasing starch productivity of *Spirodela polyrhiza* by precisely control the spectral composition and nutrients status. **Industrial Crops and Products**, v. 134, p. 284–291, 2019.

YIN, Y.; YU, C.; YU, L.; ZHAO, J.; SUN, C.; MA, Y.; ZHOU, G.. The influence of light intensity and photoperiod on duckweed biomass and starch accumulation for bioethanol production. **Bioresource Technology**, v. 187, p. 84-90, 2015.

ZHAO, Y.; FANG, Y.; JIN, Y.; HUANG, J.; BAO, S.; FU, T.; HE, Z.; WANG, F.; ZHAO, H. Potential of duckweed in the conversion of wastewater nutrients to valuable biomass: A pilot-scale comparison with water hyacinth. **Bioresource Technology**, v. 163, p. 82–91, 2014.

ZHONG, Y.; WANG, L.; MA, Z.; DU, X. Physiological responses and transcriptome analysis of *Spirodela polyrhiza* under red, blue, and white light. **Planta**, v. 255, 15p., 2022. Número de página: 11.