

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA  
CURSO DE AGRONOMIA

**MICROORGANISMOS COMO  
MODULADORES DE CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE  
COMPOSTOS ORGÂNICOS EM LÚPULO HIDROPÔNICO**

**Gustavo Lopes Paschoareli**

Cassilândia-MS

Março/2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA  
CURSO DE AGRONOMIA

**MICROORGANISMOS COMO  
MODULADORES DE CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE  
COMPOSTOS ORGANICOS EM LÚPULO HIDROPÔNICO**

**Nome do(a) acadêmico(a): Gustavo Lopes Paschoareli**  
**Orientador(a): Eduardo Pradi Vendruscolo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Sustentabilidade na Agricultura, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia - Sustentabilidade na Agricultura.

Cassilândia-MS  
Março/2026

---

P282m Paschoareli, Gustavo Lopes

Microorganismos como moduladores de crescimento e produção de compostos orgânicos em lúpulo hidropônico / Gustavo Lopes Paschoareli. – Cassilândia, MS: UEMS, 2026.

42 p.

Dissertação (Mestrado) – Agronomia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2026.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Pradi Vendruscolo

1. *Humulus lupulus* L. 2. Hidroponia 3. Microorganismos promotores de crescimento vegetal 4. Bioestimulantes 5. *Chlorella vulgaris* 6. Metabolismo secundário I. Vendruscolo, Eduardo Pradi II. Título

CDD 23. ed. - 631.58

---

Ficha Catalográfica elaborada pela bibliotecária da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
(UEMS)

Susy dos Santos Pereira CRB1<sup>o</sup>1783

Governo do Estado de Mato Grosso do Sul  
Fundação Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
PROPP - Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
UEMS - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - Sede Dourados  
UUCass - Unidade Universitária de Cassilândia  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
PGAC - Área de Concentração em Sustentabilidade na Agricultura


## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: MICROORGANISMOS COMO MODULADORES DE CRESCIMENTO E  
PRODUÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS EM LÚPULO HIDROPÔNICO**

**AUTOR: GUSTAVO LOPES PASCHOARELI**


**ORIENTADOR: PROF. DR. EDUARDO PRADI VENDRUSCOLO**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de concentração: "Sustentabilidade na Agricultura", pela Comissão Examinadora

Documento assinado digitalmente  
 **EDUARDO PRADI VENDRUSCOLO**  
Data: 26/02/2026 15:53:29-0300  
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

---

Prof. Dr. Eduardo Pradi Vendruscolo - UEMS  
Orientador

Documento assinado digitalmente  
 **CASSIO DE CASTRO SERON**  
Data: 27/02/2026 14:30:59-0300  
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

---

Prof. Dr. Cássio de Castro Seron – UEMS

Documento assinado digitalmente  
 **PABLO FORLAN VARGAS**  
Data: 27/02/2026 13:35:52-0300  
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

---

Prof. Dr. Pablo Forlan Vargas – UNESP/Jaboticabal

Data da realização: 26 de fevereiro de 2026.

## **Epigrafe**

“Se nós tivéssemos escolhido uma posição na vida na qual nós pudéssemos quase que inteiramente trabalhar para a humanidade, nenhum fardo poderia nos derrubar, porque eles são sacrifícios para o benefício de todos; então nós podemos experimentar não uma alegria mesquinha, limitada, egoísta, mas nossa felicidade pertencerá a milhões, nossas ações viverão em silêncio mas perpetuamente no trabalho, e acima de nossas cinzas serão derramadas as lágrimas quentes das pessoas nobres.”

Karl Marx

## **Dedicatória**

Dedico esse trabalho aos meus pais, Dionizio Paschoareli Junior e Roseli Aparecida Lopes Paschoareli, por sempre me apoiarem naquilo em que acredito, não medindo esforços em me apoiar em cada obstáculo.

## **Agradecimentos**

Primeiramente agradecer aos meus pais, Dionizio Paschoareli Junior e Roseli Aparecida Lopes Paschoareli, expresse minha mais profunda gratidão por todo o apoio, amor, incentivo e por sempre fazerem o possível para me proporcionar o melhor. Nada disso seria possível sem vocês.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Pradi Vendruscolo, agradeço imensamente pela orientação, confiança, paciência e ensinamentos ao longo de toda esta trajetória. Mais do que orientador, tornou-se um amigo, sempre me conduzindo da melhor forma e contribuindo de maneira essencial para minha formação acadêmica e pessoal.

Agradeço também a todos os professores e funcionários da UEMS, que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação e para a realização deste trabalho.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), deixo um agradecimento especial pela oportunidade de realizar o intercâmbio no Uruguai, experiência que agregou de forma imensurável aos meus conhecimentos acadêmicos, profissionais e pessoais, ampliando minha visão científica e fortalecendo minha trajetória na pesquisa.

Aos meus parceiros e colegas de mestrado, agradeço pela convivência, trocas de conhecimento e apoio ao longo dessa jornada. Em especial, aos grandes amigos Diego Miguel Blanco Bertolo, Luiza Guidi Ganzella e Ítalo Ventrue, que estiveram presentes em diferentes momentos desta caminhada. Por meio deles, estendo meu agradecimento aos demais colegas do mestrado.

Ao Igor Leão de Almeida, minha sincera gratidão por todo o suporte durante o período em que estive no Uruguai, ficando responsável pelo meu experimento, realizando as avaliações necessárias e repondo a solução quando preciso. Por meio dele, agradeço também a todos os graduandos que contribuíram e me auxiliaram durante esse período.

Agradeço, de forma muito especial, ao Eduardo Paulino da Costa Silva e ao Bruno Barbosa Ascoli, que estiveram ao meu lado durante todo o meu período em Cassilândia. Ao longo desses 7 anos, “emprestaram” suas famílias e fizeram com que eu me sentisse parte delas, sendo minha família nesse tempo. Hoje, além

dessa amizade construída, tornam-se meus sócios na CONNABIS, com uma longa e promissora caminhada pela frente.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste mestrado e para a construção desta etapa tão importante da minha vida. Levo comigo cada aprendizado, apoio e incentivo recebidos ao longo dessa jornada.

## Resumo

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma cultura de crescente relevância agrônômica e econômica no Brasil, impulsionada pela expansão da indústria cervejeira artesanal e pela demanda por matérias-primas nacionais de elevada qualidade. No entanto, seu cultivo em condições tropicais e em sistemas intensivos ainda apresenta desafios relacionados ao manejo nutricional, ao desempenho fisiológico e à qualidade bioquímica das plantas. Nesse contexto, o uso de microrganismos promotores de crescimento vegetal e microalgas surge como alternativa sustentável para melhorar o crescimento, a produção e a síntese de compostos de interesse agrônômico e industrial. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação isolada e combinada de *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Chlorella vulgaris* sobre o crescimento, a produção e a composição bioquímica de plantas de lúpulo cultivadas em sistema hidropônico. O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada, na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Cassilândia, utilizando mudas da cultivar Southern Cross cultivadas em sistema hidropônico de solução estática aerada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos: controle, *A. brasilense*, *P. fluorescens*, *C. vulgaris*, *A. brasilense* + *C. vulgaris* e *P. fluorescens* + *C. vulgaris*. Foram avaliadas características biométricas, produtivas e bioquímicas, incluindo altura de plantas, diâmetro do caule, número e massa seca de inflorescências, massa seca da parte aérea, volume radicular, compostos fenólicos, flavonoides, taninos, atividade antioxidante, fator de proteção solar, clorofilas e carotenoides. Os resultados demonstraram que os microrganismos promoveram respostas distintas entre os ciclos de cultivo, com efeitos mais expressivos sobre a produção de inflorescências e a modulação do metabolismo secundário. A aplicação de *A. brasilense* + *C. vulgaris* favoreceu o acúmulo de compostos fenólicos no primeiro ciclo, enquanto *P. fluorescens* se destacou no segundo ciclo, especialmente nas inflorescências. Nas folhas, a combinação *P. fluorescens* + *C. vulgaris* proporcionou maiores teores de compostos fenólicos, flavonoides e taninos. Conclui-se que a aplicação de microrganismos promotores de crescimento vegetal e da microalga *C. vulgaris* constitui estratégia promissora para o manejo sustentável do lúpulo hidropônico, contribuindo para a melhoria da produção, da qualidade bioquímica e da eficiência fisiológica da cultura em condições tropicais.

**Palavras-chave:** *Humulus lupulus* L.; hidroponia; microrganismos promotores de crescimento vegetal; bioestimulantes; *Chlorella vulgaris*; metabolismo secundário.

## **Abstract**

Hop (*Humulus lupulus* L.) is a crop of increasing agronomic and economic relevance in Brazil, driven by the expansion of the craft brewing industry and the growing demand for high-quality national raw materials. However, its cultivation under tropical conditions and intensive production systems still presents challenges related to nutritional management, physiological performance, and biochemical quality. In this context, the use of plant growth-promoting microorganisms and microalgae emerges as a sustainable alternative to improve plant growth, yield, and the synthesis of compounds of agronomic and industrial interest. Thus, this study aimed to evaluate the effects of the isolated and combined application of *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Chlorella vulgaris* on the growth, production, and biochemical composition of hop plants cultivated in a hydroponic system. The experiment was conducted in a climate-controlled greenhouse at the State University of Mato Grosso do Sul, Cassilândia University Unit, using seedlings of the Southern Cross cultivar grown in an aerated static hydroponic solution system. The experimental design was completely randomized, consisting of six treatments: control, *A. brasilense*, *P. fluorescens*, *C. vulgaris*, *A. brasilense* + *C. vulgaris*, and *P. fluorescens* + *C. vulgaris*. Biometric, productive, and biochemical traits were evaluated, including plant height, stem diameter, number and dry mass of inflorescences, shoot dry mass, root volume, phenolic compounds, flavonoids, tannins, antioxidant activity, sun protection factor, chlorophylls, and carotenoids. The results showed that the microorganisms induced distinct responses between cultivation cycles, with more pronounced effects on inflorescence production and modulation of secondary metabolism. The application of *A. brasilense* + *C. vulgaris* favored the accumulation of phenolic compounds in the first cycle, whereas *P. fluorescens* stood out in the second cycle, especially in the inflorescences. In the leaves, the combination of *P. fluorescens* + *C. vulgaris* promoted higher contents of phenolic compounds, flavonoids, and tannins. It is concluded that the application of

plant growth-promoting microorganisms and the microalga *C. vulgaris* represents a promising strategy for the sustainable management of hydroponic hop cultivation, contributing to improvements in production, biochemical quality, and physiological efficiency under tropical conditions.

**Keywords:** *Humulus lupulus* L.; hydroponics; plant growth-promoting microorganisms; biostimulants; *Chlorella vulgaris*; secondary metabolism.

## Sumário:

Lista de figuras	10
1. Introdução	11
2. Material e métodos	12
2.1. Localização experimental, condições de cultivo e plantio	12
2.2. Delineamento experimental	14
2.3. Avaliação biométrica	14
2.3. Análise de compostos orgânicos, fenólicos e antioxidantes	15
2.3.1. Obtenção dos extratos aquosos e hidroetanólicos	15
2.3.2. Análise química: conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides e taninos	15
2.3.3. Análise por Cromatografia Líquida de Ultra Performance com detector de arranjo de diodos (UPLC-DAD)	16
2.3.4. Ensaio de Inibição do Radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	17
2.3.5. Quantificação de clorofilas a, b e carotenóides	17
2.3.6. Fator de Proteção Solar (FPS)	18
2.3.7. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	18
2.3.8. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)	18
2.3.9. Análise estatística	19
3. Resultados	19
4. Discussão	28
Referências	32

## Lista de figuras

Figura 1. Diâmetro de caule (A), altura de planta (B), número de inflorescências (C), massa seca de inflorescências (D) e massa seca de parte aérea (E) de plantas de lúpulo, de primeiro ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  DP (n=6). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*. 20

Figura 2. Teor de compostos fenólicos (A), flavonoides (B), taninos (C), atividade antioxidante (D), fator de proteção solar (E), clorofila a (F), clorofila b (G) e carotenoides (H) de inflorescências de lúpulo, de primeiro ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  DP (n=3). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*. 21

Figura 3. Diâmetro de caule (A), altura de planta (B), número de inflorescências (C), volume radicular (D), massa seca de inflorescências (E), massa seca de parte aérea (F) e massa seca de raiz (G) de plantas de lúpulo, de segundo ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  DP (n=5). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*. 23

Figura 4. Teor de compostos fenólicos (A), flavonoides (B), taninos (C), atividade antioxidante (D), fator de proteção solar (E), clorofila a (F), clorofila B (G) e carotenoides (H) de inflorescências de lúpulo, de segundo ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  DP (n=3). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*. 25

Figura 5. Teor de compostos fenólicos (A), flavonoides (B), taninos (C), atividade antioxidante (D), fator de proteção solar (E), clorofila a (F), clorofila B (G) e carotenoides (H) de folhas de lúpulo, de segundo ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  DP (n=3). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*. 27

## 1. Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores de cerveja do mundo. Com o aumento das cervejarias artesanais a cultura do lúpulo (*Humulus lupulus* L.) tem se expandido para regiões onde tradicionalmente não havia cultivo. Impulsionado pela demanda crescente da indústria cervejeira por insumos locais e de alta qualidade fitossanitária e químicas, as flores de lúpulo tem altos preços, que favorece a adoção de sistemas de cultivo protegidos e tecnificados, como a hidroponia (Jastrombek *et al.*, 2022).

Embora o sistema hidropônico tenha uma maior eficiência no uso da água e controle nutricional, exige a utilização exclusiva de fertilizantes minerais solúveis, elevando os custos de produção, contradizendo os preceitos da intensificação ecológica (Savvas & Gruda, 2018; Shareef *et al.*, 2024). Sendo assim, buscam-se estratégias que aliem produtividade à sustentabilidade sistêmica, destacando assim o uso de microrganismos promotores de crescimento plantas (MPCPs) como uma alternativa viável para otimizar a absorção de nutrientes e reduzir o consumo de fertilizantes minerais durante o cultivo da cultura (Lee & Lee, 2015).

A utilização de rizobactérias, dos gêneros *Azospirillum* e *Pseudomonas*, vem demonstrando resultados expressivos na agricultura moderna, atuando através de mecanismos diretos e indiretos, como a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfatos e síntese de fito-hormônios, notadamente o ácido indolacético (AIA) (Etesami & Glick, 2024; Ganusova *et al.*, 2025) O *Azospirillum brasilense*, amplamente reconhecido por sua capacidade de estimular o desenvolvimento radicular e aumentar a eficiência do uso de nitrogênio, tem sido validado em diversas culturas de interesse agrônomo, promovendo incrementos significativos na biomassa vegetal (Glick 2012; Cassán & Diaz-Zorita, 2016; Oliveira *et al.*, 2023). Também, as bactérias do gênero *Pseudomonas* destacam-se não apenas pela produção de sideróforos e solubilização de fósforo inorgânico, mas também pelo seu potencial como agentes de biocontrole e indutores de resistência sistêmica, características essenciais para o manejo sanitário em sistemas intensivos (Oteino *et al.*, 2015).

Recentemente uma microalga tem chamado a atenção devido ao seu potencial bioestimulante, a *Chlorella vulgaris*, cuja aplicação como bioestimulante representa uma fronteira inovadora na promoção de crescimento e na nutrição

vegetal. A *C. vulgaris* é rica em aminoácidos, polissacarídeos, vitaminas e reguladores de crescimento que, quando aplicados via solução nutritiva ou foliar, atuam no metabolismo primário e secundário das plantas, favorecendo a fotossíntese e a tolerância a estresses (Ronga et al., 2019; González-Pérez et al., 2022). Estudos recentes indicam que extratos ou células vivas de microalgas podem atuar como "condicionadores biológicos" da rizosfera, melhorando a disponibilidade de nutrientes e estimulando a atividade enzimática do sistema radicular, o que é particularmente vantajoso em substratos inertes utilizados na hidroponia (Chanda et al., 2020).

A presença de *C. vulgaris* na solução nutritiva pode liberar exsudatos orgânicos que servem de substrato para *Azospirillum* e *Pseudomonas*, potencializando sua colonização e atividade, enquanto as bactérias, por sua vez, podem fornecer CO<sub>2</sub> e compostos que favorece o crescimento da microalga (Kim et al., 2014; Ambarian et al., 2014). Trabalhos recentes sugerem que co-inoculações de microalgas com rizobactérias podem superar os efeitos dos tratamentos isolados, resultando em um efeito "biofertilizante" ampliado, capaz de sustentar o vigor vegetativo de culturas exigentes como o lúpulo, mesmo sob restrições nutricionais (Kopta et al., 2020; Reynolds et al., 2022).

Portanto, diante da escassez de literatura específica sobre a interação desses consórcios microbianos na lupulicultura em sistema sem solo, esta pesquisa tem como hipótese a necessidade de desenvolver protocolos de manejo biológico eficientes. O presente trabalho objetivou avaliar o impacto agrônomo da inoculação isolada e combinada de *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas* sp. e *Chlorella vulgaris* no desenvolvimento e qualidade do lúpulo em cultivo hidropônico, visando consolidar tecnologias sustentáveis para a cadeia produtiva desta cultura.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Localização experimental, condições de cultivo e plantio**

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), na Unidade Universitária de Cassilândia (UUC), localizada no município de Cassilândia (latitude 19°07'21" S, longitude 51°43'15" W e altitude 516 m). De acordo com a classificação climática de Köppen, a região apresenta clima tropical chuvoso (Aw) com verão chuvoso e inverno seco.

O ambiente utilizado para a condução do experimento foi uma casa de vegetação climatizada de 14,64 m x 6,40 m x 3,5 m (93,70 m<sup>2</sup>), com cobertura e lateral revestidas com filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) de 150 microns, difusor de luz, camada dupla, com sistema de climatização pad/fan Humil Cool (CELDEX®), sendo ligada ao atingir 27 °C e possuindo o seu desligamento ao chegar no 20 de 1,2 m x 0,15 m. Tela termorefletoras aluminizada ALUMINET® 35% ("I") de sombreamento, móvel, sob o filme de polietileno, a qual permaneceu aberta.

A propagação das mudas de lúpulo foi realizada por meio assexuado, por estaquia, retirando-se porções com um nó de plantas matrizes da cultivar Southern Cross. As estacas foram enraizadas em espuma fenólica, em sistema hidropônico e, em seguida, as mudas enraizadas foram transferidas para *net pots* específicos para hidroponia e levados a vasos de 5 litros. Cada vaso foi preenchido com solução nutritiva, formando sistema hidropônico do tipo solução estática aerada.

Para a aeração da solução, foi utilizado um compressor de 80w, fornecendo 80 litros de ar por minuto, conectado em uma mangueira cristal PVC de 3/8 de 6 m conectada a mangueiras de silicone 4mm fixada por meio de cateter 18, com pedra porosa nas extremidades, para uma melhor homogeneização da aeração.

Os microrganismos utilizados foram duas bactérias, sendo elas: *Azospirillum brasilense* (estirpe Ab-V5 e AbV6, com concentração de  $2 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias "UFC" mL<sup>-1</sup>) e *Pseudomonas fluorescens* (estirpe CCTB03, com concentração de  $2 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>) e a microalga *Chlorella vulgaris* as utilizando de forma isolada e as bactérias em conjunto com a *Chlorella vulgaris* na solução nutritiva.

O experimento teve seu início no dia 21 de março de 2025, sendo eles passados das canaletas de enraizamento para os pots de hidroponia, para ai serem colocados em vasos de 5L com solução PlantPar (18% N, 8% P, 30% K, 3% S, 3% Mg, 15% Ca, 0,14% Fe, 0,04% B, 0,04% Mn, 0,03% Cu, 0,019% Mo, 0,006% Ni e 0,002% Co) fertilizante de produção, com condutividade elétrica (EC) de 1,3 dS m<sup>-1</sup>, em dosagem recomendada pelo fabricante, de 62,5g para cada 100 litros, com ph de 5,5 a 6,6 durante toda a execução do experimento

## 2.2. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram constituídos da seguinte maneira: Controle - sem aplicação de microrganismos; Azb - Aplicação de *A. brasilense* (0,48 mL L<sup>-1</sup>); Psf - Aplicação de *P. fluorescens* (0,32 mL L<sup>-1</sup>); Chv - Aplicação de *C. vulgaris* (10 mL L<sup>-1</sup>); Azb+Chv - Aplicação de *A. brasilense* + *C. vulgaris*; Psf+Chv - Aplicação de *P. fluorescens* + *C. vulgaris*. Todos os microrganismos foram aplicados via solução nutritiva e reaplicados aos 14 e 21 dias.

## 2.3. Avaliação biométrica

Foram realizadas avaliações semanais, ocorrendo durante 3 semanas após a realização da segunda aplicação onde foi avaliado altura de planta (AP), diâmetro do caule (DC) e número de nós (NN), para que se obtivesse dados preliminares de crescimento inicial, o primeiro corte foi realizado no dia 14/08/2025, sendo realizada uma reaplicação dos microrganismos na solução.

Após o corte foram realizadas avaliações da altura da planta (AP), diâmetro do caule (DC), número de inflorescências (NF), massa seca de inflorescências (MSF) e massa seca de parte aérea (MSPA), após as inflorescências foram moídas em um triturador e enviadas para avaliação dos compostos presentes.

Para o segundo ciclo se repetiu as 3 avaliações realizadas no primeiro ciclo, sendo a primeira avaliação realizada 10 dias após o corte, sendo as seguintes realizadas no intervalo de 7 dias cada, próximo ao final do ciclo que se seguia ocorreu uma infestação de *Tetranychus urticae*, sendo necessária uma colheita e avaliações dos resultados antecipado.

O segundo corte foi realizado no dia 20/10/2025, sendo assim realizadas as seguintes avaliações: altura da planta (AP), diâmetro do caule (DC), volume de raiz (VR), número de inflorescências (NF), massa seca de inflorescências (MSF) e massa seca da parte aérea (MSPA), sendo, em seguida, folhas e inflorescências moídas e enviadas para análise de compostos.

## **2.3. Análise de compostos orgânicos, fenólicos e antioxidantes**

### **2.3.1. Obtenção dos extratos aquosos e hidroetanólicos**

As inflorescências secas (primeiro e segundo ciclos) e folhas secas (segundo ciclo) trituradas de lúpulo (*Humulus lupulus*) obtidas de diferentes tratamentos foram submetidas a duas extrações diferentes, utilizando 2% de material vegetal, com etanol 70%. A extração ocorreu a temperatura ambiente (20°C) por 48 horas. Após esse período, o conteúdo foi filtrado, obtendo-se o extrato hidroetanólico (EHE) de *H. lupulus*. Para as análises subsequentes, os extratos em sua forma líquida foram utilizados na análise química e antioxidante, além da varredura UV/Vis para a quantificação de clorofilas  $\alpha$  e  $\beta$ , carotenóides e Fator de Proteção Solar (FPS).

### **2.3.2. Análise química: conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides e taninos**

O conteúdo de compostos fenólicos foi determinado utilizando o método de Folin–Ciocalteu (Djeridane et al. 2006). Uma mistura reacional foi preparada com 1 mL da amostra, 0,5 mL do reagente de Folin–Ciocalteu e 1 mL de água destilada. Após reagir por 1 minuto, adicionou-se 1,5 mL de carbonato de sódio a 20% (p/v). A mistura foi incubada à temperatura ambiente por 120 minutos, e a absorbância foi medida a 760 nm utilizando um espectrofotômetro (Global Trade Technology, Brasil). A quantificação foi baseada em uma curva de calibração de ácido gálico (10–1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ;  $y = 0,0015x + 0,0008$ ,  $R^2 = 0,9875$ ), e os resultados foram expressos como  $\mu\text{g}$  de equivalente de ácido gálico por mL de extrato ( $\mu\text{g EAG mL}^{-1}$ ). O branco foi feito substituindo a amostra pelo solvente de extração. O teste foi realizado em triplicata.

O conteúdo de flavonóides foi determinado utilizando um ensaio com cloreto de alumínio a 2% (p/v) (Djeridane et al. 2006). Volumes iguais (1 mL) da solução de cloreto de alumínio e da amostra foram misturados. Após 15 minutos à temperatura ambiente, a absorbância foi lida a 430 nm utilizando um espectrofotômetro. A quantificação foi baseada em uma curva de calibração de rutina (10–50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ;  $y = 0,0105x + 0,0019$ ,  $R^2 = 0,9990$ ), e os resultados foram expressos como  $\mu\text{g}$  de

equivalente de rutina por mL de extrato ( $\mu\text{g ER mL}^{-1}$ ). O branco foi feito substituindo a amostra pelo solvente de extração. O teste foi realizado em triplicata.

O conteúdo de taninos foi determinado utilizando o método de Folin-Denis (Pansera et al. 2003). Volumes iguais (0,5 mL) da solução de Folin-Denis e da amostra foram misturados, e após 3 minutos, 0,5 mL de carbonato de sódio 8% (p/v) foram adicionados à mistura reacional. Após 120 minutos à temperatura ambiente, a absorbância foi lida a 725 nm utilizando um espectrofotômetro. A quantificação foi baseada em uma curva de calibração de ácido tânico ( $0,5\text{--}80 \mu\text{g mL}^{-1}$ ;  $y = 0,009x + 0,03837$ ,  $R^2 = 0,99826$ ), e os resultados foram expressos como  $\mu\text{g}$  de equivalente de ácido tânico por mL de extrato ( $\mu\text{g EAT mL}^{-1}$ ). O branco foi feito substituindo a amostra pelo solvente de extração. O teste foi realizado em triplicata.

### **2.3.3. Análise por Cromatografia Líquida de Ultra Performance com detector de arranjo de diodos (UPLC-DAD)**

A análise cromatográfica foi realizada por cromatografia líquida de ultra performance (UPLC) acoplada a detector de arranjo de diodos (DAD) (Shimadzu, Japão), operando na faixa de comprimento de onda de 190 a 800 nm, com resolução espectral de 1,2 nm. A separação foi conduzida em uma coluna de fase reversa C18 (100 mm  $\times$  75 mm, 2,6  $\mu\text{m}$  de diâmetro de partícula; Phenomenex, EUA), mantida a 30 °C em compartimento termostatado. A vazão do sistema foi de 0,45 mL $\cdot$ min $^{-1}$ .

A fase móvel foi composta por um sistema binário: solvente A (água acidificada com 0,1% de ácido fórmico, v/v) e solvente B (acetonitrila). A eluição seguiu o seguinte gradiente: 0% de B no tempo inicial, 30% de B aos 14 minutos, 100% de B aos 24 minutos, retornando a 0% de B aos 28 minutos. O sistema permaneceu em 0% de B por mais 2 minutos para estabilização entre as injeções.

As amostras foram previamente filtradas em filtros de seringa Millex-HV (porosidade de 0,45  $\mu\text{m}$ ; Merck, Alemanha), e um volume de 10  $\mu\text{L}$  foi injetado em cada corrida cromatográfica.

Para a análise qualitativa, foram utilizados como padrões de referência os seguintes compostos: ácido gálico, catequina, ácido vanílico, ácido cafeico, ácido siríngico, rutina, vanilina, ácido p-cumárico, ácido carnasoico, ácido sinápico, ácido ferúlico, ácido salicílico, melatonina, ácido rosmarínico, ácido benzoico,

ácido-3-indoleacético, luteolina, quercetina, ácido cinâmico, naringenina, kaempferol carnosol (Sigma-Aldrich, EUA). Os tempos de retenção e os espectros UV-vis obtidos por detecção em arranjo de diodos (DAD) para cada padrão foram comparados com os dos compostos detectados nos extratos aquosos e hidroetanólicos, em diferentes comprimentos de onda.

Apenas o ácido rosmarínico e a naringenina foram identificados. Para a quantificação, foi construída uma curva de calibração com cada padrão em concentrações de 33 a 266,4 ng (equação da reta para ácido rosmarínico, obtida em 330 nm:  $y = 3083,9x + 3354,5$ ,  $R^2 = 0,9996$ ; equação da reta para naringenina, obtida em 280 nm:  $y = 3673,5x - 4818,7$ ,  $R^2 = 0,9996$ ). A quantificação foi realizada com base nas áreas dos picos nas amostras, obtidas nos mesmos comprimentos de onda que os padrões, e os resultados foram expressos em  $\text{ng mL}^{-1}$ .

#### **2.3.4. Ensaio de Inibição do Radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)**

Para cada 100  $\mu\text{L}$  de amostra, foram adicionados 2000  $\mu\text{L}$  de uma solução de DPPH a 0,1  $\text{mmol L}^{-1}$  em metanol. A reação foi conduzida por 30 minutos, protegida da luz, seguida da leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm. A porcentagem de inibição foi calculada conforme a Equação:  $\%I = 100 \times (\text{AbsC} - \text{AbsA}) / \text{AbsC}$ , onde  $\%I$  representa a inibição (%),  $\text{AbsC}$  é a absorbância do controle e  $\text{AbsA}$  é a absorbância da amostra após a reação. O controle foi feito substituindo a amostra pelo solvente de extração. O teste foi realizado em triplicata.

#### **2.3.5. Quantificação de clorofilas a, b e carotenóides**

Os extratos obtidos foram analisados usando um espectrofotômetro em comprimentos de onda de 470, 649 e 665 nm. A clorofila a (CA) foi calculada usando a Equação 1, a clorofila b (CB) foi calculada usando a Equação 2 e os carotenóides ( $C_{x+c}$ ) foram calculados usando a Equação 3 (Lichtenthaler e Wellburn, 1983).

$$(1) \quad CA = 13.95 \times A_{665} - 6.88 \times A_{649}$$

$$(2) \quad CB = 24.96 \times A_{649} - 7.32 \times A_{665}$$

$$(3) \quad C_{x+c} = (1000 \times A_{470} - 2.05 \times C_{\alpha} - 114.8 \times C_{\beta}) / 245$$

### 2.3.6. Fator de Proteção Solar (FPS)

As amostras foram submetidas à varredura em um espectrofotômetro em comprimentos de onda de 290 a 320 nm com intervalos de 5 nm. O fator de proteção solar (FPS) foi calculado usando a equação 4. FC representa o fator de correção,  $EE_{\lambda} \times I_{\lambda}$  representa o espectro de eficiência eritemal por comprimento de onda, e  $Abs_{\lambda}$  representa o espectro de absorbância da amostra (Mansur et al., 1986). O FC utilizado foi 10. Os valores de EE foram retirados do trabalho de Sayre et al. (1979).

$$(4) \quad FPS = FC \times \sum_{290}^{320} EE_{\lambda} \times I_{\lambda} \times Abs_{\lambda}$$

### 2.3.7. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise foi realizada em um espectrofotômetro Thermo-Nicolet Nexus 670, acoplado a um detector fotoacústico MTEC-300. Para evitar interferências de vapor d'água e dióxido de carbono, o espectrofotômetro foi purgado com ar seco e, entre as leituras, utilizou-se hélio na câmara fotoacústica. Uma referência negra foi empregada para calibração do equipamento. As leituras foram realizadas na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com 128 varreduras por amostra e resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$ . As análises foram conduzidas utilizando as inflorescências secas e trituradas de *H. lupulus*.

### 2.3.8. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

Apenas os extratos hexânicos (2%, m/v) foram submetidos o CG-EM. O solvente de extração (Hexano P.A.) foi utilizado como branco.

As análises de GC-MS foram realizadas em um cromatógrafo gasoso (GC-17A, Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com detector de espectrometria de massas (QP 5050a), utilizando uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (J & W, 5% fenil-dimetilpolissiloxano) (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura do filme), sob as seguintes condições: gás de arraste hélio (99,999% e vazão de 1,0 mL/min); volume de injeção de 1  $\mu\text{L}$ , razão de divisão (1:20), com temperatura inicial do forno de 50  $^{\circ}\text{C}$  e aquecimento de 50  $^{\circ}\text{C}$  a 280  $^{\circ}\text{C}$  a 4  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . As temperaturas do injetor, do detector quadrupolo e da linha de

transferência foram de 250 °C. Os parâmetros de varredura de MS incluíram voltagem de ionização por impacto eletrônico de 70 eV, faixa de massa de 45 a 700 m/z e intervalo de varredura de 0,5 s. As identificações foram concluídas comparando os espectros de massa obtidos nas bibliotecas QP5050 (NIST21 e WILEY229). Os índices de retenção programados por temperatura (Zhao et al., 2005) foram calculados usando uma mistura de parafina normal (C8-C28) como referência externa. As identificações foram concluídas comparando os espectros de massa obtidos nas bibliotecas QP5050 com dados da literatura (Adams, 2017).

### **2.3.9. Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias dos tratamentos foram agrupadas utilizando o algoritmo de agrupamento de Scott-Knott com nível de probabilidade de 5%. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Sisvar, versão 5.6 para Windows (Ferreira, 2019).

## **3. Resultados**

Constatou-se que, ao final do primeiro ciclo, o diâmetro de caule foi superior em plantas dos tratamentos controle, *Pseudomonas fluorescens* (Psf) e *Azospirillum brasilense* + *Chlorella vulgaris* (Azb+Chv), enquanto que, para o número e a massa seca das inflorescências, a superioridade foi observada nos tratamentos controle e Azb, assim como para Chv na massa seca das inflorescências. Em complemento, os tratamentos não resultaram em diferença na altura de planta e na massa seca da parte aérea (Figura 1).

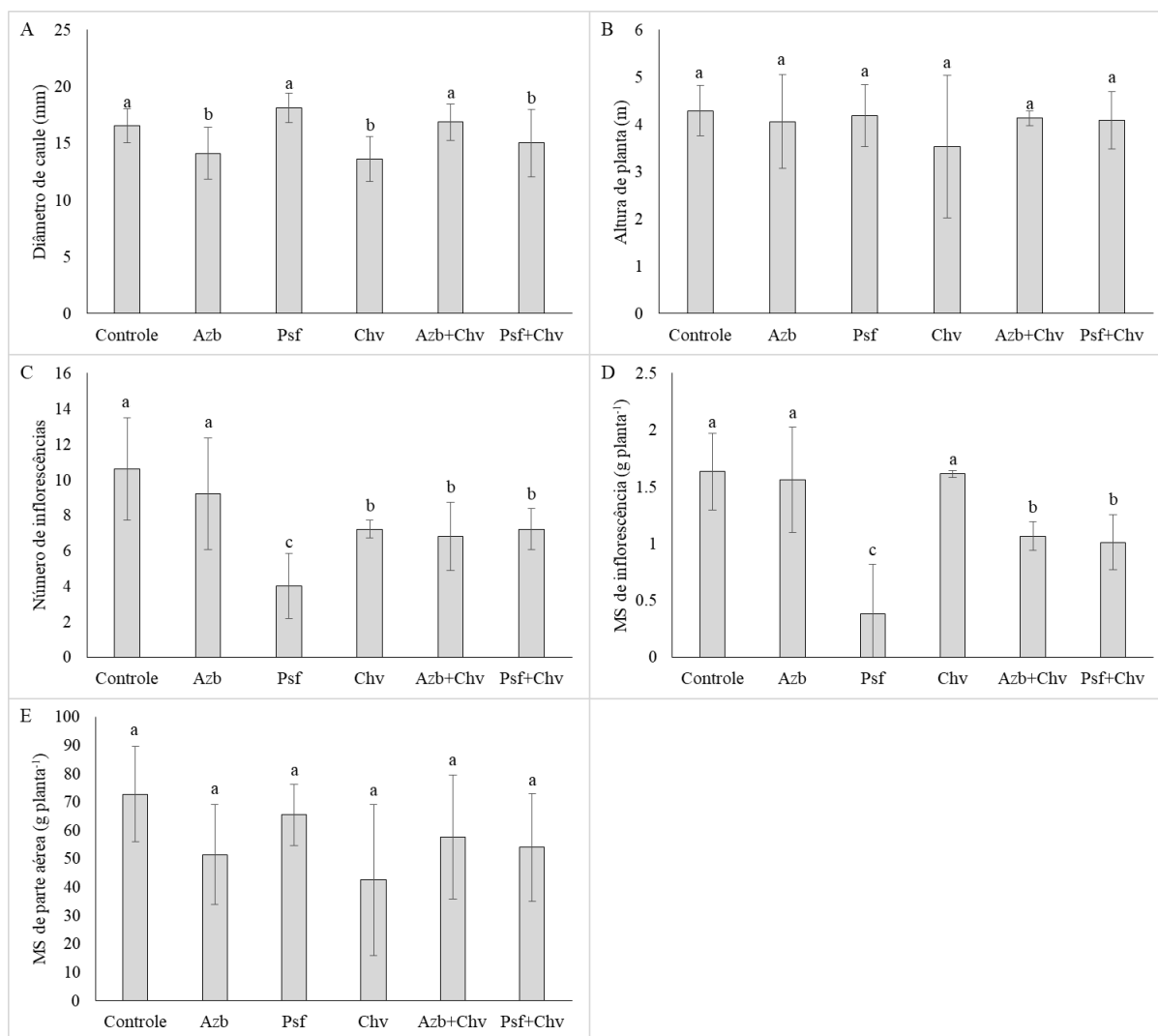


Figura 1. Diâmetro de caule (A), altura de planta (B), número de inflorescências (C), massa seca de inflorescências (D) e massa seca de parte aérea (E) de plantas de lúpulo, de primeiro ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  desvio padrão ( $n=6$ ). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*.

Foi verificado que o teor de compostos fenólicos foi favorecido pela aplicação conjunta de Azb+Chv quando comparado aos demais tratamentos (Figura 2A), porém os teores de flavonoides foram superiores nos tratamentos controle, Azb, Azb+Chv e Psf+Chv em relação aos demais (Figura 2B). Foi constatado que o uso de microrganismos proporciona aumento nos teores de tanino e no fator de proteção solar em comparação com o controle, porém, o controle obteve maior atividade antioxidante em comparação ao uso dos microrganismos (Figura 2C, D, E).

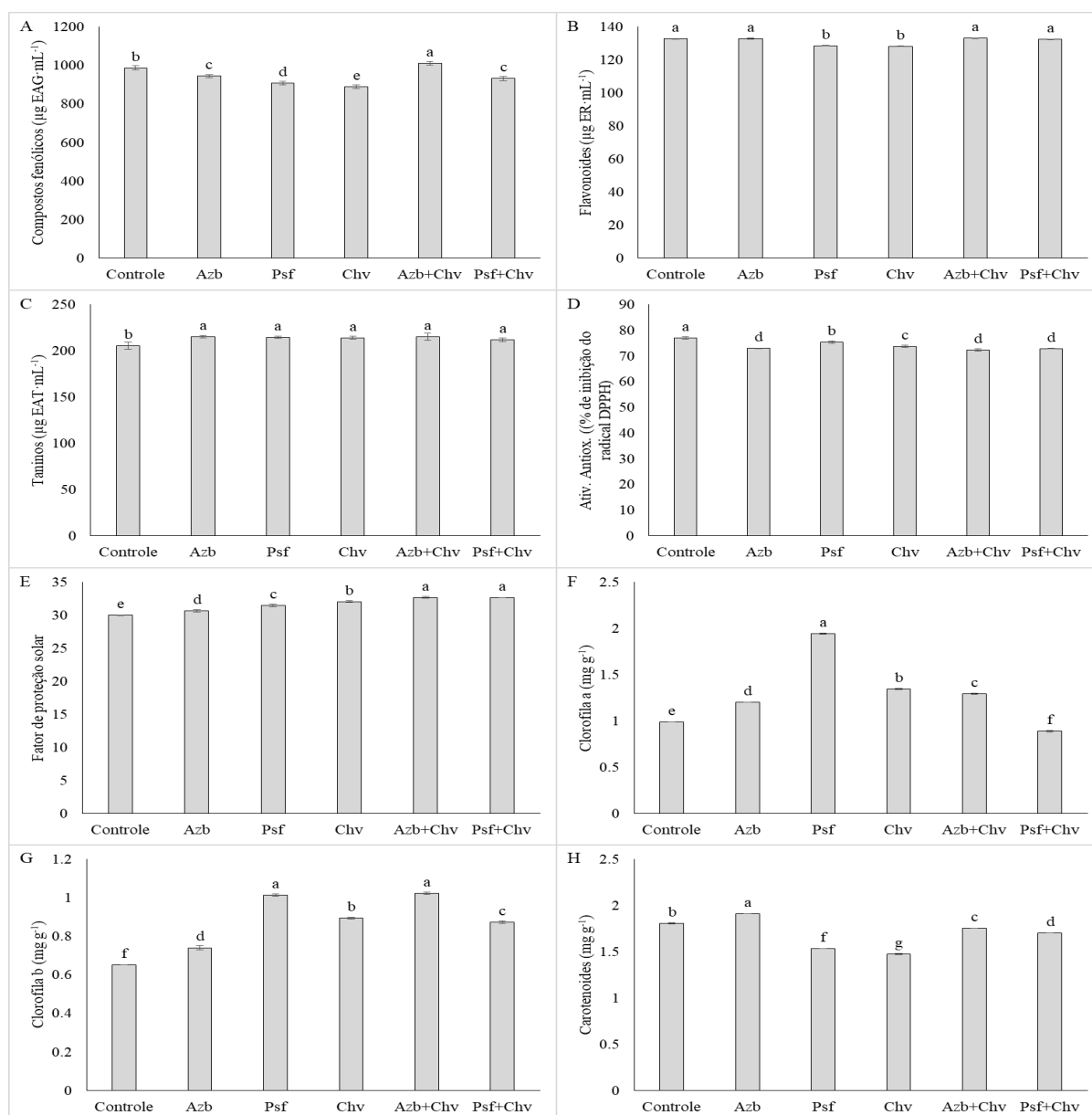


Figura 2. Teor de compostos fenólicos (A), flavonoides (B), taninos (C), atividade antioxidante (D), fator de proteção solar (E), clorofila a (F), clorofila b (G) e carotenoides (H) de inflorescências de lúpulo, de primeiro ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  desvio padrão (n=3). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*.

Para os teores de clorofila a e b, os tratamentos Psf e Azb+Chv e o tratamento Chv culminaram nas maiores concentrações para estas características (Figura 2F, G), portanto o tratamento Azb se destacou positivamente quando

comparado aos demais tratamentos em relação aos teores de carotenóides (Figura 2H).

Ao final do segundo ciclo, foi observada a similaridade entre os tratamentos para as características de diâmetro do caule, altura de plantas, volume radicular, massa seca de parte aérea e de raiz (Figura 3), assim sendo superior os tratamentos compostos pelos microrganismos sobre o número e a massa seca de inflorescências (Figura 3C, E).

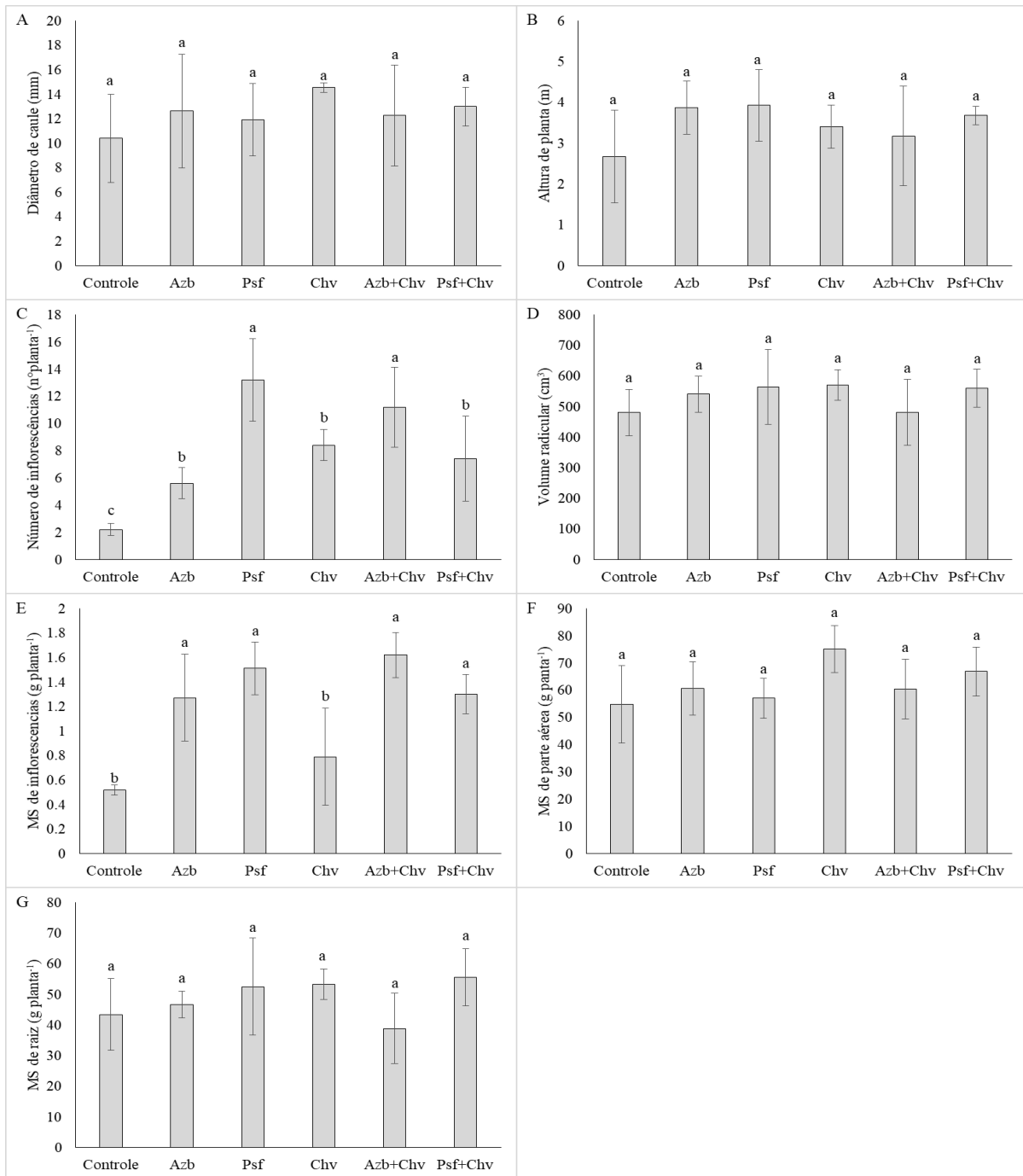


Figura 3. Diâmetro de caule (A), altura de planta (B), número de inflorescências (C), volume radicular (D), massa seca de inflorescências (E), massa seca de parte aérea (F) e massa seca de raiz (G) de plantas de lúpulo, de segundo ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  desvio padrão (n=5). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*.

O tratamento Psf se destacou com médias superiores de compostos fenólicos em flores provenientes do segundo ciclo produtivo (Figura 4A), assim como os tratamentos Psf e Azb para os teores de flavonoides (Figura 4B). Também, para os teores de tanino e fator de proteção solar, com exceção de Azb, todos os tratamentos foram superiores ao controle (Figura 4C e E), enquanto que os tratamentos controle e Azb foram superiores aos demais quanto à atividade antioxidante (Figura 4D).

Os teores de clorofila a e b foram favorecidos pelos tratamentos Azb e Psf, respectivamente (Figura 4F, G). Em contrapartida, os teores de carotenoides foram elevados pela aplicação dos microrganismos, com exceção de Azb, que resultou em teores inferiores ao tratamento controle (Figura 4H).

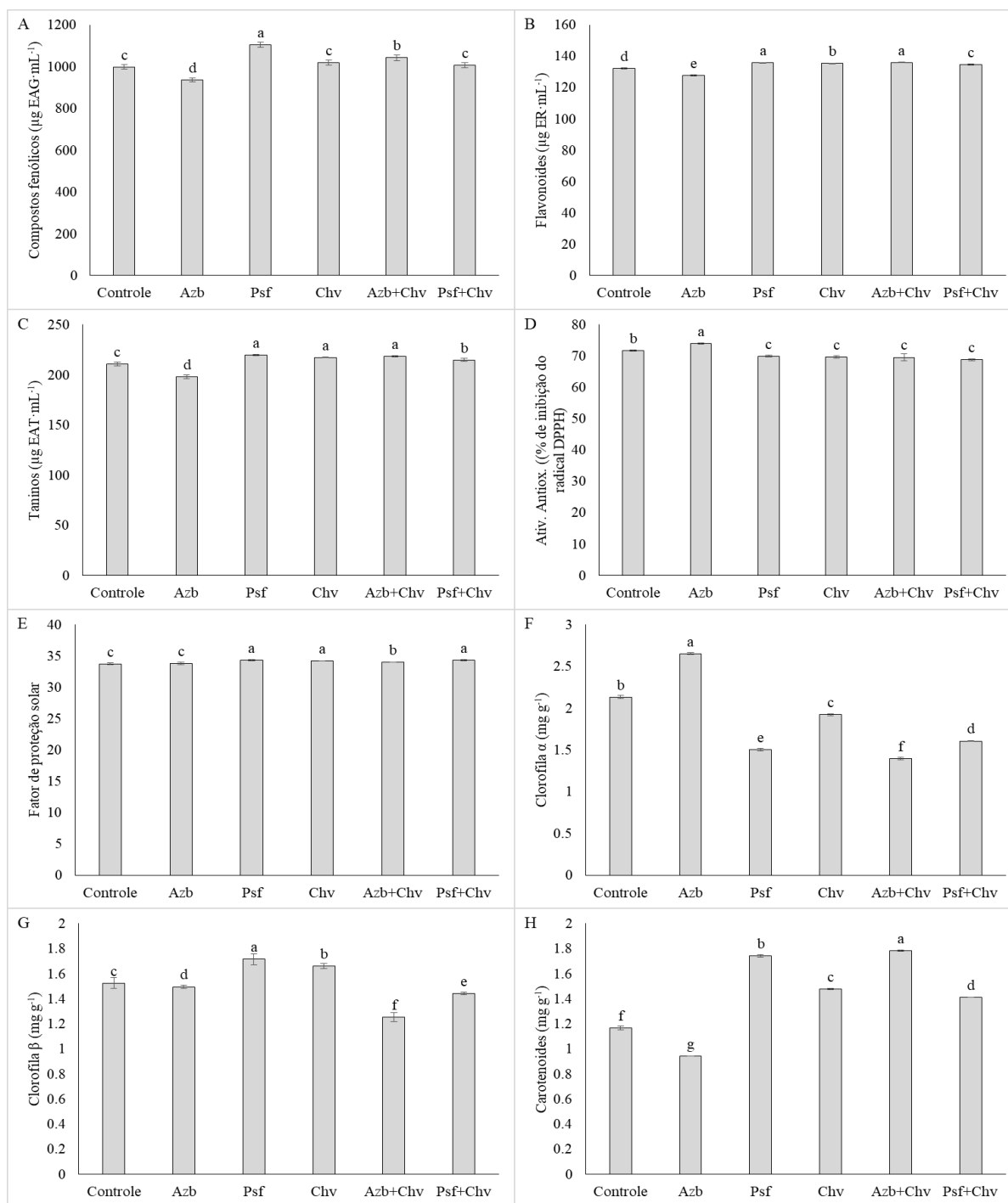


Figura 4. Teor de compostos fenólicos (A), flavonoides (B), taninos (C), atividade antioxidante (D), fator de proteção solar (E), clorofila a (F), clorofila B (G) e carotenoides (H) de inflorescências de lúpulo, de segundo ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  desvio padrão (n=3). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*.

Para a composição das folhas das plantas de lúpulo, foi constatado que a aplicação de Psf+Chv resultou em teores mais elevados de compostos fenólicos, flavonoides e taninos, sendo que, para este último, também foi verificada a superioridade de Chv (Figura 5A, B, C). Em complemento, o tratamento Psf, seguido de Azb+Chv e Psf+Chv, resultou em maior atividade antioxidante (Figura 5D), enquanto que o tratamento controle foi o que culminou em maior fator de proteção solar, diferindo-se dos demais (Figura 5E).

Para os teores de pigmentos foliares, foi observado que o tratamento Psf resultou nos menores valores para todos os pigmentos, sendo que os tratamentos controle, Azb+Chv e Psf+Chv foram aqueles que resultaram nos maiores teores de clorofila  $\alpha$ , clorofila  $\beta$  e carotenoides, respectivamente (Figura 5F, G, H).

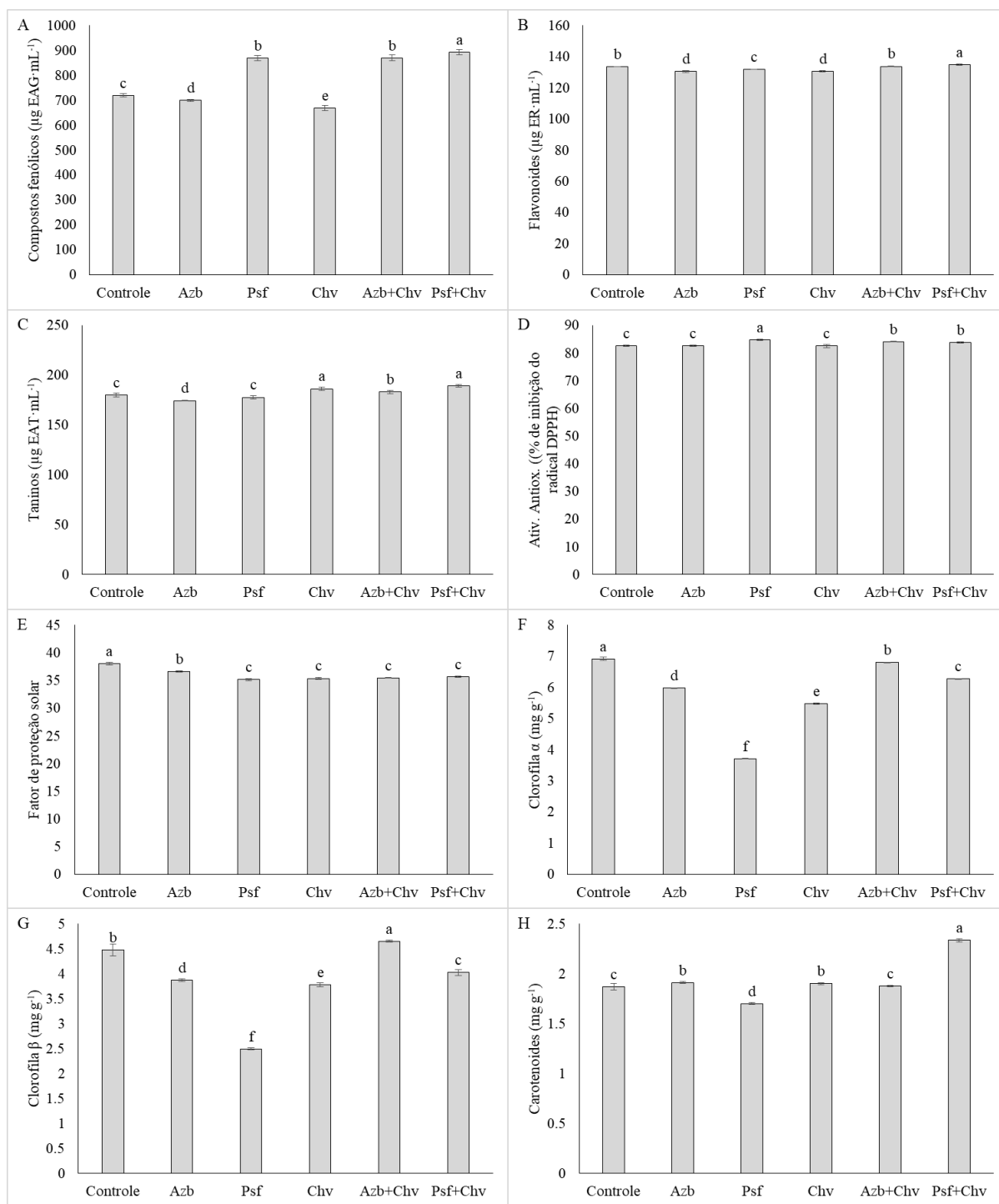


Figura 5. Teor de compostos fenólicos (A), flavonoides (B), taninos (C), atividade antioxidante (D), fator de proteção solar (E), clorofila a (F), clorofila B (G) e carotenoides (H) de folhas de lúpulo, de segundo ciclo, cultivadas em sistema hidropônico e submetidas à aplicação de diferentes microrganismos. Diferentes letras sobre as barras indicam diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade  $\pm$  desvio padrão ( $n=3$ ). Azb = *Azospirillum brasilense*; Psf = *Pseudomonas fluorescens*; Chv = *Chlorella vulgaris*.

#### 4. Discussão

Em sistemas sem solo de rúcula e alface, aplicado Azb e Psf via solução nutritiva aumentam massa e volume de raízes, estando associado a maior massa de parte aérea e vigor das plantas (Oliveira et al., 2023; da Silva Oliveira et al., 2023). Para o diâmetro do caule obteve-se maior espessura no tratamento com Psf e Azb+Chv no primeiro ciclo, o que indica um fortalecimento estrutural precoce. As *Pseudomonas* são reconhecidas pela síntese de sideróforos e auxinas que promovem a expansão celular e o espessamento de tecidos vasculares (Oteino et al., 2015; Vejan et al., 2016) E o consórcio Azb+Chv indica um efeito cumulativo e sinérgico, onde a microalga fornece precursores metabólicos que potencializam a síntese de fitormônios pela bactéria, resultando em vasos condutores mais robustos (Kim et al., 2014; Pagnani et al., 2020) Essa associação cria um ambiente favorável na rizosfera líquida, onde a microalga pode atuar como um condicionador biológico e fonte de carbono orgânico para a colonização bacteriana, otimizando a eficiência do uso da solução nutritiva (De-Bashan et al., 2026)

A massa seca de inflorescências do primeiro ciclo no tratamento com Azb e Chv equiparou-se ao controle, demonstrando que a bioestimulação potencializa a produtividade com um melhor aproveitamento dos nutrientes. *Azospirillum* atua na modulação do sistema radicular, aumentando a área de absorção, enquanto a *Chlorella* fornece aminoácidos prontamente assimiláveis (Cassán & Diaz-Zorita, 2016; Ronga et al., 2019). O Azb é amplamente reconhecido por sua capacidade de sintetizar reguladores de crescimento vegetal, especialmente o ácido indolacético, que atua na diferenciação, alongamento e divisão celular, aumentando o crescimento meristomático e no balanço hormonal da planta (Glick, 2012).

A maior massa seca de inflorescências registrada nos tratamentos controle, Azb e Chv no primeiro ciclo sugere que a produção reprodutiva do lúpulo não é exclusivamente dependente da inoculação microbiana. Entretanto, a resposta positiva associada a *A. brasilense* indica maior eficiência na alocação de assimilados para as inflorescências, possivelmente mediada por alterações hormonais (Cassán & Diaz-Zorita, 2016) No caso de *C. vulgaris*, podem atuar como bioestimulantes metabólicos, e que compostos bioativos produzidos por microalgas estimulam o metabolismo primário e secundário das plantas, reforçando que esses

efeitos são particularmente relevantes em sistemas sem solo (Ronga et al., 2019; Mutale-Joan et al., 2020; González-Pérez et al., 2022)

O aumento do teor de compostos fenólicos observado no tratamento Azb +Chv no primeiro ciclo sugere um efeito sinérgico entre bactéria e microalga pesquisas mostram que microalgas liberam metabólitos capazes de estimular o metabolismo secundário vegetal (Ronga et al., 2019). A literatura demonstra que esses compostos podem atuar como sinalizadores metabólicos que com a associação entre microalgas e microrganismos benéficos intensifica a biossíntese de fenóis em plantas cultivadas sob condições controladas (Chanda et al., 2020; González-Pérez et al., 2022). Esse aumento de fenólicos é uma evidência clara de que a planta está operando em um nível de alerta fisiológico benéfico (Timmusk et al., 2017).

Ao observar os teores elevados de flavonóides em determinados tratamentos, incluindo o controle, indicam que esse metabolismo é parcialmente constitutivo no lúpulo. No entanto, a presença de microrganismos pode modular a estabilidade desse metabolismo (Oteino et al., 2015). Visto que bioestimulantes microbianos evitam a supressão da síntese de flavonoides em ambientes intensivos sendo a manutenção desses compostos indicativa de um estado fisiológico equilibrado (Ronga et al., 2019).

Um dos pontos de destaque foi o aumento significativo no teor de taninos totais nos tratamentos inoculados em relação ao controle. Sendo os taninos metabólitos secundários, exercendo funções como defesa das plantas de ataques de herbívoros e patógenos (Barbehenn & Constabel, 2011). Além disso, taninos exibem propriedades antioxidantes significativas, contribuindo para a mitigação de danos causados por espécies reativas de oxigênio (ROS) durante estresses ambientais, como seca e radiação UV, integrando-se à resposta antioxidante das plantas (Gourlay et al., 2022).

O Fator de Proteção Solar (FPS) dos extratos de lúpulo apresentou um salto significativo com a aplicação de todos os MPCVs, com destaque para a Chv. A indução de compostos secundários que absorvem radiação UV é uma resposta clara à bioestimulação, conferindo maior proteção aos tecidos foliares e aos cones (Chiaiese et al., 2018; Ronga et al., 2019). Esse benefício é estratégico para o cultivo de lúpulo no Brasil, protegendo a cultura contra a escaldadura solar e a degradação de resinas sensíveis (Afonso et al., 2021).

Diferentemente dos fenóis e taninos, a atividade antioxidante (pelo método DPPH) foi superior no controle e inferior nos tratamentos inoculados. Esta redução sugere que os microrganismos alteraram os antioxidantes primários para a síntese de compostos secundários mais complexos e estruturais (PIEKARSKA-RADZIK & KLEWICKA, 2020; Sallam et al., 2021). Tratando-se de uma realocação de recursos internos da planta: ela troca a "reserva antioxidante livre" por "defesas químicas prontas" como defesa contra UV-B mostrando que fenilpropanoides (flavonoides, taninos) acumulam-se como resposta a UV, atuando como blindagem na epiderme foliar (Singh et al., 2023).

A inoculação de microrganismos e algas separadamente promovem um aumento significativo de clorofila  $\alpha$  e  $\beta$ , com a coinoculação potencializando ainda mais esses efeitos especialmente sob condições de estresse abióticos (Guo & Tong, 2014; Hajnal-Jafari et al., 2020; Omer et al., 2022) Sendo envolvido os mecanismos que incluem a produção de fitormônios como o AIA, aumentando a absorção de nutrientes mitigando o estresse oxidativo e estimulando a biossíntese de pigmentos fotossintéticos (Guo & Tong, 2014; Peng et al., 2020)

Ao analisar os teores de carotenoides presentes, obteve-se um maior aumento no tratamento inoculado com Azb, pigmento importante para a proteção contra estresse fotooxidativo em plantas e microrganismos, sendo a biossíntese de caratenoide em Azb é regulada por múltiplas cascatas de fatores sigma alternativos, que controlam genes-chave como o crtE, essencial para a produção desses pigmentos (Rai et al., 2016) Sendo a síntese de carotenoides também estando associada à tolerância a estresses ambientais, como altas temperaturas e agentes antibacterianos, reforçando o papel protetor desses pigmentos com a inoculação de Azb (Omer et al., 2022; Ikram et al., 2025)

Ao longo do tempo com a aplicação de MPCP a diferença em altura, diâmetro e biomassa de parte aérea e raiz tendem a se reduzir em comparação ao controle, especialmente quando há boa nutrição, sendo o mesmo obtido ao final do segundo ciclo, mas ao ser observar a época reprodutiva se obtém ganhos expressivos como número de flores, frutos e produtividade (Pérez-Rodriguez et al., 2020; Singh & Srivastava, 2022; Fulaneti et al., 2025)

Ao final do segundo ciclo o tratamento de maior destaque foi o Psf, apresentando maior conteúdo de compostos fenólicos assim como já observado em plantas aromáticas (Cappellari et al., 2013). Assim como ocorreu no primeiro ciclo

com maiores resultados para o tratamento de Azb+Chv comprovando o efeito sinérgico existente entre o consórcio estimulando a produção dos compostos na fase inicial do cultivo, porém, a inoculação da Psf favorece o acúmulo dos fenólicos em ciclo mais avançado (Cappellari et al., 2013; Wang et al., 2024).

Os MPCP tem potencial de aumento de flavonoides assim como já observado no primeiro ciclo, se manteve o aumento significativo do flavonoides (Wang et al., 2021) Mantendo-se a produção elevada de taninos em plantas com a inoculação dos microrganismos com exceção do Azb no segundo ciclo, conseqüentemente plantas as quais possuem um maior acúmulo de taninos possuem uma maior fator de proteção solar, visto que os taninos atuam como fotoprotetores contra raios ultravioletas (Falcão et al., 2022; Falcão et al., 2024)

Assim como observado no segundo ciclo o controle obteve o maior acúmulo de compostos antioxidante primários, visto que os microorganismo alteram os antioxidantes primários, sendo sintetizados compostos secundários mais completos, assim como o Azb não obteve maior acúmulo dos compostos anteriores sintetizando assim compostos antioxidantes em maior acúmulo, confirmando a hipótese do primeiro ciclo (Piekarska-Radzik & Klewicka, 2020; Sallam et al., 2021).

Os tratamentos com Azb e Psf influenciam de forma distinta os teores de pigmentos em plantas. Sendo o Azb favorece principalmente os teores de clorofila  $\alpha$ , enquanto Psf está associado ao aumento da CB e dos carotenoides. No entanto, a aplicação de Azb pode resultar em teores de carotenoides inferiores ao controle, ao contrário do que ocorre com Psf, que eleva esses pigmentos (Lima et al., 2020; Pérez-Rodríguez et al., 2020; Consentino et al., 2022; Da Silva Oliveira et al., 2023).

A aplicação combinada de Psf+Chv promoveu um maior aumento dos compostos fenólicos, flavonoides e taninos nas folhas do lúpulo quando comparado com os demais tratamentos, esse aumento condiz com estudos realizados o qual mostram que MPCP como a Psf que ativam o meio da indução de resistência sistêmicas (ISR) estimulando a biossíntese fortalecendo a defesa das plantas e o metabolismo secundário (Wang et al., 2024) Além disso, o lúpulo é reconhecido por seu alto conteúdo de flavonoides e compostos fenólicos, que conferem propriedades antioxidantes e antimicrobianas importantes para a planta e aplicações industriais (Arruda et al., 2021; Kiofentzoglou et al., 2025)

O tratamento com *Pseudomonas fluorescens*, seguido das combinações *Azospirillum brasilense* + *Chlorella vulgaris* e *Pseudomonas fluorescens* + *Chlorella*

*vulgaris*, resultou em maior atividade antioxidante nas folhas de lúpulo, o que está alinhado com o potencial antioxidante conhecido desses microrganismos e da microalga. Sendo a Chv possui compostos fenólicos e flavonoides exibindo forte capacidade de captura de radicais livres podendo ser potencializada pela interação de MPCP (Pradhan et al., 2021; Pramesti et al., 2025)

Os resultados desta dissertação ou pesquisa demonstram que a aplicação isolada e combinada de *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e da microalga *Chlorella vulgaris* no cultivo hidropônico do lúpulo (*Humulus lupulus* L.) promoveu efeitos sobre o desempenho fisiológico, reprodutivo e metabólico das plantas, embora os impactos sobre o crescimento vegetativo estrutural tenham sido limitados em condições de elevada disponibilidade nutricional. De modo geral, os microrganismos, favoreceram a produção e a qualidade das inflorescências, bem como a modulação do metabolismo secundário, com aumento nos teores de compostos fenólicos, flavonoides e taninos, refletindo uma maior eficiência fisiológica e adaptativa das plantas em sistema hidropônico.

Conclui-se, portanto, que o uso de microrganismos promotores de crescimento vegetal, constitui uma estratégia promissora para a intensificação sustentável da lupicultura em sistemas sem solo, contribuindo para a melhoria da qualidade bioquímica das plantas e para a redução da dependência de insumos químicos. Os resultados obtidos fornecem subsídios científicos para o desenvolvimento de protocolos de manejo biológico do lúpulo em condições tropicais, além de abrir perspectivas para pesquisas futuras envolvendo diferentes genótipos, doses e estratégias de aplicação dos microrganismos.

## Referências

AFONSO, S., ARROBAS, M., & RODRIGUES, M. Response of Hops to Algae-Based and Nutrient-Rich Foliar Sprays. *Agriculture*, 2021. <https://doi.org/10.3390/agriculture11080798>.

ARRUDA, T., PINHEIRO, P., SILVA, P., & BERNARDES, P. A new perspective of a well-recognized raw material: Phenolic content, antioxidant and antimicrobial

activities and  $\alpha$ - and  $\beta$ -acids profile of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. *Lwt - Food Science and Technology*, 141, 110905, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110905>.

BARBEHENN, R., & CONSTABEL, P. Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72, 13, 1551-65, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.040>.

BHERING, L. L. Rbio: a tool for biometric and statistical analysis using the R platform. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 17, p. 187-190, 2017. <https://doi.org/10.1590/1984-70332017v17n2s29>.

BULGARI, R.; BALDI, A.; FERRANTE, A.; LENZI, A. Yield and quality of basil, Swiss chard, and rocket microgreens grown in a hydroponic system. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, v. 45, p. 119-129, 2016. <https://doi.org/10.1080/01140671.2016.1259642>.

CAPPELLARI, L., SANTORO, M., NIEVAS, F., GIORDANO, W., & BANCHIO, E. Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied Soil Ecology*, 70, 16-22, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.04.001>.

CASSÁN, F., & DIAZ-ZORITA, M. Azospirillum sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. *Soil Biology & Biochemistry*, 103, 117-130, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.08.020>.

CHANDA, M., REDOUANE, B., NAJIB, E., YASSINE, K., LYAMLOULI, K., LAILA, S., ZEROUAL, Y., & HICHAM, E. Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L.. *Scientific Reports*, 10, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59840-4>.

CHIAIESE, P., CORRADO, G., COLLA, G., KYRIACOU, M., & ROUPHAEL, Y. Renewable Sources of Plant Biostimulation: Microalgae as a Sustainable Means to

Improve Crop Performance. *Frontiers in Plant Science*, 9, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01782>.

CONSENTINO, B., APRILE, S., ROUPHAEL, Y., NTATSI, G., DE PASQUALE, C., IAPICHINO, G., ALIBRANDI, P., & SABATINO, L. Application of PGPB Combined with Variable N Doses Affects Growth, Yield-Related Traits, N-Fertilizer Efficiency and Nutritional Status of Lettuce Grown under Controlled Condition. *Agronomy*, 2022. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020236>.

Da SILVA OLIVEIRA, C., JALAL, A., VITÓRIA, L., GIOLO, V., OLIVEIRA, T., AGUILAR, J., DE CAMARGOS, L., BRAMBILLA, M., FERNANDES, G., VARGAS, P., ZOZ, T., & FILHO, M. Inoculation with *Azospirillum brasilense* Strains AbV5 and AbV6 Increases Nutrition, Chlorophyll, and Leaf Yield of Hydroponic Lettuce. *Plants*, 12, 2023. <https://doi.org/10.3390/plants12173107>.

de-BASHAN, L., PALACIOS, O., HERNANDEZ, J. P., & GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, L. M. Interaction of *Azospirillum* with Microalgae. In *The Definitive Handbook of Azospirillum: 100 Years of Research and Application Around the World* (pp. 379-402). Cham: Springer Nature Switzerland, 2026. [https://doi.org/10.1007/978-3-032-09222-9\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-032-09222-9_15)

ETESAMI, H; GLICK, B. Bacterial indole-3-acetic acid: A key regulator for plant growth, plant-microbe interactions, and agricultural adaptive resilience. *Microbiological Research*, v. 281, p. 127602, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127602>

FALCÃO, E., BARRETO, C., HIJRI, M., FILHO, C., & Da SILVA, F. No synergy between P and AMF inoculation to improve Sun Protection Factor production in *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan leaves. *Rhizosphere*, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2024.100916>.

FALCÃO, E., FILHO, C., & Da SILVA, F. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance the Sun Protection Factor (SPF) biosynthesis in *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan leaves. *Rhizosphere*, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100595>.

FERREIRA, D. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019. <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.

FULANETI, F., FERREIRA, M., VEY, R., VIEIRA, F., CONCEIÇÃO, G., SPANEVELLO, J., VALDOVINO, V., MARIO, R., & MARTIN, T.. Growth-promoting bacteria in coinoculation in soybean.. **Brazilian journal of biology = Revista brasileira de biologia**, 85, e295709, 2025 . <https://doi.org/10.1590/1519-6984.295709>.

GANUSOVA, E., BANERJEE, I., SEATS, T., & ALEXANDRE, G. Indole-3-acetic acid (IAA) protects *Azospirillum brasilense* from indole-induced stress. **Applied and Environmental Microbiology**, 91(4), e02384-24, 2025.

GLICK, B. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, 2012. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>.

GONZÁLEZ-PÉREZ, B., RIVAS-CASTILLO, A., VALDEZ-CALDERÓN, A., & GAYOSSO-MORALES, M. Microalgae as biostimulants: a new approach in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 38, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03192-2>.

GOURLAY, G., HAWKINS, B., ALBERT, A., SCHNITZLER, J., & CONSTABEL, P. Condensed tannins as antioxidants that protect poplar against oxidative stress from drought and UV-B.. **Plant, cell & environment**, 2021. <https://doi.org/10.1111/pce.14242>.

GUO, Z., & TONG, Y. The interactions between *Chlorella vulgaris* and algal symbiotic bacteria under photoautotrophic and photoheterotrophic conditions. **Journal of Applied Phycology**, 26, 1483-1492, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0186-1>.

HAJNAL-JAFARI, T., SEMAN, V., STAMENOV, D., & ĐURIĆ, S.. Effect of *Chlorella vulgaris* on Growth and Photosynthetic Pigment Content in Swiss Chard (*Beta vulgaris* L. subsp. *cicla*). **Polish Journal of Microbiology**, 69, 235 - 238, 2020. <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-023>.

IKRAM, K., MANSHA, M., MAHMOOD, K., HAMEED, A., OMAR, M., HASSAN, R., AMRAO, L., ZAHEER, M., BUTTAR, N., NIAZ, Y., AHMED, N., IQBAL, R., LU, S., RIZWAN, M., & ALWUTAYD, K. Integrative effects of different mulching practices and *Azospirillum brasilense* on wheat growth, physiology, and soil health under drought stress. **Scientific Reports**, 15, 2025. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-19031-5>.

JASTROMBEK, J., FAGUERAZZI, M., DE CÁSSIO PIEREZAN, H., RUFATO, L., SATO, A., DA SILVA RICCE, W., MARQUES, V., LELES, N., & ROBERTO, S. Hop: An Emerging Crop in Subtropical Areas in Brazil. **Horticulturae**, 2022. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050393>.

KIOFENTZOGLOU, D., ANDRONIDOU, E., KONTOU, P., BAGOS, P., & BRALIOU, G. Antimicrobial Activity of Chemical Hop (*Humulus lupulus*) Compounds: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Applied Sciences**, 2025. <https://doi.org/10.3390/app15147806>.

LEE, S., & LEE, J. Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems: Types and characteristics of hydroponic food production methods. **Scientia Horticulturae**, 195, 206-215, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.011>.

LICHTENTHALER, H.; WELLBURNT, A. R. Determinations of total and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v. 11, n. 5, p. 591-592, 1983. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.

LICHTENTHALER, H. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).

LIMA, G., HUNGRIA, M., NOGUEIRA, M., FILHO, M., MOREIRA, A., HEINRICH, R., & FILHO, C. . Yield, yield components and nutrients uptake in Zuri Guinea grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. *International Journal for Innovation Education and Research*, 2020. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol8.iss4.2268>.

MANSUR, S., BREDER, R., MANSUR, A., & AZULAY, D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. bras. dermatol*, 121-4,1986.

MARQUES, D., MAGALHÃES, P., MARRIEL, I., JÚNIOR, C., Da SILVA, A., Da SILVA, N., & De SOUZA, T. Azospirillum brasilense Reduces the Effects of Water Stress and Increases Maize Yield in Irrigated Areas with High Soil Nitrogen Doses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-12, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10889-7>.

OLIVEIRA, T., DA SILVA OLIVEIRA, C., JALAL, A., GATO, I., RAUF, K., DE ALMEIDA MOREIRA, V., ... & TEIXEIRA FILHO, M. Inoculation reduces nitrate accumulation and increases growth and nutrient accumulation in hydroponic arugula. *Scientia Horticulturae*, 320, 112213, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112213>

OMER, A., OSMAN, M., & BADAWEY, A. Inoculation with Azospirillum brasilense and/or Pseudomonas geniculata reinforces flax (Linum usitatissimum) growth by improving physiological activities under saline soil conditions. *Botanical Studies*, 63, 2022. <https://doi.org/10.1186/s40529-022-00345-w>.

OTEINO, N., LALLY, R., KIWANUKA, S., LLOYD, A., RYAN, D., GERMAINE, K., & DOWLING, D. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic Pseudomonas isolates. *Frontiers in Microbiology*, 6, 2015. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00745>.

PENG, H., DE-BASHAN, L., & HIGGINS, B.. Azospirillum brasilense reduces oxidative stress in the green microalgae Chlorella sorokiniana under different

stressors. *Journal of biotechnology*, 2020.  
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.10.029>.

PÉREZ-RODRIGUEZ, M., PONTIN, M., LIPINSKI, V., BOTTINI, R., PICCOLI, P., & COHEN, A. Pseudomonas fluorescens and Azospirillum brasilense Increase Yield and Fruit Quality of Tomato Under Field Conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 1614 - 1624, 2020. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00233-x>.

PRADHAN, B., PATRA, S., DASH, S., NAYAK, R., BEHERA, C., & JENA, M. Evaluation of the anti-bacterial activity of methanolic extract of Chlorella vulgaris Beyerinck [Beijerinck] with special reference to antioxidant modulation. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7, 2021.  
<https://doi.org/10.1186/s43094-020-00172-5>.

PRAMESTI, A., AGATHA, A., & PRABANINGTYAS, S. The Influence of IAA-Producing Bacteria on the Antioxidant Activity of Chlorella vulgaris Using the DPPH Method and In Silico Studies, 2025. *BIO Web of Conferences*.  
<https://doi.org/10.1051/bioconf/202518301015>.

RAI, A., DUBEY, A., KUMAR, S., DUTTA, D., MISHRA, M., SINGH, B., & TRIPATHI, A. Carotenoid Biosynthetic Pathways Are Regulated by a Network of Multiple Cascades of Alternative Sigma Factors in Azospirillum brasilense Sp7. *Journal of Bacteriology*, 198, 2955 - 2964, 2016. <https://doi.org/10.1128/jb.00460-16>.

RENNIE, T.; VIGNEAULT, C.; RAGHAVAN, G.; DEELL, J. Efeito da taxa de redução de pressão na qualidade da alface resfriada a vácuo durante o armazenamento. *Canadian Biosystems Engineering*, v. 43, p. 3-39, 2001.  
<https://doi.org/10.13031/2013.2292>

RONGA, D., BIAZZI, E., PARATI, K., CARMINATI, D., CARMINATI, E., & TAVA, A. Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. *Agronomy*, 2019.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy9040192>.

SALLAM, I., ABDELWARETH, A., ATTIA, H., AZIZ, R., HOMSI, M., VON BERGEN, M., & FARAG, M. Effect of Gut Microbiota Biotransformation on Dietary Tannins and Human Health Implications. *Microorganisms*, 9, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050965>.

SAYRE, M., AGIN, P., LEVEE, J., & MARLOWE, E. A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas. *Photochemistry and photobiology*, 29(3), 559-566, 1979. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1979.tb07090.x>

SHAREEF, U., REHMAN, A., & AHMAD, R. A Systematic Literature Review on Parameters Optimization for Smart Hydroponic Systems. *AI*, 2024. <https://doi.org/10.3390/ai5030073>.

SINGH, P., SINGH, A., & CHOUDHARY, K. Revisiting the role of phenylpropanoids in plant defense against UV-B stress. *Plant Stress*, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100143>.

SINGH, A., & SRIVASTAVA, R. Impact of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Restoring Soil and Crop Attributes. *Indian Journal Of Agricultural Research*, 2022. <https://doi.org/10.18805/ijare.a-5962>.

TIMMUSK, S., BEHERS, L., MUTHONI, J., MURAYA, A., & ARONSSON, A. Perspectives and Challenges of Microbial Application for Crop Improvement. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00049>.

TOSCANO, S.; CAVALLARO, V.; FERRANTE, A.; ROMANO, D.; PATANÉ, C. Efeitos de diferentes espectros luminosos na produção final de biomassa e qualidade nutricional de dois microgreens. *Plantas*, v. 10, n. 1584, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10081584>.

VEJAN, P., ABDULLAH, R., KHADIRAN, T., ISMAIL, S., & BOYCE, A. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. *Molecules*, 21, 2016. <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>.

WANG, K., YANG, Z., LUO, S., & QUAN, W. Endophytic *Pseudomonas fluorescens* promotes changes in the phenotype and secondary metabolite profile of *Houttuynia cordata* Thunb.. **Scientific Reports**, 14, 2024. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52070-y>.

WANG, Z., XU, Z., CHEN, Z., KOWALCHUK, G., FU, X., & KURAMAE, E. Inoculantes microbianos modulam características de crescimento, aquisição de nutrientes e acúmulo de compostos bioativos de *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja em condições de campo degradadas. **Forest Ecology and Management**, 482, 118897, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118897>.