

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRO-REITORIA DE GRADUAÇÃO
ESCOLA POLITÉCNICA E DE ARTES
CURSO DE AGRONOMIA

USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES COMO
BIOFERTILIZANTE NA CULTURA DA ALFACE (*Lactuca sativa* L.)

MAURILIO GONÇALVES NETO

Goiânia
(2025)

MAURILIO GONÇALVES NETO

USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES COMO
BIOFERTILIZANTE NA CULTURA DA ALFACE (*Lactuca sativa* L.)

Artigo apresentado como requisito parcial
para composição de média final na
disciplina de Trabalho de Conclusão de
Curso, do curso de graduação em
Agronomia, da Pontifícia Universidade
Católica de Goiás, PUC-Goiás.

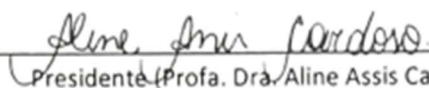
Orientadora: Prof. Dra. Aline Assis Cardoso

Goiânia
(2025)

MAURILIO GONÇALVES NETO

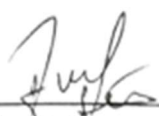
USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES COMO BIOFERTILIZANTE NA
CULTURA DA ALFACE (*Lactuca sativa* L.)

BANCA EXAMINADORA


Presidente (Profa. Dra. Aline Assis Cardoso)
Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Documento assinado digitalmente
 ROBERTA PAULA DE JESUS
Data: 30/06/2025 18:04:02-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Membro I (Profa. Dra. Roberta Paula de Jesus)
Pontifícia Universidade Católica de Goiás


Membro II (Prof. Dr. Roberto Toledo de Magalhães)
Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Aprovada em 13/06/25.

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, fonte inesgotável de força, luz e sabedoria, que me sustentou nos momentos de dúvida e renovou minha coragem diante de cada desafio.

À Nossa Senhora da Conceição Aparecida, que sempre me cobriu com seu manto sagrado, guiando meus passos com amor e proteção.

À minha mãe Marcia Cândida, mulher forte e inspiradora, que com coragem, exemplo e amor incondicional me ensinou a ser resiliente e determinado e nunca mediu esforços para me apoiar e incentivar. Sua confiança e carinho foram fundamentais nesta trajetória.

À minha saudosa avó Odete Gerolimeto e ao meu tio José Candido, que foram e sempre serão amores eternos da minha vida. Sinto sua ausência todos os dias, mas sei que, onde quer que estejam, estão orgulhosos da minha caminhada.

Dedico também à minha sogra Eliamar Amâncio, uma mulher admirável, que sempre acreditou em mim.

Ao meu grande amor, Amanda Oliveira, minha companheira de vida, que esteve ao meu lado em todos os momentos, nos dias difíceis e nas conquistas. Seu apoio constante, sua presença firme e o amor com que me envolve foram essenciais para que eu não desistisse e chegasse até aqui.

E, com carinho, dedico este trabalho a toda a minha família, que sempre torceu por mim, oferecendo amor, acolhimento e incentivo para que eu alcançasse esse sonho.

Amo todos vocês.

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus, por todas as bênçãos derramadas em minha vida, por nunca me abandonar e por me dar força, fé e esperança mesmo nos momentos mais difíceis. Ao Senhor entrego cada conquista, inclusive está.

A Nossa Senhora da Conceição Aparecida, minha intercessora fiel, agradeço por sua constante proteção e por me conduzir com seu amor materno em todos os caminhos que percorri até aqui.

Agradeço, com imenso carinho, a toda a minha família, que sempre me orientou, me apoiou e acreditou em mim, nos melhores e também nos momentos mais difíceis. O amor e o suporte de vocês foram fundamentais nesta caminhada.

A minha namorada, Amanda Oliveira, por todo amor, paciência e companheirismo ao longo desses sete anos de relacionamento. Obrigado por estar ao meu lado durante todos os cinco anos desta graduação, sendo meu apoio incondicional em cada etapa. Sua presença tornou essa jornada mais leve e significativa.

À minha orientadora, Prof^a Dra. Aline Assis Cardoso, minha sincera gratidão por toda paciência, dedicação e por compartilhar seus conhecimentos de forma generosa durante o desenvolvimento deste trabalho. Seus ensinamentos foram essenciais para minha formação.

Ao meu coorientador Prof^o Dr. Fabio José Gonçalves por todo apoio e conhecimento compartilhado.

Aos demais professores da graduação em Agronomia, meu profundo agradecimento por todo conhecimento transmitido ao longo desses anos. Levo comigo não apenas o aprendizado técnico, mas também os valores e experiências que fizeram parte de uma das fases mais desafiadoras e marcantes da minha vida. Sou grato por cada aula, conselho e incentivo que me ajudaram a chegar até aqui.

Agradeço também ao meu querido amigo Felipe Ribeiro Fayad, por toda a ajuda, amizade e parceria ao longo dessa jornada. Sua presença constante, apoio nos momentos difíceis e disposição em ajudar sempre que precisei fizeram toda a diferença. Amigo que levarei para a vida toda, e sou imensamente grata por tê-lo comigo nesta caminhada.

Levarei todos em meu coração.

Sumário

Sumário

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJETIVO	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52

USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES COMO
BIOFERTILIZANTE NA CULTURA DA ALFACE (*Lactuca sativa* L.)
USE OF EFFECTIVE MICROORGANISMS AS BIOFERTILIZERS
IN LETTUCE CULTIVATION (*Lactuca sativa* L.)

Maurilio Gonçalves Neto

I Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Escola Politécnica, Goiânia GO, Brasil

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o uso de microrganismos eficientes (EMs) e outros biofertilizantes microbianos como alternativa ao uso de fertilizantes químicos na cultura da alface crespa (*Lactuca sativa* L.). Foram testados quatro tratamentos: controle (água), aplicação de *Trichoderma asperellum*, *Serratia marcescens* e EMs produzidos artesanalmente. As soluções foram analisadas microbiologicamente, e as plantas avaliadas quanto à altura, número de folhas, comprimento, largura e peso fresco em três coletas. Os resultados laboratoriais indicaram alta atividade microbiana nos EMs antes da fermentação, mas redução significativa após o processo. No campo, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos nas variáveis agrônômicas avaliadas, inclusive no peso fresco das plantas.

Palavras-chave: alface; biofertilizante; microrganismos eficientes; agricultura sustentável; EMs.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the use of effective microorganisms (EMs) and other microbial biofertilizers as alternatives to chemical fertilizers in the cultivation of curly lettuce (*Lactuca sativa* L.). Four treatments were tested: control (water), application of *Trichoderma asperellum*, *Serratia marcescens*, and artisanally produced EMs. The solutions were analyzed microbiologically, and the plants were evaluated for height, number of leaves, leaf length and width, and fresh weight across three sampling dates. Laboratory results indicated high microbial activity in the EMs before fermentation, but a significant reduction afterward. In the field, no statistically significant differences were observed among treatments for any of the agronomic variables evaluated, including plant fresh weight.

Keywords: Lettuce; biofertilizer; effective microorganisms; sustainable agriculture; EMs.

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos de alta qualidade, aliada à necessidade urgente de minimizar os impactos ambientais provocados pela agricultura convencional, tem impulsionado o desenvolvimento e a adoção de práticas mais sustentáveis no meio agrícola. Nesse cenário, destaca-se o uso de biofertilizantes à base de microrganismos benéficos, que se apresentam como alternativas viáveis aos fertilizantes químicos tradicionais, capazes de melhorar a saúde do solo, reduzir custos de produção e promover o desenvolvimento vegetal de forma equilibrada (SINGH et al., 2016; PEREIRA et al., 2020).

A alface (*Lactuca sativa* L.), uma das hortaliças mais cultivadas e consumidas no Brasil e no mundo, é uma cultura de ciclo curto, altamente exigente em nutrientes, especialmente nitrogênio. Por ser composta essencialmente por folhas, apresenta crescimento vegetativo rápido e requer constante disponibilidade de água e nutrientes. O cultivo intensivo da alface tem como característica o uso elevado de fertilizantes sintéticos e defensivos agrícolas, os quais, embora promovam resposta imediata, comprometem a qualidade do solo a longo prazo, favorecem a lixiviação de nutrientes e contribuem para a contaminação de corpos hídricos e alimentos (FERREIRA et al., 2020; LIMA et al., 2019).

Neste contexto, os biofertilizantes microbianos representam uma tecnologia promissora. Dentre eles, os microrganismos eficientes (EMs) formam consórcios simbióticos naturais capazes de decompor matéria orgânica, disponibilizar nutrientes, inibir patógenos e melhorar as propriedades físico-químicas do solo. Desenvolvidos inicialmente por Teruo Higa na década de 1980, os EMs vêm sendo amplamente utilizados na agricultura orgânica, destacando-se pela simplicidade de produção, baixo custo e efeitos cumulativos no solo (HIGA; PARR, 1994; HIGA, 2000).

Além dos EMs artesanais, outros bioinsumos vêm ganhando espaço no manejo biológico de culturas hortícolas. O fungo *Trichoderma asperellum* é amplamente reconhecido por sua ação antagônica contra fitopatógenos, sua capacidade de promover o crescimento radicular e a absorção de nutrientes, além de estimular a resistência sistêmica nas plantas (HARMAN et al., 2010;

MELO et al., 2022). Já a bactéria *Serratia marcescens*, atua na fixação biológica de nitrogênio, produção de hormônios vegetais, supressão de doenças e indução de maior biomassa foliar, sendo aplicada com sucesso em diversas culturas (RIBEIRO et al., 2020).

O uso desses microrganismos como biofertilizantes se alinha ao conceito de agricultura regenerativa, promovendo o equilíbrio ecológico dos sistemas de produção, a redução do uso de insumos sintéticos e a produção de alimentos mais saudáveis. Em um contexto em que os consumidores estão cada vez mais conscientes da origem e da qualidade dos alimentos, práticas baseadas na sustentabilidade e no manejo biológico se tornam não apenas viáveis, mas estrategicamente vantajosas para os produtores (SILVA; COSTA, 2020).

Portanto, estudar os efeitos da aplicação de diferentes biofertilizantes microbianos na cultura da alface é essencial para ampliar o conhecimento técnico sobre essas práticas, bem como para validar, em condições práticas, sua eficácia no desenvolvimento vegetal, na melhoria do solo e na sustentabilidade dos sistemas de produção.

2. OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo geral investigar a eficácia de diferentes biofertilizantes microbianos no desenvolvimento da alface crespa (*Lactuca sativa* L.). Foram avaliados os efeitos da aplicação de microrganismos eficientes (EMs) produzidos artesanalmente, do fungo *Trichoderma asperellum* e da bactéria *Serratia marcescens* (produto Verus), em comparação ao tratamento controle com água.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A cultura da alface (*Lactuca sativa* L.)

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças folhosas mais cultivadas e consumidas no mundo, sendo considerada uma das principais bases alimentares em dietas voltadas para a saúde e o bem-estar. Pertencente à família Asteraceae, é uma planta herbácea, de ciclo anual, que se desenvolve bem em climas amenos, e apresenta ampla variabilidade genética quanto ao tipo

de folhas, coloração, formato e porte (RUBATZKY; YAMAGUCHI, 1997; GOMES et al., 2018).

Sua origem é atribuída à região do Mediterrâneo e partes da Ásia, com registros históricos do cultivo datando de 500 a.C. Civilizações antigas como os egípcios, gregos e romanos já utilizavam a alface tanto na alimentação quanto em rituais religiosos e medicinais. Na Roma antiga, por exemplo, era tradicionalmente consumida no início das refeições com o objetivo de “purificar o organismo” (THOMPSON; RYDER, 1961).

Atualmente, a alface é cultivada em todos os continentes, sendo adaptada a sistemas produtivos diversos, desde hortas domésticas até grandes propriedades tecnificadas. O Brasil se destaca como um dos principais produtores, com destaque para os estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás, que apresentam clima e solo favoráveis à produção em escala comercial (FERREIRA et al., 2020).

Do ponto de vista nutricional, a alface apresenta baixo teor calórico, alta concentração de água (cerca de 95%), além de ser rica em fibras, vitaminas A, C e K, minerais como ferro, fósforo, magnésio e cálcio, além de compostos bioativos, como as antocianinas, principalmente em cultivares roxas. Esses compostos antioxidantes contribuem para a prevenção de doenças cardiovasculares, inflamatórias e até alguns tipos de câncer, tornando a alface um alimento funcional importante (LIMA et al., 2019; GOMES et al., 2018).

Além de sua importância nutricional, destaca-se também seu valor agrônomo. Trata-se de uma cultura de ciclo curto, variando entre 30 a 90 dias, o que permite múltiplos cultivos ao longo do ano. É considerada exigente em água e nutrientes, com destaque para o nitrogênio, que influencia diretamente na produção de biomassa e na coloração das folhas. A deficiência de nutrientes como fósforo e potássio pode impactar negativamente a qualidade comercial, promovendo sintomas como clorose, necrose marginal e redução do desenvolvimento (FERREIRA; GOMES; SILVA, 2020).

A alface prefere solos leves, bem drenados, ricos em matéria orgânica, com pH entre 6,0 e 7,0. Por ser uma hortaliça composta majoritariamente por

folhas, é muito sensível a variações hídricas e salinidade do solo, o que exige manejo criterioso de irrigação e fertilidade (LIMA et al., 2019).

Entretanto, a busca por altos rendimentos na produção de alface tem resultado em práticas de manejo intensivo, com uso recorrente de adubos químicos e pesticidas. Essa abordagem, embora eficiente no curto prazo, tem implicações ambientais graves, como a lixiviação de nitratos, contaminação de águas subterrâneas, desequilíbrios biológicos no solo e presença de resíduos tóxicos nos alimentos (PEREIRA et al., 2020; SILVA; COSTA, 2020).

Cresce a adoção de tecnologias alternativas mais sustentáveis, como a adubação orgânica, o uso de compostos orgânicos e, especialmente, a aplicação de biofertilizantes contendo microrganismos benéficos. Essas práticas buscam não apenas reduzir o impacto ambiental, mas também regenerar o solo, melhorar a eficiência no uso de recursos naturais e oferecer ao mercado produtos mais saudáveis e isentos de contaminantes químicos (OLIVEIRA et al., 2021; MELO et al., 2022).

O cultivo da alface, por sua natureza intensiva e alto valor de mercado, configura-se como uma cultura estratégica para testar e validar novas tecnologias sustentáveis, como os microrganismos eficientes (EMs), *Trichoderma asperellum* e *Serratia marcescens*, que têm demonstrado resultados promissores na promoção do crescimento vegetal, melhoria da qualidade do solo e aumento da resistência das plantas a estresses abióticos e doenças (HARMAN et al., 2010; RIBEIRO et al., 2020).

Estudar a alface sob a ótica de sistemas agrícolas mais sustentáveis permite não apenas preservar os recursos naturais, mas também agregar valor à cadeia produtiva e responder à crescente demanda dos consumidores por alimentos saudáveis, rastreáveis e ambientalmente responsáveis.

3.2 Microrganismos eficientes (EMs)

Os *Microrganismos Eficientes (EMs)* foram desenvolvidos pelo cientista japonês Dr. Teruo Higa na década de 1980. Sua pesquisa começou com a observação de que certos grupos de microrganismos têm efeitos benéficos na melhoria da qualidade do solo e no crescimento das plantas, mesmo em

condições adversas. (HIGA; PARR, 1994) acreditava que esses microrganismos poderiam ser usados para melhorar a sustentabilidade agrícola e reduzir a dependência de produtos químicos sintéticos.

(HIGA, 2000) identificou que uma combinação específica de microrganismos, incluindo bactérias ácido-láticas, leveduras e fungos fotossintetizantes, poderia trabalhar em sinergia para promover a decomposição da matéria orgânica, aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas e suprimir patógenos. Ele chamou essa mistura de "*Effective Microorganisms*" (EMs), e sua pesquisa foi fundamental para popularizar o uso desses microrganismos em práticas agrícolas orgânicas e sustentáveis ao redor do mundo.

Com o avanço da microbiologia agrícola, outras espécies microbianas com funções semelhantes aos EMs vêm sendo empregadas como biofertilizantes comerciais. Entre elas, destaca-se o fungo *Trichoderma asperellum*, utilizado por sua capacidade de atuar como agente de biocontrole e promotor de crescimento vegetal. Estudos mostram que esse fungo coloniza rapidamente a rizosfera, competindo com patógenos, estimulando o desenvolvimento radicular e promovendo maior absorção de nutrientes (MELO et al., 2022). Além disso, induz resistência sistêmica em plantas, melhorando a tolerância a estresses bióticos e abióticos (HARMAN et al., 2010).

Outro exemplo é a bactéria *Serratia marcescens*, presente no biofertilizante comercial Verus. Essa espécie é reconhecida por seu potencial na fixação biológica de nitrogênio, produção de fitohormônios como auxinas, e atuação como agente antagônico contra fitopatógenos. A utilização de *S. marcescens* na agricultura tem demonstrado resultados promissores, como aumento da biomassa, indução de resistência em plantas e melhorias na estrutura microbiana do solo (RIBEIRO et al., 2020; CASSÁN et al., 2009).

O conceito de microrganismos eficientes vem se expandindo, englobando uma diversidade de agentes biológicos com potencial biofertilizante e efeitos sinérgicos sobre a planta, o solo e o ambiente. A adoção desses microrganismos reflete o avanço de uma agricultura mais sustentável e tecnificada, capaz de integrar soluções naturais e biotecnológicas ao manejo das culturas.

3.3 Mecanismos de Ação e Aplicações Agronômicas dos Microrganismos Eficientes

Os microrganismos eficientes (EMs), bem como outros microrganismos promotores de crescimento vegetal, como *Trichoderma asperellum* e *Serratia marcescens*, têm despertado interesse crescente na agricultura sustentável devido ao seu papel multifuncional no solo e nas plantas. A aplicação desses agentes no solo ou nas plantas resulta em uma série de benefícios agronômicos e ecológicos, com impactos positivos na produtividade, na saúde do solo e na resistência das culturas a estresses abióticos e bióticos (HIGA; PARR, 1994; MELO et al., 2022).

No solo, esses microrganismos promovem a decomposição da matéria orgânica e a mineralização de nutrientes, aumentando a disponibilidade de elementos essenciais como nitrogênio, fósforo e potássio. Além disso, favorecem a estruturação física do solo, melhorando a retenção de água e a aeração da rizosfera (LIMA et al., 2019). A atividade enzimática induzida por esses organismos também estimula processos de solubilização de fosfatos, fixação biológica de nitrogênio e produção de fitohormônios, como auxinas, giberelinas e citocininas, que atuam diretamente no crescimento vegetal (CASSÁN et al., 2009).

Trichoderma asperellum, por exemplo, é amplamente utilizado na agricultura por sua capacidade de colonizar a rizosfera e atuar tanto como promotor de crescimento quanto como agente de controle biológico. Ele produz enzimas como quitinases e glucanases, que degradam a parede celular de fungos fitopatogênicos, além de induzir resistência sistêmica em diversas culturas (HARMAN et al., 2010; MELO et al., 2022). Já a bactéria *Serratia marcescens*, presente em produtos como o Verus, contribui para o aumento da biomassa vegetal, a fixação de nitrogênio, a produção de sideróforos e a supressão de patógenos por antibiose e competição por espaço e nutrientes (RIBEIRO et al., 2020).

Esses microrganismos também apresentam potencial de regeneração ambiental, especialmente em solos degradados, sendo utilizados com sucesso

em práticas de compostagem, manejo orgânico e recuperação de áreas impactadas (SILVA; COSTA, 2020). A sua introdução em sistemas agrícolas favorece a estabilidade microbiana do solo, reduzindo a dependência de fertilizantes e pesticidas químicos e contribuindo para a segurança alimentar e a conservação dos recursos naturais (SINGH et al., 2016).

Na cultura da alface (*Lactuca sativa* L.), a aplicação de EMs e outros biofertilizantes microbianos tem se mostrado eficaz no aumento da massa foliar, melhora da textura e coloração das folhas, e maior tolerância a estresses como salinidade e deficiência hídrica (OLIVEIRA et al., 2021). Resultados de campo indicam ainda que a inoculação com consórcios microbianos pode diminuir a salinidade do solo, aumentar a eficiência no uso de água e nutrientes e elevar significativamente a produtividade da cultura (PEREIRA et al., 2020).

Em sistemas de produção orgânica, onde o uso de fertilizantes sintéticos é limitado, os microrganismos eficientes representam uma alternativa viável e de baixo custo, pois atuam de forma contínua na ciclagem de nutrientes e na saúde do solo (SILVA; COSTA, 2020). O uso contínuo desses biofertilizantes promove benefícios cumulativos, melhorando a fertilidade do solo a longo prazo e permitindo o estabelecimento de uma microbiota benéfica estável.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Instituto Trópico Subúmido (ITS), localizado na Pontifícia Universidade Católica de Goiás – Campus II, nas coordenadas 16°44'13.7"S e 49°12'55.8"W.

Foram utilizados materiais como pá, enxada e carrinho de mão para o preparo e movimentação da terra; peneiras de diferentes malhas, funil e barbante para a coleta e manipulação dos microrganismos; balança de precisão para pesagem dos ingredientes; e lona plástica transparente (6x4 metros) para cobertura da área de cultivo. O substrato foi composto por uma mistura de turfa de sphagnum, perlita e torta de neem, acrescida de terra e areia.

Foram utilizados 4 kg de arroz cozido (sem sal ou óleo), açúcar mascavo, 20 litros de água descansada por 48 horas e garrafas PET para fermentação. Para o cultivo, utilizaram-se 32 baldes de 7 litros como vasos individuais.

Preparação dos Microrganismos Eficientes (ME)

Foi efetuada a captura de ME no dia 22 de outubro de 2024, por meio do método de isca com arroz cozido. O arroz foi cuidadosamente cozido e distribuído em hastes de bambu cortadas ao meio. Cada metade foi preenchida com o arroz e amarrada com barbante, formando pacotes.

As iscas foram então enterradas em uma área de serapilheira localizada na mata próxima ao ITS, ambiente selecionado por apresentar alta atividade microbiana natural, ideal para captura de microrganismos decompositores e regeneradores do solo (Figura 1). As iscas permaneceram enterradas por seis dias (22 a 28 de outubro), sendo posteriormente desenterradas.

Após a coleta, foram abertas para análise visual (Figura 2). As colônias com coloração escura (indicativas de microrganismos de decomposição indesejáveis) foram descartadas, mantendo-se apenas os microrganismos com colorações claras, sugestivas de atividade regenerativa.

Preparo da Solução Fermentada de ME

No dia 28 de outubro de 2024, os microrganismos coletados foram homogeneizados em 20 litros de água descansada por 48 horas (para eliminação de cloro e outras substâncias). Após a adição dos microrganismos à água descansada, a mistura foi agitada manualmente para promover sua dispersão homogênea, sendo então deixada em repouso para posterior processamento.

No dia 30 de outubro de 2024, a solução foi peneirada quatro vezes, com o objetivo de remover partículas sólidas (Figura 4). Posteriormente, foi preparada uma solução contendo 1 kg de açúcar mascavo dissolvido em 2 litros de água quente (Figura 3). Essa solução foi incorporada à mistura fermentativa como fonte energética.

O líquido final foi transferido para garrafas PET, preenchidas até a metade para permitir espaço de liberação de gases durante o processo de fermentação. As garrafas foram lacradas e deixadas em repouso por 30 dias. Durante as duas primeiras semanas, foram abertas de três a cinco vezes ao dia para liberação de gases acumulados (Figura 10). Em algumas ocasiões, houve rompimento de

duas garrafas devido ao excesso de pressão. A partir da terceira semana, a abertura foi reduzida para uma vez ao dia, devido à redução da atividade fermentativa (Figura 8).

Filtragem Final e Armazenamento

No dia 5 de dezembro de 2024, foi realizada a filtragem final dos microrganismos fermentados. Utilizou-se um balde de 20 litros, um pano limpo, barbante, funil e oito garrafas PET com capacidade média de dois litros cada.

O pano foi fixado sobre a abertura do balde com auxílio do barbante. A solução foi vertida sobre o pano para separação da fase líquida (Figura 11). Após a coagem, o líquido foi transferido com auxílio de funil para as garrafas PET, nas quais foi notada uma leve redução de volume em comparação ao início do processo (Figura 5). No dia seguinte, foi observada alteração na coloração da solução, sinalizando que os microrganismos estavam prontos para uso.

Preparo do Solo e Estrutura de Cultivo

O solo foi preparado na proporção 2:2:1, sendo duas partes de terra, duas de areia e uma parte de substrato (turfa de sphagnum, perlita e torta de neem) (Figura 7). Todo o solo foi peneirado para garantir homogeneidade e corrigido com calcário dolomítico para ajuste do pH, tornando-o adequado ao cultivo da alface (Figura 6).

A mistura foi então distribuída em 32 baldes plásticos com capacidade de 7 litros, que serviram como unidades experimentais. Para o cultivo, foi montada uma estrutura coberta com lona transparente de 6x4 metros (Figura 9), permitindo passagem de luz solar e proteção contra chuvas excessivas, assegurando condições ambientais mais estáveis para o desenvolvimento das plantas.

Atividades Complementares Realizadas em 2025

Com o intuito de verificar a viabilidade microbiológica do biofertilizante preparado artesanalmente, foram realizadas novas análises laboratoriais no ano de 2025.

No dia 31 de março de 2025, uma amostra da solução de microrganismos eficientes (EMs), fermentada por quatro meses, foi submetida a análise

microbiológica no laboratório AgroLab. Ao abrir o recipiente de armazenamento, foi percebido um odor alcoólico intenso, indicando ocorrência de fermentação alcoólica durante o período. Para a análise, 1 mL da solução foi coletado com micropipeta e transferido para uma lâmina de contagem, sendo posteriormente analisado em microscópio óptico. Constatou-se atividade microbiana, porém em quantidade insatisfatória, possivelmente devido à predominância de leveduras fermentadoras e à morte de parte dos microrganismos benéficos.

Diante desse resultado, foi realizado um novo preparo dos microrganismos eficientes. No dia 16 de abril de 2025, o procedimento de captura foi repetido, utilizando três hastes de bambu partidas ao meio, preenchidas com arroz cozido (2 kg, sem óleo e sal) (Figura 12). As iscas foram vedadas com barbante e enterradas na serrapilheira da mata do ITS por sete dias. Após esse período, os bambus apresentaram intensa colonização, com presença de colorações verde, amarela e predominantemente vermelha, indicando diversidade de microrganismos.

A biomassa microbiana presente nas três hastes foi homogeneizada. Uma porção da amostra foi levada em caixa de isopor com gelo até o laboratório, para preservação. A outra parte foi reservada para preparo do biofertilizante fermentado, seguindo os procedimentos de diluição em água e adição de açúcar mascavo para fermentação (Figura 21).

No laboratório, foram analisados 10 g do composto microbiano diluídos em 90 mL de água filtrada (Figura 13). A solução foi colocada em Erlenmeyer e agitada por 40 minutos. Em seguida, realizou-se diluição seriada nas ordens de 10^{-4} até 10^{-7} (Figura 14), com posterior semeadura em placas de Petri contendo quatro meios de cultura: BDA (Batata-Dextrose-Agar) (Figura 16), BDA+ (com antibiótico) (Figura 17), NA (Agar Nutriente) (Figura 15) e KING B (Figura 18). A semeadura foi realizada em câmara de fluxo laminar, e as placas foram incubadas a 28°C em estufa bacteriológica.

Após sete dias, observou-se colonização total em todas as placas, demonstrando elevada viabilidade e diversidade microbiana. Foram identificados microrganismos como *Pseudomonas* spp., que apresentaram fluorescência no

meio KING B sob luz UV (Figura 20), e o fungo *Trichoderma* spp., com conídios de coloração verde-clara e odor característico de leite de coco.

Devido à intensa proliferação, não foi possível realizar a contagem de colônias nas primeiras diluições. Por esse motivo, uma nova amostragem foi diluída nas ordens de 10^{-9} a 10^{-10} e semeada novamente nos mesmos meios. Após mais sete dias de incubação, parte das placas apresentou crescimento controlado, permitindo a contagem de colônias com auxílio de contador automático, obtendo-se as médias por diluição.

Essas análises confirmaram a alta atividade microbiológica do novo preparo dos microrganismos eficientes, validando sua aplicação no experimento como biofertilizante artesanal.

Contagem de Colônias e Avaliação Microbiológica

No dia 12 de maio de 2025, foi realizada, no laboratório da empresa AgroLab, a contagem de colônias microbianas nas placas de Petri previamente inoculadas com diluições seriadas da solução de microrganismos eficientes (10^{-9} e 10^{-10}), utilizando os meios de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar), BDA+ (com antibiótico), NA (Ágar Nutriente) e KING B. Após sete dias de incubação a 28°C , as placas apresentavam condições adequadas para a contagem microbiológica.

A contagem foi realizada em bancada, com o auxílio de um contador de colônias Prolab. O procedimento consistiu na colocação das placas sobre uma base iluminada, onde cada colônia visível foi marcada manualmente com caneta acoplada ao contador eletrônico, que registrava o número total de unidades formadoras de colônia (UFC), de acordo com os padrões de análise microbiológica descritos por Brasil (2021).

Entretanto, em alguns meios de cultura não foi possível realizar a contagem devido à natureza da colonização microbiana, que se apresentou excessivamente densa ou irregular. As placas inviáveis para contagem foram: NA nas diluições 10^{-9} e 10^{-10} , BDA+ na diluição 10^{-9} e KING B na diluição 10^{-10} .

Nos demais meios, os resultados demonstraram alta concentração microbiana. A média de colônias por placas foi a seguinte (Figura 19):

BDA 10^{-10} : 163 colônias

BDA 10^{-9} : 196 colônias

BDA+ 10^{-10} : 214 colônias

KING B 10^{-9} : 98 colônias

Os resultados evidenciam que a serrapilheira da mata do ITS, local de coleta das iscas, apresenta grande diversidade e abundância microbológica, o que reforça seu potencial como fonte de microrganismos regeneradores para uso agrícola.

Avaliação da Atividade Microbiana Pós-Fermentação

No dia 26 de maio de 2025, foi levada ao laboratório AgroLab Análises de Sementes uma amostra do biofertilizante artesanal de microrganismos eficientes (EMs), já fermentado por 30 dias, com o objetivo de avaliar a atividade microbiana residual após o processo fermentativo.

Para a análise, a amostra foi submetida a diluições seriadas nas ordens de 10^{-9} e 10^{-10} , utilizando micropipeta com ponteira estéril, 9 mL de água autoclavada e agitador de mesa. Após as diluições, a solução foi semeada em placas de Petri (três por meio) contendo os seguintes meios de cultura: NA (Ágar nutriente), BDA (Batata Dextrose Ágar), BDA+ (BDA com antibiótico) e KING B.

As placas foram incubadas por sete dias a 28 °C. No dia 2 de junho de 2025, foram levadas ao contador eletrônico de colônias (modelo Prolab) para a realização da contagem das unidades formadoras de colônia (UFC). Este procedimento permitiu quantificar a atividade microbiana remanescente na solução fermentada.

Variedade Utilizada

A variedade utilizada no experimento foi a alface crespa (*Lactuca sativa* var. crispa), um dos tipos mais cultivados e comercializados no Brasil. Esta variedade se destaca por apresentar folhas volumosas, margens bastante recortadas e textura crocante, características que a tornam atrativa para o consumo in natura e preferida pelos consumidores (FERREIRA et al., 2020).

Além disso, possui ciclo vegetativo curto e elevado potencial produtivo, sendo bastante sensível ao manejo de água e nutrientes, o que a torna ideal para avaliar os efeitos de diferentes tratamentos biofertilizantes sobre o desenvolvimento vegetal e o desempenho agrônômico.

Plantio da Alface

O plantio das mudas de alface crespa foi realizado no dia 30 de abril de 2025(Figura 22). As mudas foram adquiridas no viveiro atacadista “Neguin Mudas e Hortaliças”, em bandejas contendo 50 unidades cada, ao custo de R\$ 15,00 por bandeja, o que corresponde a R\$ 0,30 por muda. De acordo com o proprietário do viveiro, as mudas possuíam aproximadamente 10 dias desde a emergência.

As mudas selecionadas apresentavam sistema radicular bem desenvolvido e saudável, com altura média de 4,1 cm, comprimento foliar médio de 3,7 cm e largura média de 2,3 cm, além de estarem compostas por duas a três folhas ativas, características que indicam vigor e qualidade fisiológica adequados para transplântio.

A implantação foi realizada em 32 vasos de 7 litros, dispostos em duas fileiras com 16 vasos cada sob a estrutura coberta previamente descrita. O solo utilizado foi o mesmo preparado anteriormente para o experimento. Cada muda foi plantada com profundidade aproximada de 10 cm, garantindo boa fixação da planta no substrato

Antes do transplântio, foram adicionados 500 mL de água da torneira em cada vaso, prática fundamental para o sucesso do pegamento inicial das mudas. A irrigação prévia do solo proporciona um ambiente úmido e uniforme, eliminando bolsões de ar que poderiam comprometer o contato das raízes com o substrato. De acordo com a Embrapa (2020), a irrigação antes do plantio pode aumentar em até 30% a eficiência do pegamento, reduzindo o estresse hídrico e favorecendo uma transição mais suave entre o ambiente protegido e o campo. Além disso, o substrato úmido oferece melhor maleabilidade para acomodação das raízes, minimizando danos mecânicos durante o plantio e otimizando o desenvolvimento vegetativo inicial.

Figura 1 – Preparo e posicionamento da armadilha para captura dos EMs



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 2 – Coleta das armadilhas de bambu



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 3 – Preparo da solução



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 4 – Separação da parte sólida e líquida



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 5 – Reservando os EMs nas garrafas



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 6 – Pesando calcário



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 7 – Preparo do solo e calagem



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 8 – Retirada do gás que se acumula na garrafa devido a fermentação



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 9 – Troca da tela de sombrite para uma lona transparente



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 10 – Retirado do gás



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 11 – Etapa Final no Processo de ME



Fonte: Gonçalves (2024)

Figura 12 – Preparo e coleta de ME para estudo.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 13 – Análise da amostra de EM em laboratório.



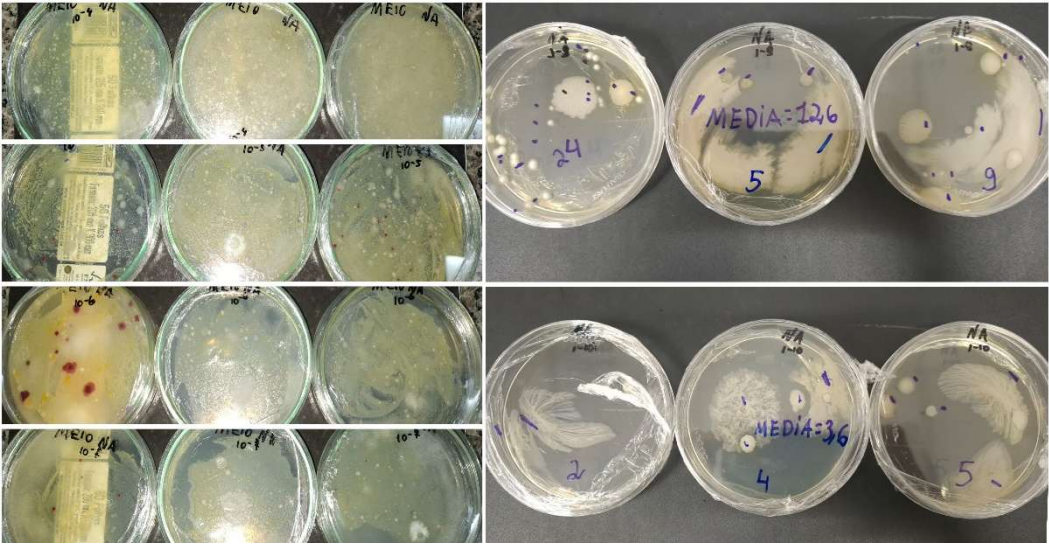
Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 14 – Diluição seriada.



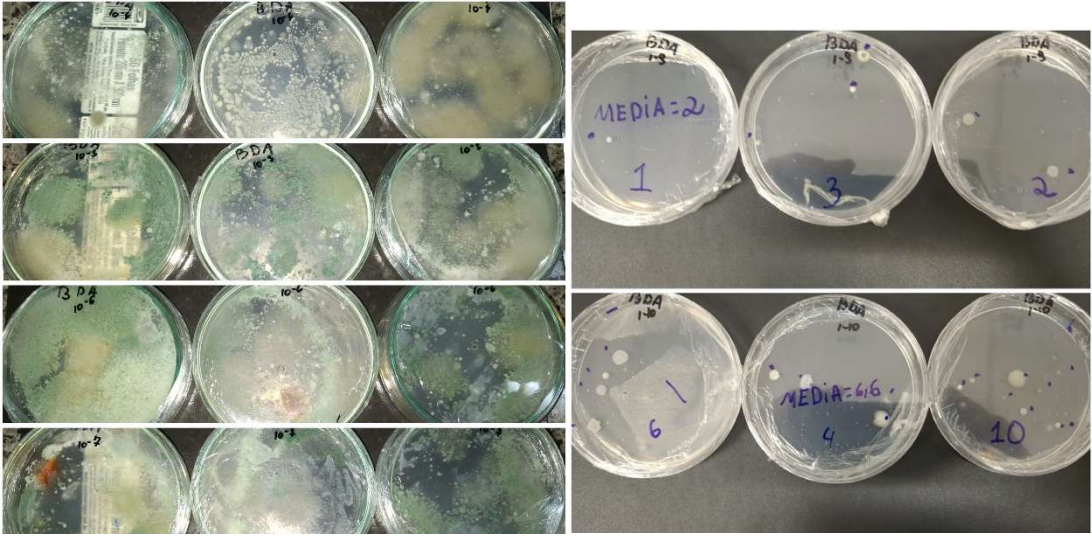
Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 15 – Plaqueamento em meio NA em 10⁻⁴ a 10⁻⁹.



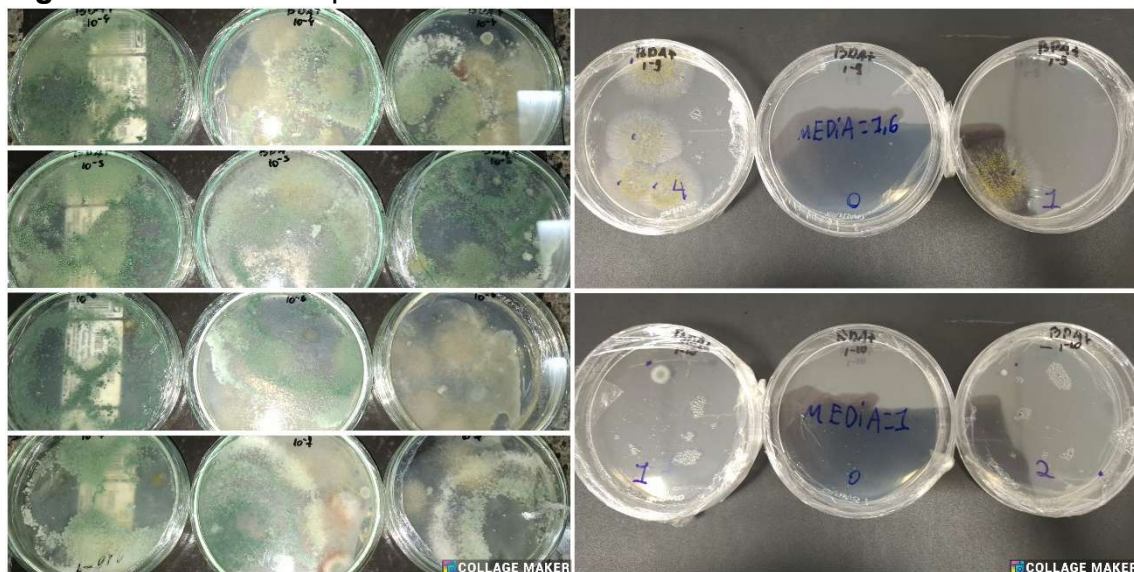
Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 16 – Plaqueamento em meio BDA em 10⁻⁴ a 10⁻⁹



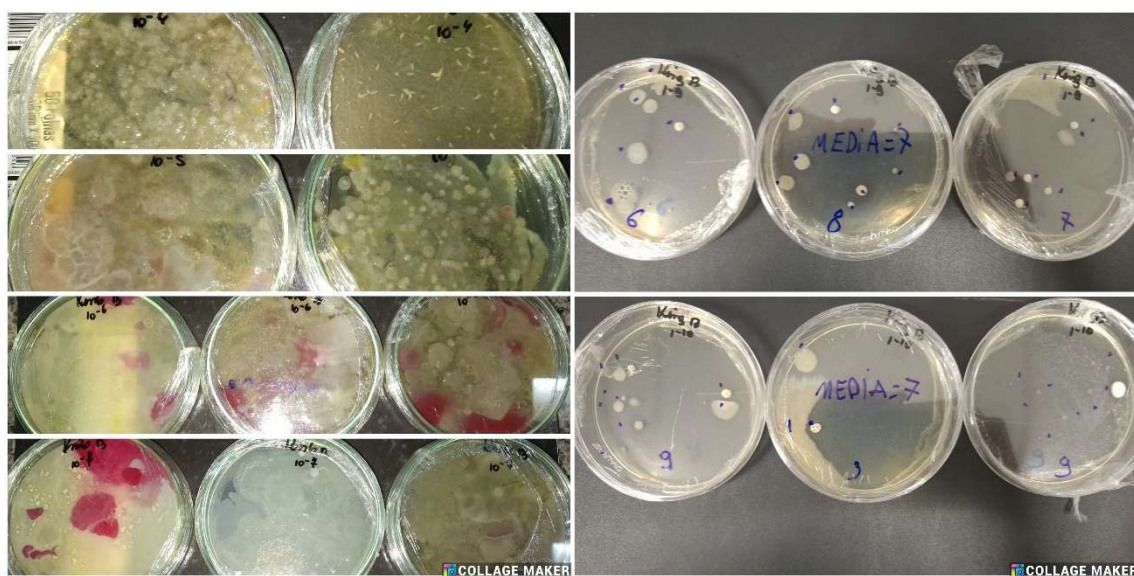
Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 17 – Plaqueamento em meio BDA+ em 10^{-4} a 10^{-9}



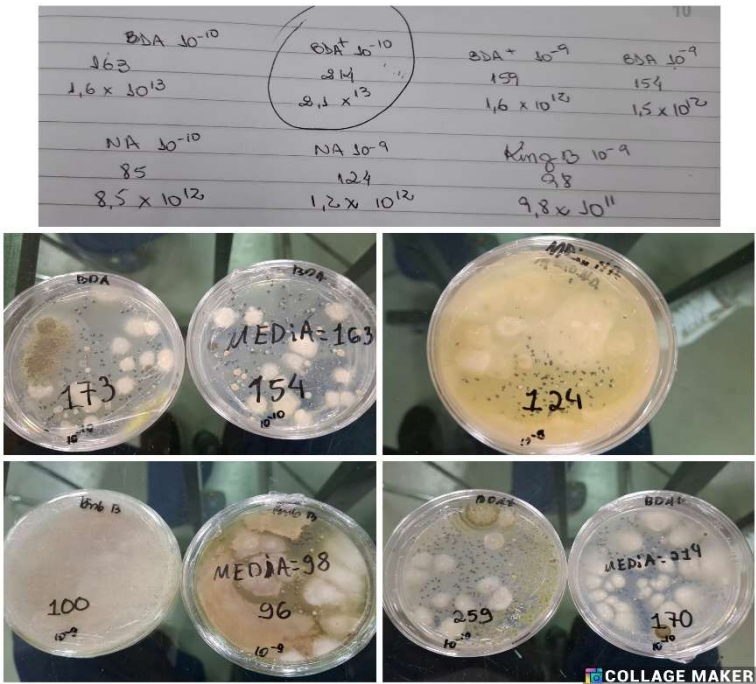
Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 18 – Plaqueamento em meio KING B em 10^{-4} a 10^{-9} .



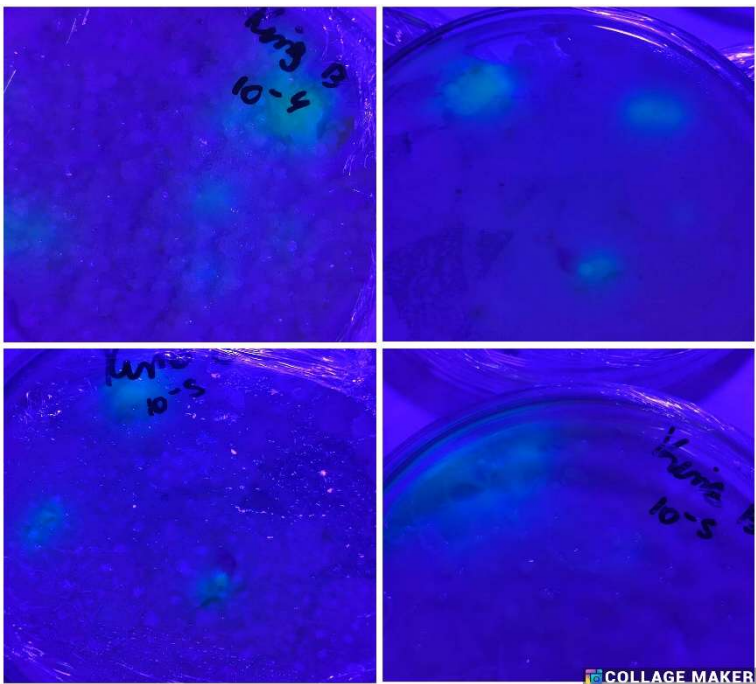
Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 19 – Resultado da contagem de colônias nas placas.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 20 – Bactérias *Pseudomonas* spp vistas em luz negra.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 21 – Preparo do EM para fermentação.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 22 – Dia da implantação da alface crespa.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 23– Realização das 3 coletas de dados.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 24 – Primeira e segunda aplicação de EM.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 25– Primeira e segunda aplicação do controle.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 26 – Primeira e segunda aplicação de Trichoderma.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 27 – Primeira e segunda aplicação de Verus.



Fonte: Gonçalves (2025)

Figura 28 – Colheita e pesagem da alface crespa.



Fonte: Gonçalves (2025)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação Microbiológica das Amostras Coletadas

A análise microbiológica realizada em 12 de maio de 2025 revelou significativa atividade microbiana nas amostras obtidas da serrapilheira da mata do ITS, utilizadas para a produção artesanal dos microrganismos eficientes (EMs). Foram analisadas placas de Petri semeadas com diluições seriadas de 10^{-9} a 10^{-10} , nos meios de cultura BDA, BDA+ (com antibiótico), NA (Ágar Nutriente) e KING B.

Os resultados de contagem demonstraram alta densidade microbiana, com destaque para o meio BDA+ na diluição 10^{-10} , que apresentou a maior média de colônias (214 UFC). Em seguida, os meios BDA 10^{-9} (196 UFC), BDA 10^{-10} (163 UFC) e KING B 10^{-9} (98 UFC) também demonstraram crescimento expressivo. Já em meios como NA (10^{-9} e 10^{-10}), BDA+ (10^{-9}) e KING B (10^{-10}), a contagem foi inviável devido à supercolonização ou crescimento difuso.

O maior crescimento no meio BDA+, mesmo com adição de antibiótico, sugere que os fungos filamentosos presentes na amostra se desenvolveram com grande intensidade, possivelmente devido à capacidade dos fungos saprófitas — como *Trichoderma* spp. e outros fungos decompositores — de se multiplicarem rapidamente em meio rico em carboidratos, como é o caso do BDA (MELO et al., 2022). A presença do antibiótico provavelmente inibiu o crescimento bacteriano, favorecendo o crescimento seletivo de fungos resistentes.

Por outro lado, o meio KING B, utilizado para seleção de *Pseudomonas* spp., apresentou crescimento inferior (98 UFC), o que é condizente com a natureza mais específica deste meio, que favorece bactérias fluorescentes sob luz UV (RIBEIRO et al., 2020). Embora a contagem tenha sido menor, a identificação de colônias fluorescentes características confirma a presença de *Pseudomonas* spp. na serrapilheira — um gênero amplamente estudado por sua capacidade de atuar como promotora de crescimento vegetal (PGPR), produzir sideróforos e inibir patógenos por antibiose (CASSÁN et al., 2009).

5.2 Avaliação da Atividade Microbiana Após Fermentação

Os resultados da contagem de colônias das placas de Petri inoculadas com a solução fermentada demonstraram uma redução significativa na densidade e diversidade microbiológica em comparação com os resultados anteriores à fermentação. O meio NA na diluição 10^{-9} apresentou a maior média de contagem, com 12,6 colônias, enquanto o meio BDA+ registrou a menor média, com apenas 1 colônia.

Esses dados confirmam que o processo fermentativo afeta negativamente a viabilidade microbiana da solução, reduzindo drasticamente a população de microrganismos ativos. Isso pode ser explicado pelos efeitos combinados da fermentação alcoólica prolongada, que cria um ambiente hostil à maioria dos microrganismos.

Segundo Fleet (2003), o acúmulo de etanol e a acidificação do meio ao longo da fermentação atuam como barreiras seletivas, eliminando grande parte das espécies não tolerantes. O etanol, quando atinge concentrações superiores a 10–12% (v/v), apresenta efeito antimicrobiano, enquanto o pH do meio pode cair para valores entre 3,0 e 4,0, inviabilizando a sobrevivência de muitas bactérias e fungos (QUEROL et al., 2003; BISSON, 1999).

Além disso, a dominância de leveduras fermentativas como *Saccharomyces cerevisiae* contribui para a exclusão competitiva de outras espécies, pois essas leveduras consomem rapidamente os açúcares disponíveis, reduzindo a oferta de substrato para microrganismos não fermentativos (FLEET, 2008). A produção de CO_2 também cria um ambiente anaeróbico que suprime o crescimento de microrganismos aeróbios obrigatórios (PRETORIUS, 2000).

Assim, os dados obtidos neste experimento indicam que, embora a fermentação seja um método tradicionalmente utilizado na preparação de biofertilizantes, ela pode comprometer a diversidade e a viabilidade microbiológica da solução original de microrganismos eficientes. Isso abre espaço para futuras investigações sobre a viabilidade do uso de EMs “in natura”, ou métodos alternativos de ativação e multiplicação que não envolvam fermentação alcoólica.

Altura das Plantas

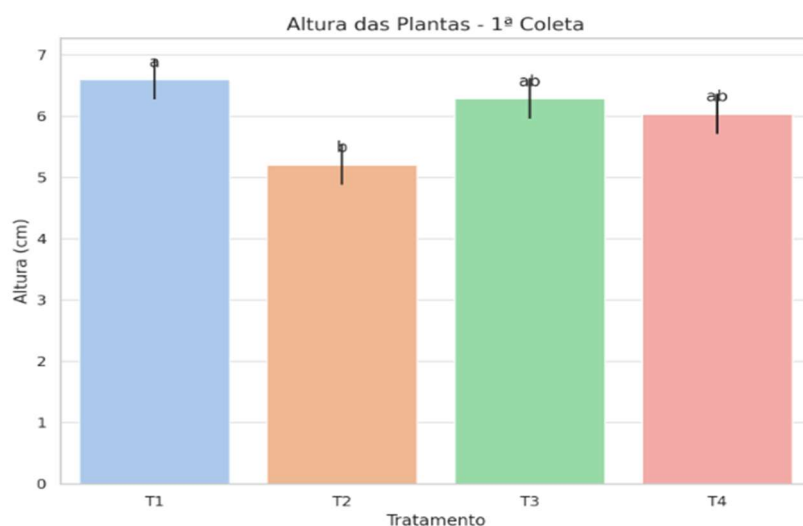
1ª Coleta (Dia da aplicação)

Tabela 1 – Médias da altura de plantas de alface cresa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos: controle, *Trichoderma asperellum*, *Serratia marcescens* (Verus®) e microrganismos eficientes caseiros. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	8.475937	2.825312	3.224	0.0375
erro	28	24.536250	0.876295		
Total corrigido	31	33.012187			
CV (%) =	15.51				
Média geral:	6.0343750	Número de observações:	32		

Gráfico 1- Médias da altura das plantas de alface cresa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos na primeira coleta (dia da aplicação). Goiânia, Goiás, 2025.



A variável altura apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($p = 0,0375$), com coeficiente de variação de 15,51%, valor considerado aceitável segundo Pimentel-Gomes (2009). Entretanto, esta coleta foi realizada no mesmo dia da primeira aplicação dos tratamentos, portanto sem tempo suficiente para os produtos exercerem seus efeitos. O tratamento controle (T1) obteve a maior

média (6,60 cm), diferindo de T2 (5,21 cm), enquanto T3 e T4 foram estatisticamente semelhantes. Os resultados refletem o estado inicial das plantas, antes da ação dos bioinsumos. Fatores ambientais como temperaturas entre 15 e 25 °C, baixa luminosidade e excesso de umidade podem ter interferido no crescimento inicial, como relatado por Taiz et al. (2017).

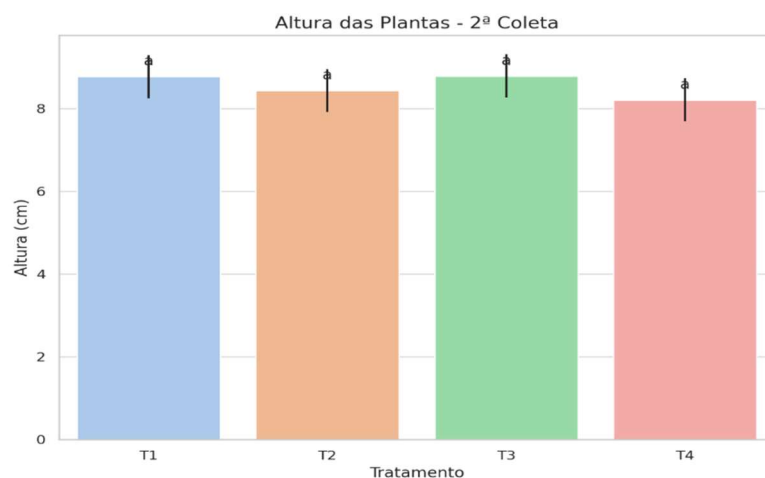
2ª Coleta

Tabela 2- Médias da altura de plantas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos: controle, *Trichoderma asperellum*, *Serratia marcescens* (Verus®) e microrganismos eficientes caseiros. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	1.868438	0.622813	0.285	0.8355
erro	28	61.091250	2.181830		
Total corrigido	31	62.959687			
CV (%) =	17.27				
Média geral:	8.5531250	Número de observações:	32		

Gráfico 2- Médias da altura das plantas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos na segunda coleta. Goiânia, Goiás, 2025.



Na segunda coleta, realizada após alguns dias da aplicação dos tratamentos, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos ($p = 0,8355$), e o CV aumentou para 17,27%. As médias variaram de 8,21 cm (T4) a 8,78 cm (T3), mas sem distinções estatísticas. Esse resultado pode indicar que, apesar do tempo decorrido, os tratamentos ainda não apresentaram efeitos expressivos na altura ou que a resposta pode ter sido mascarada pelas condições ambientais desfavoráveis, que possivelmente inibiram a atividade dos microrganismos e a absorção de nutrientes (SOUZA et al., 2020). Vale ressaltar que, apesar do aumento das médias, a variabilidade aumentou, o que reforça a influência de fatores externos.

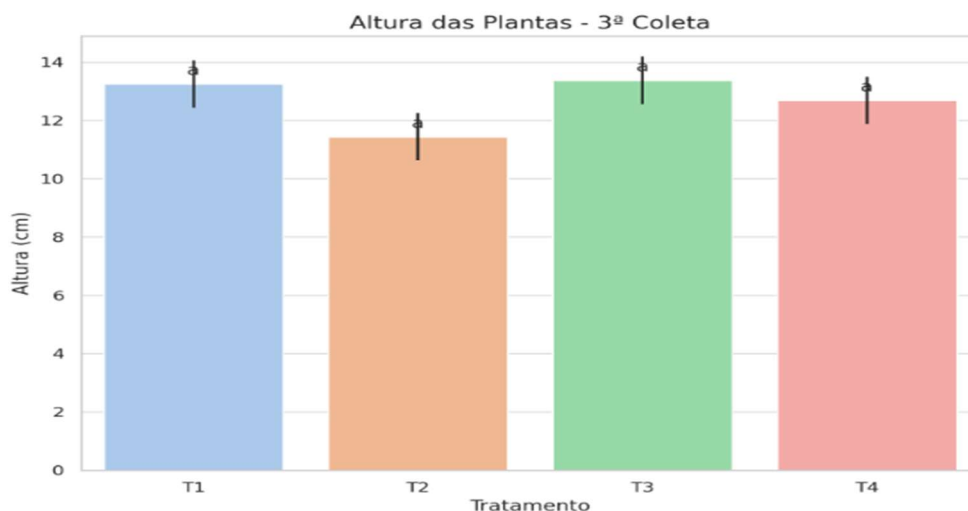
3ª Coleta

Tabela 3- Médias da altura de plantas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos: controle, *Trichoderma asperellum*, *Serratia marcescens* (Verus®) e microrganismos eficientes caseiros. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	18.812500	6.270833	1.182	0.3344
erro	28	148.562500	5.305804		
Total corrigido	31	167.375000			
CV (%) =	18.16				
Média geral:	12.6875000	Número de observações:	32		

Gráfico 3- Médias da altura das plantas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos na terceira coleta. Goiânia, Goiás, 2025.



Na terceira coleta, o crescimento médio das plantas continuou aumentando, atingindo 12,69 cm de média geral. Ainda assim, não houve diferença estatística entre os tratamentos ($p = 0,3344$), com CV de 18,16%. As médias variaram de 11,43 cm (T2) a 13,38 cm (T3), mas todas dentro do mesmo grupo estatístico. Esse comportamento reforça a hipótese de que as condições ambientais ao longo do experimento limitaram a expressão dos efeitos dos tratamentos, mesmo com o tempo de exposição adequado. A falta de diferenciação também pode estar associada à baixa eficiência dos produtos em condições de baixa temperatura, pouca radiação e alta umidade, como apontado por Taiz et al. (2017) e Souza et al. (2020).

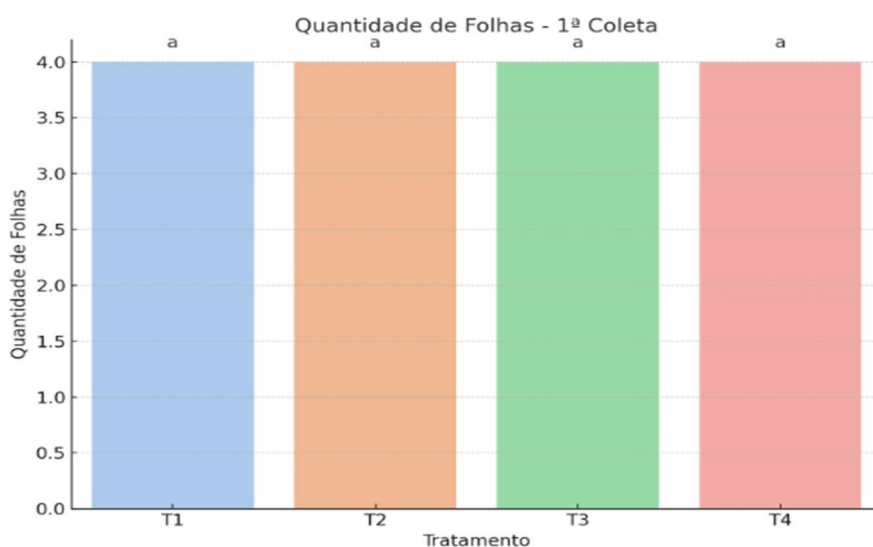
Quantidade de folhas

1ª Coleta

Tabela 4- Análise de variância (ANOVA) da quantidade de folhas por planta de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) na primeira coleta, considerando o efeito dos diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.000000000E+0000	0.000000000E+0000	1.0E+0009	0.0000
erro	28	0.000000000E+0000	0.000000000E+0000		
Total corrigido	31	0.0000000			
CV (%) =	0.00				
Média geral:	4.0000000	Número de observações:		32	

Gráfico 4- Médias da quantidade de folhas por planta de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos, na primeira coleta. Goiânia, Goiás, 2025.



Na primeira coleta, todos os tratamentos apresentaram a mesma média de folhas (4,00), sem nenhuma variação entre repetições, o que resultou em um valor de CV igual a 0% e uma análise de variância com SQ e QM iguais a zero.

Essa uniformidade dos dados indica que não havia diferença inicial entre os tratamentos, o que é esperado, uma vez que a coleta foi realizada no mesmo dia da primeira aplicação dos produtos, sem tempo hábil para manifestação de efeitos. Esses dados representam o estado inicial das plantas antes da ação dos insumos. Como salientam Taiz et al. (2017), efeitos fisiológicos relacionados a biofertilizantes e microrganismos demandam tempo para se estabelecer, especialmente quando há interferência de fatores ambientais adversos, como baixa temperatura e radiação.

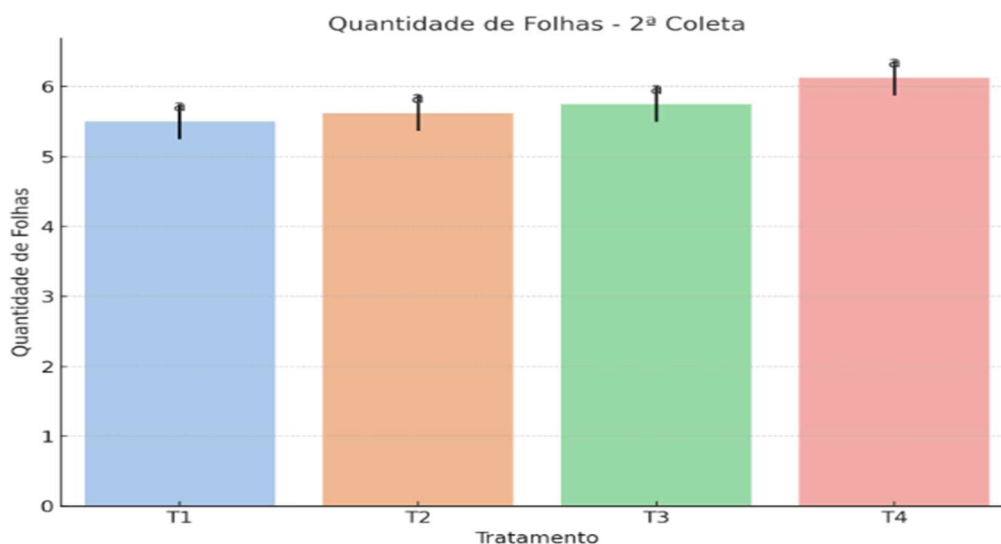
2ª Coleta

Tabela 5- Análise de variância (ANOVA) da quantidade de folhas por planta de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) na segunda coleta, considerando o efeito dos diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	1.750000	0.583333	1.146	0.3477
erro	28	14.250000	0.508929		
Total corrigido	31	16.000000			
CV (%) =	12.41				
Média geral:	5.7500000	Número de observações:	32		

Gráfico 5- Médias da quantidade de folhas por planta de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos, na segunda coleta. Goiânia, Goiás, 2025.



Na segunda coleta, a média geral da variável aumentou para 5,75 folhas por planta, demonstrando crescimento em relação ao momento inicial. No entanto, os tratamentos não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p = 0,3477$), embora o número de folhas tenha variado entre 5,5 (T1) e 6,13 (T4). O coeficiente de variação foi de 12,41%, valor considerado satisfatório em experimentos agrícolas (PIMENTEL-GOMES, 2009). Esses resultados sugerem que houve desenvolvimento foliar natural ao longo do tempo, mas que os produtos aplicados ainda não promoveram diferenças marcantes entre os tratamentos. Segundo Souza et al. (2020), o desempenho de microrganismos como promotores de crescimento pode ser afetado por condições ambientais desfavoráveis, como temperaturas mais baixas e excesso de umidade, que prejudicam a colonização da rizosfera e a liberação de substâncias bioestimulantes.

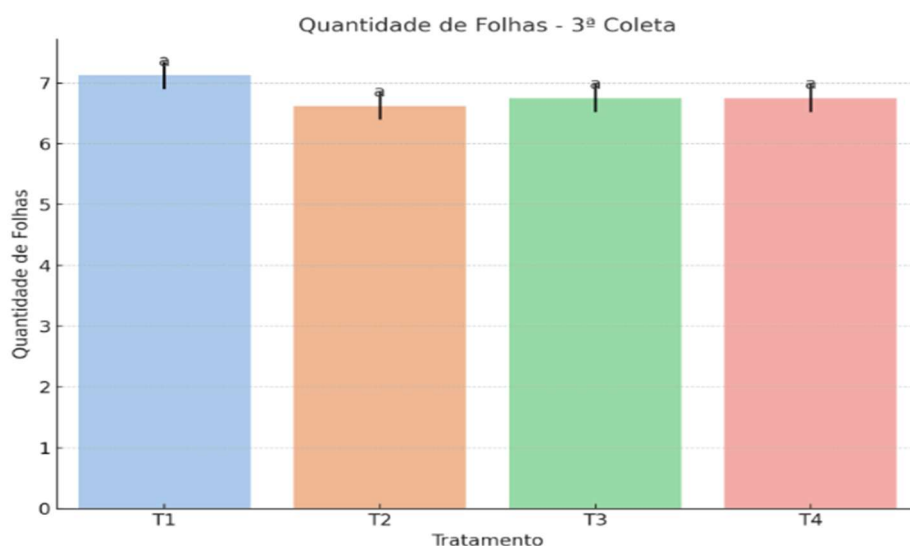
3ª Coleta

Tabela 6- Análise de variância (ANOVA) da quantidade de folhas por planta de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) na terceira coleta, considerando o efeito dos diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	1.125000	0.375000	0.894	0.4566
erro	28	11.750000	0.419643		
Total corrigido	31	12.875000			
CV (%) =	9.51				
Média geral:	6.8125000	Número de observações:	32		

Gráfico 6- Médias da quantidade de folhas por planta de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos, na terceira coleta. Goiânia, Goiás, 2025.



Na terceira coleta, a média geral subiu para 6,81 folhas por planta, indicando continuidade no crescimento da parte aérea. As médias variaram entre 6,63 (T2) e 7,13 (T1), mas novamente sem diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p = 0,4566$). O CV foi de 9,51%, mostrando boa precisão experimental. Embora os tratamentos tenham mantido médias próximas, é

possível que o crescimento das folhas tenha sido influenciado mais por fatores ambientais do que pelos produtos aplicados. De acordo com Taiz et al. (2017), o acúmulo foliar está diretamente relacionado à disponibilidade de luz e temperatura adequadas, condições que foram limitadas durante o experimento. A ausência de diferença entre os tratamentos também pode indicar que os produtos utilizados não exerceram efeito significativo sobre a emissão de folhas nas condições do estudo, ou que esse tipo de variável requer maior tempo para manifestar diferenças expressivas.

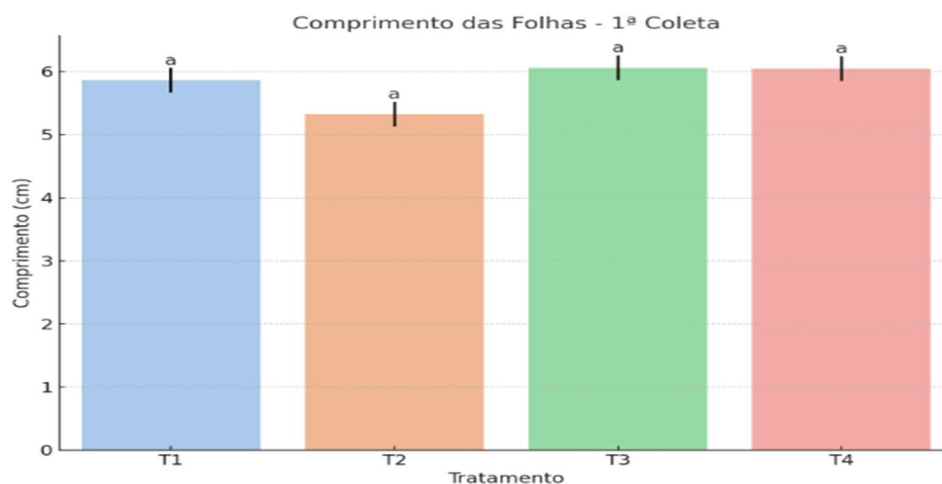
Comprimento e largura das folhas

1ª Coleta

Tabela 7- Análise de variância (ANOVA) do comprimento das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) na primeira coleta, sob diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	2.867500	0.955833	3.115	0.0420
erro	28	8.592500	0.306875		
Total corrigido	31	11.460000			
CV (%) =	9.51				
Média geral:	5.8250000	Número de observações:		32	

Gráfico 7- Médias do comprimento das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos, na primeira coleta. Goiânia, Goiás, 2025.



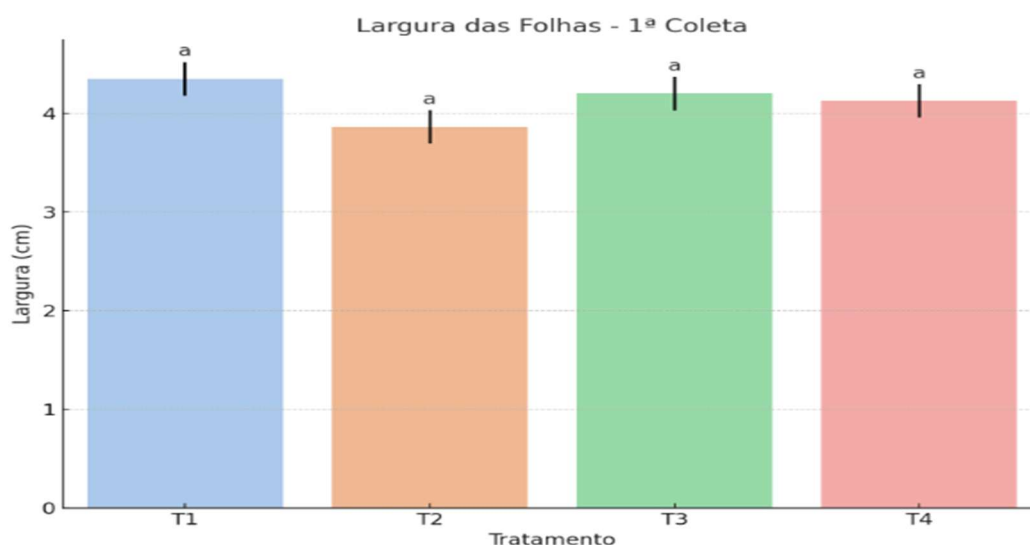
Na primeira coleta, o comprimento das folhas apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($p = 0,0420$), com coeficiente de variação (CV) de 9,51%, considerado adequado (PIMENTEL-GOMES, 2009). Apesar disso, o teste de Tukey não evidenciou diferenças estatísticas entre os grupos, indicando que, mesmo com significância na ANOVA, os tratamentos foram estatisticamente semelhantes quanto ao comprimento. Esse resultado é esperado, considerando que essa coleta foi realizada no mesmo dia da primeira aplicação dos produtos, ou seja, antes de qualquer possível resposta fisiológica às intervenções.

Tabela 8- Análise de variância (ANOVA) da largura das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) na primeira coleta, sob diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.998437	0.332812	1.439	0.2523
erro	28	6.473750	0.231205		
Total corrigido	31	7.472187			
CV (%) =	11.63				
Média geral:	4.1343750	Número de observações:	32		

Gráfico 8- Médias da largura das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos, na primeira coleta. Goiânia, Goiás, 2025.



Quanto à largura das folhas, não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p = 0,2523$), e o CV foi de 11,63%, também considerado satisfatório. Todos os tratamentos apresentaram médias próximas, reforçando que a coleta representa o estado inicial da cultura. Conforme Taiz et al. (2017), o desenvolvimento foliar é sensível à temperatura e luminosidade, e condições

desfavoráveis no início do ciclo podem limitar a expressão das características morfológicas, como o alongamento e a expansão das folhas.

2ª Coleta

Na segunda coleta, tanto o comprimento quanto a largura das folhas não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p = 0,5672$ e $p = 0,4253$, respectivamente). O CV para o comprimento foi de 18,32% e para a largura de 15,43%, ambos dentro de limites aceitáveis, embora mais elevados que na coleta anterior. As médias aumentaram em relação à 1ª coleta, indicando crescimento da planta, mas sem variação estatística associada aos tratamentos.

Tabela 9- Análise de variância (ANOVA) do comprimento das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) na segunda coleta, sob diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	4.536250	1.512083	0.688	0.5672
erro	28	61.582500	2.199375		
Total corrigido	31	66.118750			
CV (%) =	18.32				
Média geral:	8.0937500	Número de observações:		32	

Gráfico 9- Médias do comprimento das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos, na segunda coleta. Goiânia, Goiás, 2025.

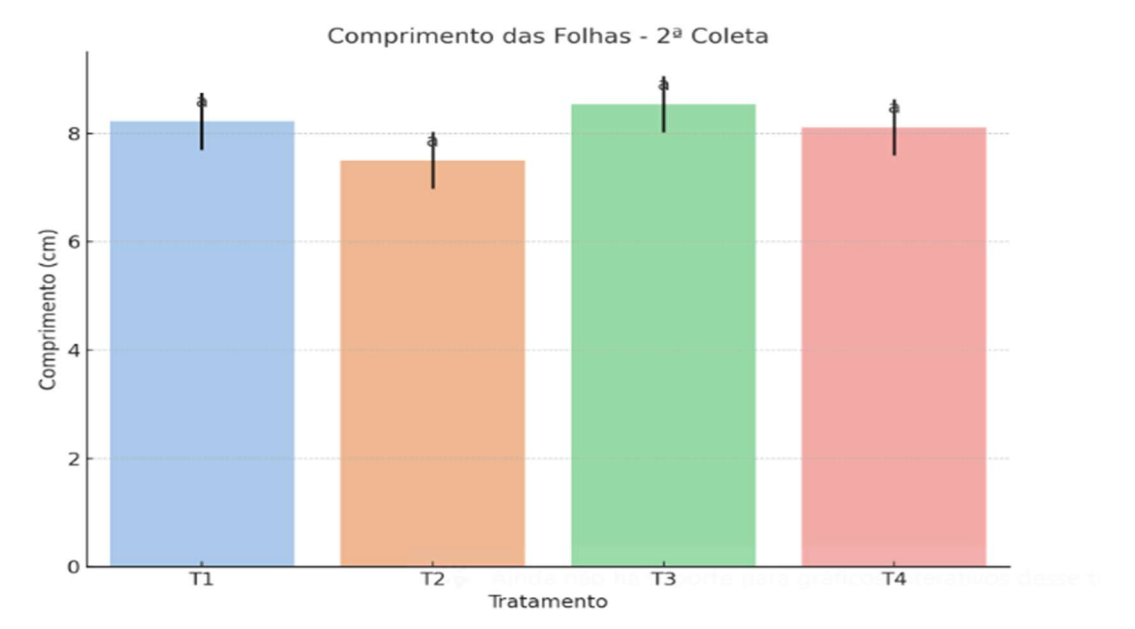
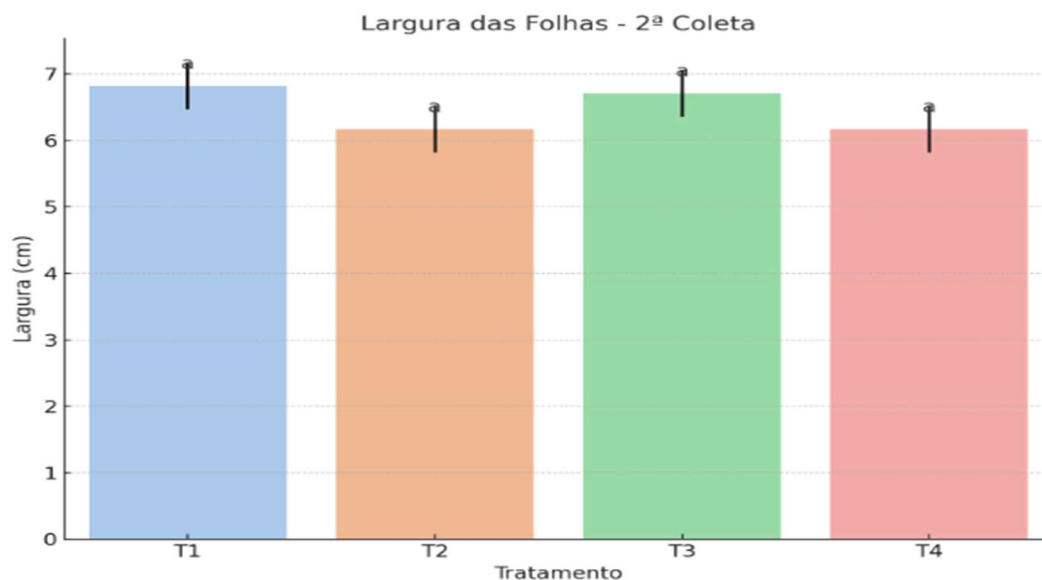


Tabela 10- Análise de variância (ANOVA) da largura das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) na segunda coleta, sob diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	2.870937	0.956979	0.960	0.4253
erro	28	27.913750	0.996920		
Total corrigido	31	30.784688			
CV (%) =	15.43				
Média geral:	6.4718750	Número de observações:	32		

Gráfico 10 - Médias da largura das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos, na segunda coleta. Goiânia, Goiás, 2025.



A ausência de diferença pode estar relacionada à demora na resposta aos bioinsumos, que frequentemente requerem tempo de colonização e adaptação na rizosfera para liberar compostos promotores de crescimento (SOUZA et al., 2020). Além disso, as condições ambientais adversas ao longo do experimento — como temperatura amena e baixa radiação solar — podem ter inibido o metabolismo microbiano e o desenvolvimento foliar, dificultando a ação dos produtos aplicados.

3ª Coleta

Na terceira coleta, observou-se o maior crescimento foliar ao longo do experimento. O comprimento médio atingiu 10,97 cm e a largura média, 9,39 cm. No entanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos em nenhuma das variáveis ($p = 0,8102$ para comprimento e $p = 0,8921$ para largura). O CV foi de 23,88% para comprimento e 21,09% para largura, indicando maior variabilidade, provavelmente influenciada por condições ambientais não controladas, como microdiferenças na luminosidade, umidade e distribuição dos microrganismos nos vasos.

Tabela 11- Análise de variância (ANOVA) do comprimento das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) na terceira coleta, sob diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	6.598438	2.199479	0.321	0.8102
erro	28	191.973750	6.856205		
Total corrigido	31	198.572187			
CV (%) =	23.88				
Média geral:	10.9656250	Número de observações:	32		

Gráfico 11- Médias do comprimento das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos, na terceira coleta. Goiânia, Goiás, 2025.

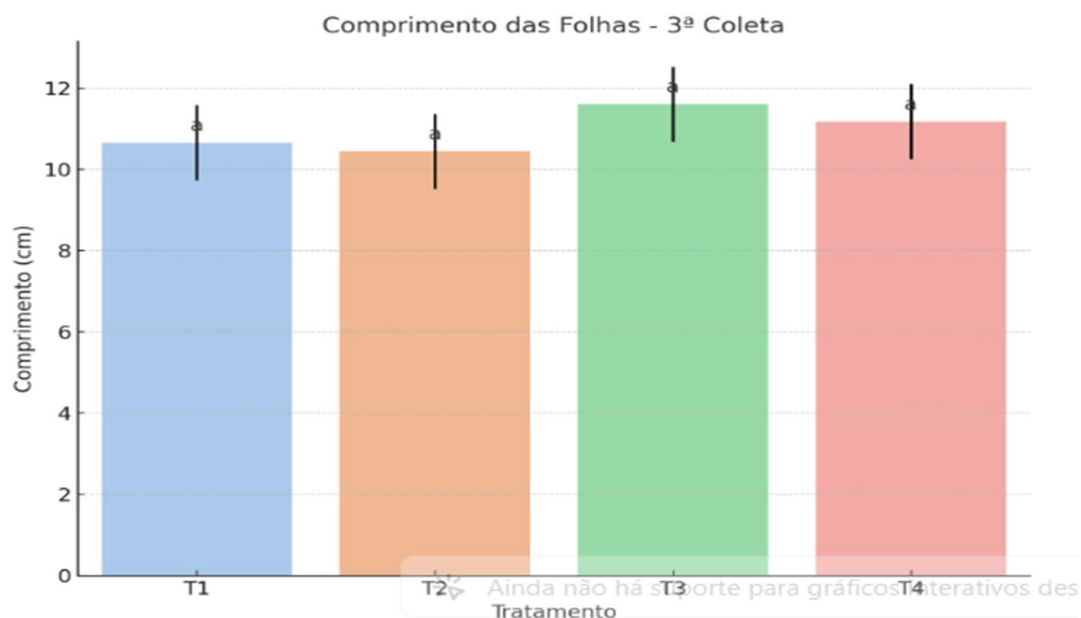
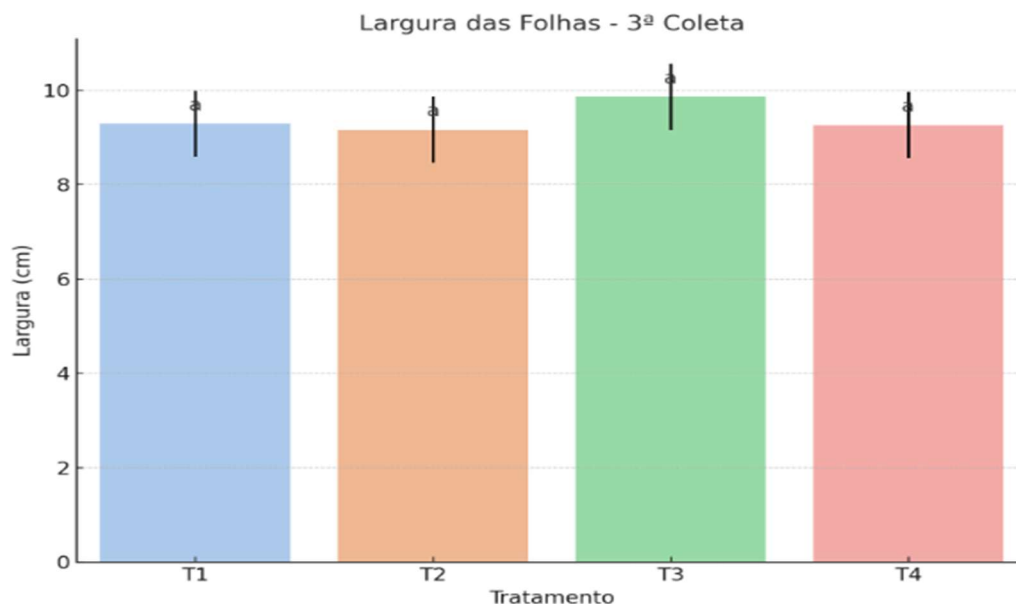


Tabela 12- Análise de variância (ANOVA) da largura das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) na terceira coleta, sob diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	2.413750	0.804583	0.205	0.8921
erro	28	109.885000	3.924464		
Total corrigido	31	112.298750			
CV (%) =	21.09				
Média geral:	9.3937500	Número de observações:	32		

Gráfico 12- Médias da largura das folhas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos, na terceira coleta. Goiânia, Goiás, 2025.



A ausência de efeito mesmo após tempo suficiente para ação dos tratamentos sugere que, nas condições do experimento, os produtos utilizados não foram capazes de promover ganho significativo na expansão foliar da alface crespa. Segundo Taiz et al. (2017), o crescimento e a morfologia das folhas são altamente dependentes de fatores ambientais e fisiológicos, e o sucesso da atuação de biofertilizantes depende de sua interação com esses fatores, o que nem sempre ocorre de forma efetiva.

Peso Fresco da Alface

A variável peso fresco da alface não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ($p = 0,9337$), indicando que, nas condições do experimento, os produtos aplicados não resultaram em diferenças marcantes na biomassa acumulada. O coeficiente de variação (CV) foi elevado (50,41%), sugerindo grande dispersão dos dados entre as repetições. Segundo Pimentel-Gomes (2009), CVs superiores a 30% devem ser interpretados com cautela, pois podem refletir forte influência de fatores ambientais ou erros experimentais.

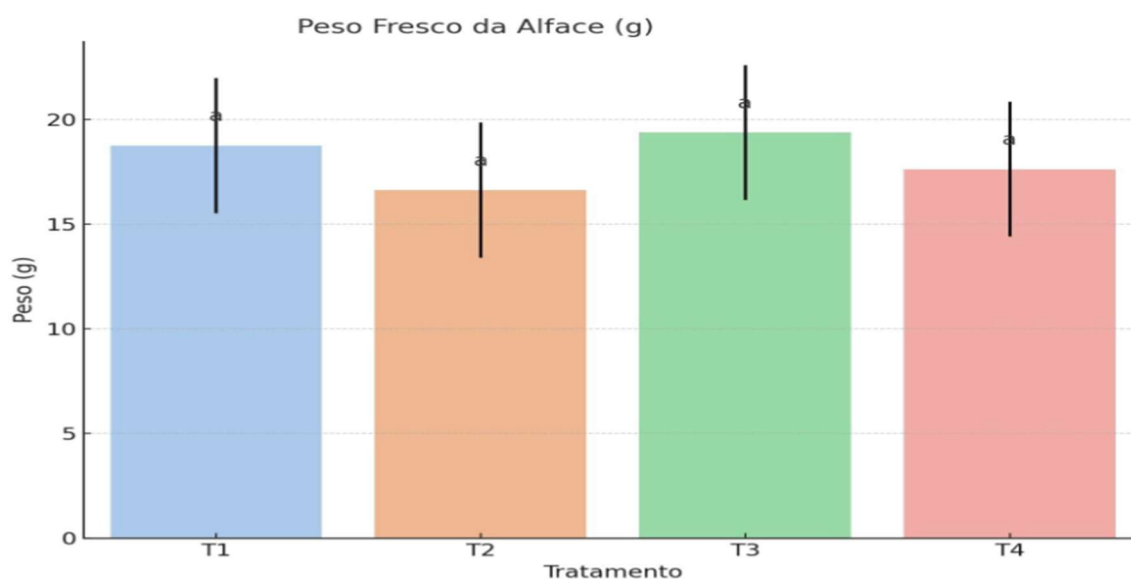
Mesmo com a ausência de significância estatística, observa-se que o tratamento T3 apresentou a maior média (19,38 g), enquanto T2 obteve a menor (16,63 g), com T1 (18,75 g) e T4 (17,63 g) em posições intermediárias. No entanto, como o teste de Tukey revelou um único grupo homogêneo (a1), essas variações não foram suficientes para estabelecer diferenças confiáveis entre os tratamentos.

Tabela 13 – Análise de variância (ANOVA) da massa fresca da parte aérea de alface crespa (*Lactuca sativa* L.), em gramas, na primeira coleta, sob diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	35.593750	11.864583	0.143	0.9337
erro	28	2329.125000	83.183036		
Total corrigido	31	2364.718750			
CV (%) =	50.41				
Média geral:	18.0937500	Número de observações:	32		

Gráfico 13- Médias do peso fresco (g) das plantas de alface crespa (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos com bioinsumos. Goiânia, Goiás, 2025.



A elevada variabilidade pode estar associada às condições ambientais adversas durante o experimento, como baixa temperatura (15–25 °C), pouca radiação solar e excesso de umidade no solo. De acordo com Taiz et al. (2017), essas condições reduzem a taxa fotossintética e, consequentemente, o acúmulo de biomassa. Além disso, a ação de biofertilizantes e microrganismos eficientes depende de fatores como temperatura, pH e aeração do solo, que influenciam a colonização da rizosfera e a eficácia dos compostos produzidos (SOUZA et al., 2020).

Portanto, embora os tratamentos tenham apresentado médias superiores a 16 g de peso fresco, não foi possível comprovar superioridade estatística entre eles, o que pode indicar que a resposta aos insumos foi limitada pelas condições experimentais.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que os biofertilizantes testados não promoveram diferenças agrônômicas estatisticamente significativas nas condições avaliadas. No entanto, a metodologia de produção artesanal dos Microrganismos Eficientes (EMs) demonstrou potencial microbiológico promissor. Isso indica que ajustes no processo de fermentação, bem como um controle mais rigoroso das condições ambientais, podem contribuir para aumentar sua eficácia.

Recomenda-se que estudos futuros avaliem a aplicação dos EMs em estado fresco (“in natura”) e sob condições mais favoráveis ao metabolismo microbiano, de modo a validar sua utilização como alternativa viável aos fertilizantes convencionais, principalmente em sistemas de base agroecológica.

Além dos aspectos produtivos, este estudo reforça a relevância de práticas agrícolas sustentáveis que visam reduzir a dependência de insumos sintéticos e minimizar os impactos ambientais da produção. O uso de bioinsumos, como os EMs, integra-se aos princípios de uma agricultura regenerativa e de baixo custo, promovendo a saúde do solo, a segurança alimentar e a conservação dos recursos naturais.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Contagem de colônias viáveis em microbiologia**. Guia técnico de procedimentos laboratoriais, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa>.
- CASSÁN, F. D. et al. Plant growth promotion abilities of rhizobacteria isolated from soil of northwestern Patagonia. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 9, p. 1081–1091, 2009.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Boas práticas no transplântio de mudas hortícolas**. Circular Técnica, 2020.
- FERREIRA, A. C.; LIMA, G. R.; SILVA, J. P. Adubação e manejo nutricional da alface (*Lactuca sativa* L.): Impactos na produtividade e qualidade. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 45, n. 3, p. 120-135, 2020.
- FERREIRA, L. P.; GOMES, T. A.; SILVA, R. R. Manejo nutricional da alface: perspectivas e práticas atuais. **Revista Brasileira de Horticultura**, v. 16, n. 2, p. 234-241, 2020.
- GOMES, T. A.; PEREIRA, J. V.; LIMA, F. M. A importância nutricional da alface (*Lactuca sativa* L.). **Acta Horticulturae**, n. 1212, p. 123-129, 2018.
- HARMAN, G. E. et al. Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 43–56, 2010.
- HIGA, T.; PARR, J. F. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. **Nature Farming Research and Development Foundation**, 1994.
- HIGA, T. **An Earth Saving Revolution: A means to resolve our world's problems through effective microorganisms (EM)**. Sunmark Publishing, 1998.
- HIGA, T. **An Earth Saving Revolution: A Means to Resolve Our World's Problems Through Effective Microorganisms (EM)**. Tokyo: Sunmark Publishing, 2000.
- LIMA, A. P.; SILVA, J. F.; OLIVEIRA, A. S. Biofertilizantes e a sustentabilidade no cultivo da alface. **Agronomia Sustentável**, v. 5, n. 1, p. 12-20, 2019.
- LIMA, F. S.; OLIVEIRA, R. C.; PEREIRA, M. T. Impactos ambientais e alternativas sustentáveis no cultivo de hortaliças: O caso da alface. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 14, n. 1, p. 45-60, 2019.
- MELO, I. S. et al. Microrganismos promotores de crescimento de plantas e agentes de biocontrole: da pesquisa à aplicação. **Documentos / Embrapa Meio Ambiente**, n. 130, Jaguariúna: Embrapa, 2022.

OLIVEIRA, J. S.; SILVA, R. G.; COSTA, L. F. Eficiência dos microrganismos na agricultura sustentável: Aplicações e desafios. **Sustainable Agriculture Reviews**, v. 39, n. 2, p. 220-230, 2021.

OLIVEIRA, R. A.; COSTA, V. M.; SILVA, J. E. Efeito de microrganismos eficientes no desenvolvimento da alface. **Journal of Agricultural Science**, v. 23, n. 4, p. 112-119, 2021.

PEREIRA, R. F.; SILVA, C. L.; SOUZA, P. A. Microrganismos eficientes e sustentabilidade agrícola. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 456-462, 2020.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451 p.

RIBEIRO, C. M. et al. Aplicações de *Serratia marcescens* na agricultura: potencial biotecnológico e desafios. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 15, n. 1, p. 128–135, 2020.

RUBATZKY, V. E.; YAMAGUCHI, M. **World Vegetables: Principles, Production, and Nutritive Values**. Chapman & Hall, 1997.

SILVA, J. R.; COSTA, P. H. Microrganismos eficientes na regeneração do solo: Benefícios e limitações. **Journal of Soil and Plant Microbiology**, v. 12, n. 4, p. 310-325, 2020.

SILVA, M. J.; COSTA, D. M. Aplicação de microrganismos eficientes no cultivo de alface em sistema orgânico. **Revista de Agroecologia**, v. 12, n. 2, p. 79-87, 2020.

SINGH, A.; SINGH, S.; VERMA, R. Microbial biofertilizers: A sustainable approach for agricultural productivity. **Soil Biology**, v. 50, p. 215-226, 2016.

SINGH, P.; VERMA, R.; GUPTA, N. Effective Microorganisms (EMs): A sustainable approach for agriculture. **International Journal of Agricultural Sciences**, v. 10, n. 1, p. 25-35, 2016.

SOUZA, J. T.; COSTA, J. C.; BERTOLUCCI, M. **Microrganismos benéficos e sua interação com as plantas em diferentes condições ambientais**. Revista Agro@mbiente On-line, v. 14, n. 2, p. 1–12, 2020.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

THOMPSON, R. C.; RYDER, E. J. The lettuce crop and its history. **American Society for Horticultural Science**, v. 55, n. 1, p. 154-158, 1961.