

AValiação de Bactérias Isoladas do Soro de Leite Bovino como Bioinoculantes no Crescimento da Alface Crespa (*Lactuca sativa* L.)

Amanda Cristine Gomes da Silva*

João Carlos Maia Dornelas de Oliveira**

Resumo: A busca por alimentos orgânicos tem aumentado nos últimos anos, com isso vem se buscando alternativas naturais de fertilizantes e o soro de leite bovino que é um subproduto da produção de queijos pode ser empregado já que possui uma fonte de nutrientes e microbiota diversificada. Além de ajudar a dar uma outra alternativa de uso para esse soro pois quando descartado de forma incorreta causa danos ambientais. Realizou-se esse estudo com o objetivo de avaliar o desenvolvimento da alface crespa (*Lactuca sativa* L.) após exposição das sementes a diferentes bactérias isoladas do soro de leite bovino. O experimento foi conduzido em vasos confeccionado de garrafas tipo PET. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, perfazendo 7 tratamentos, com cinco repetições totalizando 35 vasos. Os tratamentos foram constituídos por: T1 (meio CG + estirpe B1); T2 (meio CG + estirpe B2); T3 (meio CG + estirpe B3); T4 (meio CG + estirpe B4); T5 (meio CG + estirpe B5); T6 (meio CG – controle negativo); T7 (soro de leite bovino). Foram avaliadas as variáveis: número de folhas (NF) em unidades de cada planta; comprimento de parte aérea (CPA) em cm e comprimento da raiz (CR) em cm; massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca da raiz (MFRA). O estudo não demonstrou diferença estatísticas entre os tratamentos, mas observou-se que a bactéria utilizada no tratamento T4 apresentou os maiores valores para comprimento de parte aérea (CPA) e massa fresca de parte aérea (MFPA).

Palavras Chaves: Bioinoculante; Agricultura Orgânica; Microrganismos.

*Estudante de graduação em Biotecnologia da Faculdade Ciências da Vida -FCV.
amandagomes2803@gmail.com

**Professor de graduação em Biotecnologia da Faculdade Ciências da Vida -FCV, Mestre em Ciências-UFSJ.
joaocmdo@yahoo.com.br

Abstract: The search for organic food has increased in recent years, as well as search for natural fertilizer alternatives. The bovine whey, which is a byproduct of cheese production can be used since it has a variety of nutrients and microbiota. Besides that, it also helps to give another alternative use for this serum since it causes environmental damage when discarded incorrectly. This study was carried out to evaluate the development of garden lettuce (*Lasctuca sativa* L.) after exposure of seeds to different bacteria isolated from bovine whey. The experiment was conducted in pots made of plastic bottles “PET”. The experimental design was used in randomized blocks, totalizing 7 treatments, with five replicates resulting in 35 pots. The treatments consisted of: T1 (CG medium + B1 strain); T2 (CG medium + B2 strain); T3 (CG medium + B3 strain); T4 (CG medium + B4 strain); T5 (CG medium + B5 strain); T6 (CG medium – negative control); T7 (bovine whey). The following variables were evaluated: the number of leaves (NF) in units of each plant; area length (CPA) in cm and root length (CR) in cm; fresh mass area (MFPA) and fresh root mass (MFRA). The study showed no significant difference between treatments. However it was observed that the bacterium used in the T4 treatment has presented the highest values for area length (CPA) and fresh shoot mass (MFPA).

Keywords: Bioinoculant; Organic agriculture; Microorganisms.

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda de utilização de agroquímicos para garantir o abastecimento alimentar da populacional mundial tem causado preocupação devido aos danos que estes compostos químicos podem causar a saúde humana e ao ambiente (ANVISA, 2011; RIGOTTO, 2012). Atualmente o Brasil tem assumido o topo da liderança mundial em consumo de defensivos agrícolas, fato este que tem despertado o interesse pela busca de novas alternativas de cultivo (DE PAULA *et al.*, 2011; Brasil, 2013), dentre as quais se destaca a agricultura orgânica (MANTOVANI *et al.*, 2015).

O cultivo livre de agentes químicos preconizado em hortas orgânicas tem crescido recentemente devido este método não causar impactos ao meio ambiente (PENTEADO, 2010; DE PAULA *et al.*, 2011). Contudo, novos meios de cultivo para aumentar a produtividade neste modelo, como as tecnologias biológicas, se fazem necessária (BARBOSA & FALESI, 2011). Neste sentido, fontes naturais, como o soro de leite bovino tem se mostrado como um recurso

viável e sustentável para uso em cultivos orgânicos devido a suas propriedades físico-químicas (CLEMENTIN, 2014) e presença de bactérias (DESCONSI *et al.*, 2014).

O uso de bactérias que potencializam o crescimento e desenvolvimento de plantas é bastante difundido na agricultura podendo este recurso natural ser empregado como biofertilizante no cultivo de hortaliças, dentre as quais se destaca a alface (*Lactuca sativa* L.) que é cultivada durante o ano inteiro e de fácil adaptação às mais variadas condições climáticas além de ser uma espécie vegetal de grande importância econômica e social (MEDEIROS *et al.*, 2007; HUNGRIA, 2011; LIN *et al.*, 2013; GIRIO *et al.*, 2015; VALERIANO *et al.*, 2016) .

Diante do exposto, o presente estudo apresenta a seguinte problemática: qual o potencial das bactérias presentes em soro de leite bovino em potencializar o crescimento e desenvolvimento de plantas? Desta forma, levantou-se a hipótese de que diante da alta disponibilidade de nutrientes existentes no soro de leite bovino haveria uma variabilidade genética de bactérias com capacidade de promover o crescimento e desenvolvimento de plantas. Para testar essa hipótese, esse trabalho objetivou avaliar o desenvolvimento da alface crespa (*Lactuca sativa* L.) após exposição das sementes a diferentes bactérias isoladas do soro de leite bovino. A fim de responder os objetivos, propôs-se a utilização de metodologia descritiva, com caráter qualitativo e semiquantitativo, e corte transversal.

Este trabalho é de grande importância, visto que a substituição ou diminuição do uso de agroquímicos na agricultura atual se faz necessária em virtude dos danos causados, principalmente, a saúde humana e animal e ao meio ambiente. Estudos de prospecção de bactérias obtidas do soro de leite bovino com potencial para uso como biofertilizante ainda são escassos na literatura. Desta forma, a busca de estirpes com alto potencial biotecnológico que, futuramente, poderão ser empregadas como ferramentas ecológicas e sustentáveis se faz necessário para suprir a crescente demanda de produção de alimentos requeridos com o crescimento populacional.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1.O uso dos agroquímicos e seus impactos ambientais

Os agroquímicos são substâncias químicas amplamente empregadas no controle de pragas ou doenças vegetais com o objetivo de diminuir e até mesmo eliminar possíveis problemas que interferem no processo de produção agrícola (ROSEGRANT *et al.*, 2014;

ALORI & BABALOLA, 2018). No entanto, quando estes agentes químicos não possuem boa seletividade, podem causar danos ao meio ambiente, devido a sua elevada toxicidade além de reduzir o potencial produtivo das culturas (EMBRAPA, 2019a).

Atualmente a intensificação da produção em larga escala de alimentos é baseada nas indústrias de agroquímicos, pesticidas e fertilizantes químicos, que causam danos à saúde dos produtores e consumidores, devido à intoxicação causada, principalmente, pela absorção das moléculas por meio da pele, couro cabeludo, inalação e alimentação (ANVISA, 2011; PANCOTTO, 2013) e possível agente causador de doenças como o câncer, pois alguns agrotóxicos possuem dioxinas em sua composição, que são substâncias carcinogênicas (INACIO, 2011; BECK, 2013). Com relação aos defensivos químicos ainda são relatados impactos ambientais como contaminação de cursos d'água, lençóis freáticos e solos (NETTO, 2009; RIGOTTO, 2012) e alterações negativa nas comunidades microbianas do ambiente (ZILLI *et al.*, 2008; MORAES, ROSSI, 2010).

Rigotto (2012) justifica que a utilização dos agrotóxicos está atrelada à alta demanda de alimentos exigida pelo crescimento da população mundial. O uso de agroquímicos no Brasil dobrou nos últimos anos e, atualmente, o país encontra-se no topo da liderança mundial em consumo de defensivos agrícolas (FARIA, FASSA, FACCHINI, 2006; SOARES, 2010; BRASIL, 2013; RIGOTTO *et al.*, 2014). Neste sentido, o uso excessivo desses defensivos na agricultura é uma preocupação global devido à contaminação ambiental e humana o que torna a agricultura orgânica uma alternativa viável e sustentável para produção de alimentos livres de moléculas prejudiciais (GONELLA *et al.*, 2002; DE PAULA *et al.*, 2011).

2.2.Hortas Orgânicas

A preocupação do consumidor com a saúde, qualidade dos alimentos que consomem e meio ambiente tem aumentado recentemente e, com isto, a produção em sistema orgânico têm ganhado destaque mundialmente (SEDIYAMA *et al.*, 20014). A crescente disseminação de hortas orgânicas surge como uma alternativa de minimizar a utilização de agroquímicos ou outros produtos industrializados, causando menos impactos ao meio ambiente (PENTEADO, 2010; DE PAULA *et al.*, 2011).

O sistema de produção orgânico é usado, especialmente, por agricultores familiares, que por sua vez, não fazem uso de tecnologias que refletem na modernização do campo e na alta produtividade de suas culturas (DE PAULA *et al.*, 2011). Com a elevada procura da população

por alimentos orgânicos, pesquisas para o desenvolvimento de métodos de produção mais sustentáveis se fazem necessárias (SEDIYAMA *et al.*, 20014).

Barbosa e Falesi (2011) defendem que os agricultores precisam de novas tecnologias para aumentar a sua produção, como as tecnologias biológicas. Neste contexto, o soro de leite bovino tem surgido como uma fonte natural para uso em cultivos orgânicos devido a suas propriedades físico-químicas e microbiológicas de interesse agrícola (CLEMENTIN, 2014).

2.3.Soro de Leite Bovino

Com uma produção, de aproximadamente, 867 mil toneladas/ano de queijo, o Brasil se consolida como quarto maior produtor mundial (ABIQ, 2014). Como subproduto do queijo, o soro de leite é produzido após o processo de coagulação da matéria-prima (BRASIL, 2013), sendo que a cada dez litros de leite usados na fabricação de um quilo de queijo, são gerados cerca de nove litros de soro como subproduto (MOREIRA *et al.*, 2010).

Atualmente, cerca de 40% do soro de leite produzido no Brasil é descartado de forma incorreta, principalmente pelas pequenas e médias empresas (MARQUARDT *et al.*, 2012), sendo este rejeito industrial causador de sérios danos ambientais, devido a sua alta decomposição bioquímica de oxigênio (DBO) que chega a ser de dez a cem vezes maior que a do esgoto doméstico (MOREIRA *et al.*, 2010; DE PAULA *et al.*, 2011).

Devido a sua diversificada fonte de nutrientes uma alternativa barata e eficiente seria o emprego do soro na agricultura como fertilizante (MANTOVANI *et al.*, 2015). Além de existir em sua composição o nitrogênio (N) e o potássio (K) considerados elementos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, os aminoácidos também podem auxiliar nestes processos vegetais (GHERI *et al.*, 2003). De Paula e colaboradores (2011) reportaram que a substituição da solução nutritiva para produção de forragem hidropônica de milho por soro de leite diluído a 20% em água é viável. Além disto, observaram alterações nos teores de alguns nutrientes existentes na planta. O aumento na produção de matéria seca e o acúmulo de nutrientes na parte aérea de plantas de milho também foram descritos por Mantovani e colaboradores (2015).

Além disso, avaliações microbiológicas em soro de leite revelaram a existência de bactérias aeróbicas mesófilas (DESCONSI *et al.*, 2014). O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas, produtoras de fitohormônios e fixadoras de nitrogênio, tais como aquelas pertencentes ao gênero *Azospirillum*, é amplamente difundido na agricultura, por ser

uma estratégia sustentável e eficiente podendo este recurso biológico ser aplicado como biofertilizante no cultivo de diversas hortaliças, tais como a alface (MEDEIROS *et al.*, 2007; HUNGRIA, 2011; GIRIO *et al.*, 2015).

2.4. Alface Crespa (*Lactuca sativa* L.)

A alface (*Lactuca sativa* L.), pertencente à família *Asteracea*, é uma das hortaliças folhosas mais cultivadas mundialmente, tendo muita importância econômica e social, sendo a mais popular dentre as verduras (LIN *et al.*, 2013; VALERIANO *et al.*, 2016). De acordo com Medeiros e colaboradores (2007), a alface é uma das hortaliças preferida pelos pequenos produtores, pois são de fácil adaptação as mais variadas condições climáticas além de exigirem baixo investimento para produção e terem a comercialização segura.

É uma planta herbácea de ciclo anual, com caule pequeno ao qual se prendem as folhas em forma de roseta (HENZ & SUINAGA, 2009) com preferência por substrato rico em matéria orgânica (FILGUEIRA, 2007). A alface do grupo crespa é a mais comercializada tendo 70% no mercado brasileiro, logo atrás vem a do grupo americana (15%), grupo lisa (10%) e grupo romana (SUINAGA *et al.*, 2013).

Apesar de poder ser cultivada durante o ano inteiro é uma espécie vegetal que apresenta algumas restrições, como temperatura abaixo de 10 °C e acima de 20 °C, umidade do ar e precipitação pluvial prolongada (GOMES *et al.*, 2005). Estes fatores abióticos podem causar o retardamento ou aceleração do ciclo da alface, causando pendoamento precoce (HENZ & SUINAGA, 2009), às vezes deixando as pontas das folhas queimadas, e contribuindo para a deficiência de cálcio também chamada como “*tipburn*” (TURINI *et al.*, 2011).

3. METODOLOGIA

O presente estudo baseou-se em experimentos qualitativos e semiquantitativos e a pesquisa descritiva foi utilizada como ferramenta de metodologia (ZANETTE, 2017). A amostra de soro de leite bovino utilizada neste experimento foi obtida a partir da produção de queijo artesanal de uma produtora da região de Sete Lagoas, Minas Gerais. Os ensaios biológicos foram efetuados em parceria com a EMBRAPA Milho e Sorgo e com o laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais.

3.1. Isolamento e caracterização das bactérias do soro de leite bovino

Uma amostra de 1 mL do soro de leite bovino, acondicionada em frasco estéril, foi acrescida de 9 mL de solução salina 0,85% estéril e, em seguida, homogeneizada. Posteriormente, uma alíquota de 1mL da solução foi submetida à diluição seriada até a série 10^{-3} (1:1000) onde uma alíquota de 100µL de cada diluição foi plaqueada em meio Batata Dextrose Ágar – BDA (KASVI), através do método de espalhamento em superfície sendo as placas, posteriormente, incubadas a 37°C por 24-48 horas. Todo o procedimento foi realizado em triplicata (HUNGRIA; ARAUJO, 1994).

Realizada a obtenção, as estirpes selecionadas foram submetidas à avaliação dos aspectos macro e micromorfológicos, conforme descrito por Shirling & Gottlieb (1966). Em seguida, foi confirmada a pureza da colônia com teste de coloração de Gram sendo uma alíquota pura repicada em tubo contendo o mesmo meio de cultura, e mantido inclinado, para posterior utilização no preparo do inóculo.

3.2. Preparo do inóculo

A amostra bacteriana foi cultivada em meio Luria Bertani – LB (KASVI) e incubada por 72 horas a 37°C. Após a incubação, as colônias foram suspensas em 5 mL de meio líquido CIRCLEGROW – CG (MP), homogeneizadas e incubadas a 28°C por 24 horas. Em seguida, os inóculos foram padronizados por meio de leitura de suspensão pela transmitância no espectrofotômetro, com o comprimento de 600nm, atingindo uma concentração de 50-59%, o que corresponde a 1×10^8 células/mL (CLSI, 2008).

3.3. Avaliação do crescimento de mudas de alface crespa

O experimento foi conduzido em área aberta domiciliar, em Sete Lagoas, MG (19°28'4" de latitude Sul, 44°14'52" de longitude Oeste e com altitude média de 751m), no período de 05 de maio a 02 de junho de 2020. O clima da região é do tipo subtropical úmido, conforme a classificação climática global de Köppen e se caracteriza por temperaturas médias entre 0 °C ou -3 °C e 18 °C no mês mais frio e temperaturas médias de 22 °C ou superior, no mês mais quente.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, perfazendo 7 tratamentos, com cinco repetições. Os tratamentos foram constituídos por: T1 (meio CG + estirpe B1); T2 (meio CG + estirpe B2); T3 (meio CG + estirpe B3); T4 (meio CG + estirpe B4); T5 (meio CG + estirpe B5); T6 (meio CG – controle negativo); T7 (soro de leite bovino).

Primeiramente, as sementes da alfaca foram adicionadas aos tubos estéreis contendo os diferentes tratamentos (T1 à T7) e, após 2 horas, 5 sementes foram semeadas em cada vaso contendo substrato comercial (Tropstrato HA®). Os vasos utilizados neste experimento foram confeccionados a partir de garrafas descartáveis tipo PET com capacidade para 2 L, conforme descrito por Santos *et al.* (2009) e após serem preenchidos com substrato, os mesmos foram submetidos a irrigação antes da semeadura. Durante a condução do experimento, foram realizadas irrigações diárias para repor a água evapotranspirada.

A coleta das mudas para a análise do crescimento foi realizada 28 dias após a semeadura, sendo, primeiramente, feita a higienização das amostras em água corrente para eliminar o substrato aderido as raízes. Em seguida, as mudas foram submetidas a avaliação, onde foram observadas as seguintes variáveis: número de folhas (NF) em unidades de cada planta; comprimento de parte aérea (CPA) em cm e comprimento da raiz (CR) em cm, com auxílio de régua graduada; massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca da raiz (MFRA) em gramas, após serem pesadas em balança analítica com precisão de 0,001g (SILVA *et al.*, 2017).

3.4. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, por meio do *software* SISVAR® 5.3 (FERREIRA, 2010).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização morfológica das bactérias obtidas de soro de leite bovino

No presente estudo, foram identificadas 11 colônias de microrganismos distintos após o isolamento realizado da amostra de soro de leite bovino. Contudo, após avaliação das características micromorfológicas destes isolados, observou-se que apenas 05 eram representantes de bactérias. Este resultado corrobora com os dados apresentados por Alves e colaboradores (2014) que relatam a existência de bactérias entre os microrganismos presentes

no soro de leite. Os dados referentes aos aspectos macro e micromorfológicas dos isolados, encontram-se apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação morfológica das colônias bacterianas isoladas da compostagem.

Colônias	Características Culturais				
	Macromorfologia			Micromorfologia	
	Cor	Borda	Elevação	Morfologia	Gram
B1	Branca	Redonda	Convexa	Estreptococos	Gram-positivo
B2	Branca	Redonda	Convexa	Bacilos	Gram-negativo
B3	Branca	Irregular	Plana	Estafilococos	Gram-positivo
B4	Branca	Redonda	Convexa	Cocos	Gram-positivo
B5	Branca	Irregular	Plana	Bacilos	Gram-negativo

Não foi observada na variação de cor entre as colônias isoladas, sendo que todas as apresentaram padrão de coloração branco. Com relação à borda e elevação das estirpes, houve predominância de formato redondo (60,0%) e colônias convexas (60,0%). A baixa variabilidade apresentada pelos isolados pode estar associada à modificação adaptativa ao meio de cultura utilizado e condições de cultivo (YOUNG, 2007).

Os isolados selecionados foram submetidos a análise das características micromorfológicas (Tabela 1) em microscópio ótico após a confecção das lâminas coradas conforme o Método de coloração de Gram proposto por Shirling & Gottlieb (1966). Apesar de os isolados não terem apresentado elevada diversidade macromorfológica, revelou-se a presença de quatro morfótipos distintos, sendo bacilos (40,0%), cocos (20,0%), estafilococos (20,0%) e estreptococos (20,0%). Entre as estirpes avaliadas, neste estudo, observou-se a predominância de bactérias Gram-positivas (60,0%). Segundo Loperena *et al.* (2007) a presença de bacilos em resíduos de laticínios é bastante comum pois estes microrganismos possuem elevada capacidade em produzir enzimas lipolíticas que atuam na degradação de ácidos graxos presentes no leite.

4.2. Avaliação dos parâmetros de crescimento das mudas de alface crespa

Os parâmetros de crescimento de plantas avaliados não diferiram estatisticamente entre si, mostrando que os tratamentos apresentados não forneceram subsídios necessários para o desenvolvimento destes componentes, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Avaliação dos componentes de promoções do crescimento de plantas (número de folhas, comprimento da parte aérea, comprimento da raiz, peso da parte aérea e peso da raiz) de *Lactuca sativa* L., mensuradas após 28 dias de semeadura.

Tratamentos	Média dos componentes de promoção do crescimento				
	NF	CPA	CR	MFPA	MFRA
T1 (meio CG + estirpe B1)	3,0a	6,9a	5,5a	222,7a	31,6a
T2 (meio CG + estirpe B2)	3,0a	6,4a	5,5a	169,6a	19,9a
T3 (meio CG + estirpe B3)	3,0a	6,9a	6,9a	210,4a	18,6a
T4 (meio CG + estirpe B4)	3,0a	7,6a	5,0a	263,2a	25,7a
T5 (meio CG + estirpe B5)	3,0a	6,7a	5,9a	200,3a	24,4a
T6 (meio CG)	2,8a	6,5a	5,5a	202,6a	19,9a
T7 (soro de leite bovino)	3,0a	6,4a	4,8a	163,0a	20,7a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apesar da utilização de microrganismos como inoculantes biológicos ser uma estratégia bem difundida, o substrato empregado na condução do experimento e o método de inoculação são fatores que podem limitar o desempenho das plantas diretamente para a manutenção da microbiota uma vez que fornecerá os nutrientes necessários para o desenvolvimento dos organismos (GUIMARÃES *et al.*, 2007).

No presente estudo foi utilizado substrato comercial podendo este ter sido um dos possíveis fatores limitantes para o processo de interação planta-microrganismo. Leal *et al.* (2007) ao compararem o desempenho de plantas de alface cultivadas em substrato orgânico e substrato comercial notaram que as plantas cultivadas no substrato rico em matéria orgânica apresentaram melhor desempenho com relação as variáveis avaliadas. Resultados semelhantes também foram observados na cultura de plantas de alface cultivar Babá de Verão (CALADO *et al.*, 2011) e cultivar Elba (SILVA *et al.*, 2017).

De acordo com Do Nascimento *et al.* (2005), a matéria orgânica presente no substrato promove o crescimento da população microbiana benéfica às culturas agrícolas. Neste contexto, este produto derivado do processo de decomposição é rico em carboidratos, proteínas e ácidos

orgânicos que são fontes nutritivas apropriadas para o metabolismo dos microrganismos (DINIZ *et al.*, 2010).

Embora não tenha ocorrido diferença estatística entre as variáveis avaliadas, nota-se que o tratamento T4 apresentou o maior valor para CPA (7,6 cm) e MFPA (263,2 mg) e um dos menores valores para CR (5,0 cm) comprovando que a utilização de 10^8 células/mL da estirpe B4 para a formulação do inóculo promoveu menor investimento energético pela planta no sistema radicular e, por outro lado, maior ganho no aumento da parte aérea. Em um estudo com bioinoculante produzido a partir de bactérias endofíticas promotoras de crescimento, Souza *et al.*, (2016) observaram o melhor desempenho de plantas de bananeira com o uso de uma suspensão contendo 10^8 células/mL aplicada a cada 15 dias sobre as plantas. Neste sentido, a concentração de células presentes no inóculo encontra-se adequada para o desenvolvimento do trabalho. No entanto, o método de inoculação utilizado pode de algum modo, ter influenciado no processo de interação microrganismo-planta.

Neto *et al.* (2008) obteve melhor resultado na cultura da soja com a aplicação do bioinoculante, na concentração bacteriana de $2,0 \times 10^9$ células/mL, no sulco de semeadura. Em um experimento com feijão-caupi, Souza e Moreira (2011) observaram melhor desempenho das plantas com o inóculo de 10^9 células/g aplicado nas sementes imediatamente antes da semeadura. Nogueira (2019) observou que após a inoculação de *Azospirillum brasiliense* sp. 245, com preparo prévio do inoculante em melado, em sementes de alface crespa cultivada e semeadas em substrato orgânico responderam positivamente em relação ao grupo não inoculado. Deste modo, é possível compreender que a concentração de células no inóculo, modo de preparo do inoculante e o método de inoculação são fatores que podem limitar o desempenho das plantas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No soro de leite bovino utilizado existe baixa variabilidade genética de bactérias em relação às características morfológicas analisadas. Apesar de não haver diferença estatística entre os tratamentos, observou-se que a bactéria utilizada no tratamento T4 apresentou os maiores valores para comprimento de parte aérea (CPA) e massa fresca de parte aérea (MFPA). O composto substrato comercial pode ter sido uma limitação no presente estudo, no que tange a riqueza de nutrientes disponível para os microrganismos. Deste modo, sugere-se que, na realização de trabalhos futuros, seja utilizado substrato rico em matéria orgânica e diferentes

métodos de inoculação para avaliar a interação microrganismo-planta. O presente estudo contribui com a busca por linhagens de microrganismos potencialmente promotores de crescimento de plantas em fontes naturais ainda pouco exploradas.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, Keila Emílio de; BONASSI, Ismael Antonio; ROÇA, Roberto de Oliveira. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Food Science and Technology**, v. 21, n. 2, p. 187-192, 2001.
2. ALORI, Elizabeth Temitope; BABALOLA, Olubukola Oluranti. Microbial inoculants for improving crop quality and human health in Africa. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2213, 2018.
3. ALVES, Maura Pinheiro et al. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014.
4. ANVISA (Brasil). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência Geral de Toxicologia. Relatório de atividades de 2010. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA). Brasília, DF, 2011.
5. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO (ABIQ) 2014. Destaques. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br>>. Acesso em: 2 nov. 2019.
6. BECK, P. C. L. A produção de tabaco e as doenças que afetam os agricultores pela exposição ocupacional. 2013. 44 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Desenvolvimento Rural) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Cachoeira do Sul, 2013.
7. BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. **Boletim epidemiológico**. Vol. 44. N. 17. BRASIL, 2013a. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/junho/11/BE-2013-44--17----Agrotxicos.pdf>>. Acesso em 02-10-2019
8. CALADO TB; BARROS AP; SILVEIRA LM; ROCHA AT; FERRAZ APF; SOUZA EGF; SÁ ACL. 2011. Avaliação do desenvolvimento de mudas de alface cultivar

- Babá de Verão em diferentes substratos formulados com esterco ovino. *Horticultura Brasileira* 29: S2834-S2839
9. CARVALHO FILHO J. L. S.; GOMES L. A. A. e MALUF W.R. Tolerância ao florescimento precoce e características comerciais de progênes F4 de alface do cruzamento Regina 71 x Salinas 88. *Acta Scientiarum Agronomy*, 31:37-42, 2009.
 10. CLEMENTIN, Natália. Orgânicos apresentam expansão na produção e interesse de consumo. G1, Rio Preto e Araçatuba, 04 jan. 2014.
 11. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard-Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
 12. DINIZ, Patrícia Fabian de Araújo et al. Crescimento, parâmetros biofísicos e aspectos anatômicos de plantas jovens de seringueira inoculadas com fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum*. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 1, p. 65-72, 2010.
 13. DESCONSI, Ana Cláudia; IZÁRIO FILHO, Hécio José; SALAZAR, Rodrigo Fernando dos Santos. Avaliação físico-química e microbiológica do soro de leite concentrado obtido por osmose inversa. **Revista Ambiente & Água**, v. 9, n. 2, p. 325-335, 2014.
 14. EMBRAPA. Agência Embrapa de informação tecnológica. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000foh4r3zj02wyiv8065610du9yk7ux.html#fig6>>. Acesso em: 2 nov. 2019a.
 15. FARIA, Neice Müller Xavier; FASSA, Anaclaudia Gastal; FACCHINI, Luiz Augusto. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 25-38, 2007.
 16. FERREIRA, D. F. SISVAR - Sistema de análise de variância. Versão 5.3. DEX. Lavras/MG: UFLA, 2010.
 17. FILGUEIRA, F.A.R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Editora UFV: Viçosa, 421p. 2007.
 18. GHERI, Emerson de Oliveira; FERREIRA, Manoel Evaristo; CRUZ, Mara Cristina Pessoa da. Resposta do capim-tanzânia à aplicação de soro ácido de leite. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 6, p. 753-760, 2003.
 19. GIRIO, L. A. S.; DIAS, F. L. F.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; SCHULTZ, N.; BOLONHEZI, D.; MUTTON, M. A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação

- nitrogenada no crescimento inicial de cana de açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.50, n.1, p.33-43, jan. 2015.
20. GOMES TM, MODOLO VA, BOTREL TA & OLIVEIRA RF (2005) Aplicação de CO₂ via água de irrigação na cultura da alface. **Horticultura brasileira**, v. 23, n. 2, p. 316-319, 2005.
21. GONELLA, C.; PÉREZ, L.; HERNÁNDEZ, R.; HOMSE, A.; GÓMEZ, P.; ROSSO, O. Producción de carne em sistemas ecológicos. **Revista de Informacion sobre Investigacion y Desarrollo Agropecuario**, v.2, p.73-78, 2002.
22. GUIMARÃES, Salomão Lima et al. Adição de molibdênio ao inoculante turfoso com bactérias diazotróficas usado em duas cultivares de arroz irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 3, p. 393-398, 2007.
23. HENZ, Gilmar Paulo; SUINAGA, F. Tipos de alface cultivados no Brasil. Comunicado Técnico 75, Embrapa: Brasília, DF, 7p. 2009.
24. HUNGRIA, Mariangela. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina. Embrapa-CNPSO, 36 p. 2011. (Embrapa-CNPSO, Boletim técnico, 325).
25. HUNGRIA, Mariangela.; ARAUJO, R. S. Microrganismos de importância agrícola. **Brasília: Embrapa SPI**, 1994. (Embrapa, Documentos, 44).
26. INÁCIO, Alan Ferreira et al. **Exposição ocupacional a agrotóxicos e nicotina na cultura do fumo no município de Arapiraca-AL**. 2011. 113 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.
27. KANO, Cristiaini; CARDOSO, Antonio Ismael Inácio; VILLAS BÔAS, Roberto L. Influência de doses de potássio nos teores de macronutrientes em plantas e sementes de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 287-291, 2010.
28. Kuhnen, F. Mineralização do nitrogênio do soro ácido de leite. Jaboticabal: UNESP, 45p. Dissertação Mestrado. 2010.
29. LEAL, MA de A. et al. Utilização de composto orgânicos como substratos na produção de mudas de hortaliças. In: **Embrapa Solos-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Horticultura Brasileira, v. 25, n. 3, p. 392-395., jul./set. 2007., 2007.
30. LIN, K. H.; HUANG, M. Y.; HUANG, W. D.; HSU, M. W.; YANG, Z. W.; YANG, C. M. The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. capitata). **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 86–91, 2013.

31. LOPERENA, L.; FERRARI, M. D.; SARAVIA, V.; MURRO, D.; LIMA, C.; FERRANDO, L.; FERNÁNDEZ, A.; LAREO, C. Performance of a commercial inoculum for the aerobic biodegradation of a high fat content dairy wastewater. **Bioresource Technology**, Fayetteville, v.98, p.1045-1051, 2007.
32. Magalhães, K. T.; Dragone, G.; Pereira, G. V. M.; Oliveira, J. M.; Domingues, L.; Teixeira, J. A.; Silva, J. B. A.; Schwan, R. F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, v.126, p.249-253, 2011.
33. MANTOVANI, J. R.; CARRERA, M.; LANDGRAF, P. R. C.; JOSÉ, M.; MIRANDA, J. M. Soro ácido de leite como fonte de nutrientes para o milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v.19, n.4, p.324–329, 2015.
34. MARQUARDT, Liliane et al. Indústrias lácteas: alternativas de aproveitamento do soro de leite como forma de gestão ambiental. **Tecno-Lógica**, v. 15, n. 2, p. 79-83, 2011.
35. MEDEIROS, Damiana Cleuma de et al. Produção de mudas de alface com biofertilizantes e substratos. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 433-436, 2007.
36. MORAES, P. V. D.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 9, n. 3, p. 22-35, 2010.
37. MOREIRA, Ricardo Wagner Mori et al. Avaliação sensorial e reológica de uma bebida achocolatada elaborada a partir de extrato hidrossolúvel de soja e soro de queijo. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 32, n. 4, p. 435-438, 2010.
38. NASCIMENTO, Adelina M. et al. Química e Meio Ambiente: Reciclagem de lixo e química verde: papel, vidro, pet, metal, orgânico. **Secretaria de Educação: Curso Formação Continuada Ciências Da Natureza, Matemática E Suas Tecnologias**, 2005.
39. NETTO, G. F. Meio ambiente, saúde e desenvolvimento sustentável. **Ciência & saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 6, p. 1975-1982, Dez. 2009.
40. Neto, S. A. V., Pires, F. R., Menezes, C. C. E., Menezes, J. F. S., Silva, A. G., Gilson Pereira Silva, G. P., Assis, R. L. FORMAS DE APLICAÇÃO DE INOCULANTE E SEUS EFEITOS SOBRE A NODULAÇÃO DA SOJA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 2, p. 861-870, 2008.

41. NOGUEIRA, Elder Dias. Avaliação de Parâmetros de Crescimento da Alface (*Lactuca sativa*) Inoculada Com *Azospirillum Brasiliense* Estirpe SP. 245. 2019.
42. NUNES, R. de C. et. al. Levantamento de raças do agente causador do míldio da alface no Estado de São Paulo em 2012 e 2013. **Summa Phytopathologic**. v.42, n.1. Botucatu. Mar. 2016.
43. PANCOTTO, L. Presença de transtornos mentais comuns e do uso de agrotóxicos no município de Monte Belo do Sul-RS: em estudo exploratório. 2013. 51 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Saúde Pública) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.
44. PAULA, Leila de et al. Crescimento e nutrição mineral de milho forrageiro em cultivo hidropônico com soro de leite bovino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 9, p. 931-939, 2011.
45. PAULA, José Roberto de et al. Mineralização do carbono e nitrogênio de resíduos aplicados ao solo em campo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 6, p. 1729-1741, 2013.
46. PENTEADO, Silvio Roberto. Horta doméstica e comunitária sem veneno: cultivo ecológico em pequenos espaços. Campinas: **Via Orgânica**, 3. ed. 312 p. 2010.
47. RIGOTTO, Raquel Maria et al. O verde da economia no campo: desafios à pesquisa e às políticas públicas para a promoção da saúde no avanço da modernização agrícola. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 6, p. 1533-1542, 2012.
48. RIGOTTO, Raquel Maria; VASCONCELOS, Dayse Paixão; ROCHA, Mayara Melo. Pesticide use in Brazil and problems for public health. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, p. 1360-1362, 2014.
49. ROSEGRANT, Mark W. et al. **Food security in a world of natural resource scarcity: The role of agricultural technologies**. Intl Food Policy Res Inst, 2014. Washington, D.C, p. 250. 2014.
50. SANTOS, CE de R. et al. Modificação de vasos de Leonard com garrafas descartáveis tipo Pet. **Embrapa Agrobiologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2009.
51. SHIRLING, EB T.; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species1. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 313-340, 1966.
52. Silva, E. C.; Marques, A. N. S.; Leonel, L. V. AVALIAÇÃO DE MUDAS DA ALFACE CV. ELBA (*Lactuca sativa* L.) EM DIFERENTES SUBSTRATOS.

- Cultura Agronômica: Revista de Ciências Agronômicas**, Ilha Solteira, v.26, n.4, p.520-529, 2017
53. SOARES, W.L. ministério da saúde. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, Rio de janeiro,2010. Disponível em <bvssp.icict.fiocruz.br> Acesso em: 2 nov. 2019.
54. SOUZA, GLEIKA LARISSE OLIVEIRA DORASIO DE et al. Endophytic bacteria used as bioinoculants in micropropagated banana seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 2, 2017.
55. Souza, P. M. & Moreira, F. M. S. Potencial economico da inoculação de rizobios em feijão-caupi na agricultura familiar: um estudo de caso. Em Extensão, Uberlandia, v. 10, n. 2, p. 37-54, 2011.
56. SUINAGA, F. A. Desempenho produtivo de cultivares de alface crespa. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2013, 15p.
57. Turini T, Cahn M, Cantwell M, Jackson L, Koike S, Natwick E, Smith R, Subarrao K & Takele E (2011) Iceberg lettuce production in California. Disponível em: <<http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/7215.pdf>>. Acessado em: 25 de maio de 2020.
58. VALERIANO, Taynara Tuany Borges et al. Alface americana cultivada em ambiente protegido submetida a doses de potássio e lâminas de irrigação. **Irriga**, v. 21, n. 3, p. 620-620, 2016.
59. YOUNG, Kevin D. Bacterial morphology: why have different shapes?. **Current opinion in microbiology**, v. 10, n. 6, p. 596-600, 2007.
60. ZANETTE, Marcos Suel. Pesquisa qualitativa no contexto da Educação no Brasil. **Educar em Revista**, n. 65, p. 149-166, 2017.
61. ZILLI, Jerri Édson et al. Efeito de glyphosate e imazaquin na comunidade bacteriana do rizoplano de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e em características microbiológicas do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 2, p. 633-642, 2008.