

Revista Brasileira de Ciências Biológicas

ISSN 3085-8100

vol. 2, n. 1, 2026

... ARTIGO 5

Data de Aceite: 10/02/2026

INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS EM DIFERENTES FORMULAÇÕES DE FERTILIZANTES ORGANOMINERAIS: UMA ANÁLISE EXPLORATÓRIA

Natália Ledebuhr Dos Santos

Ezequiel César Carvalho Miola



Todo o conteúdo desta revista está licenciado sob a Licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

Resumo: Fertilizantes organominerais vem se destacando no cenário agrícola como uma alternativa sustentável para substituição parcial ou total dos fertilizantes minerais convencionais. Além disso, o uso de inoculantes, que contêm microrganismos benéficos para as lavouras, aparece objetivo estudar como outra opção sustentável, pois podem promover o crescimento e a saúde das plantas. Nesse sentido, o trabalho teve como objetivo fazer uma revisão bibliográfica sobre o uso de inoculante em fertilizantes organominerais e também testar a viabilidade da inoculação de três espécies de *bacillus*, sendo eles: (*B. megaterium*, *B. subtilis* e *B. aryabhattai*). O estudo experimental foi desenvolvido no laboratório de microbiologia do solo, sendo realizado em diferentes concentrações de fertilizantes organominerais a base de NPK (02-10-10, 04-14-08, 05-15-15 e 10-10-10), tempo de armazenamento do fertilizante mais o inoculante (Tempos 0: misturou-se o inoculante ao fertilizante e procedeu-se a análise; Tempo 5: misturou-se o inoculante ao fertilizante, armazenou-se a mistura por cinco dias e procedeu-se a análise; Tempo 7: misturou-se o inoculante ao fertilizante, armazenou-se por sete dias e procedeu-se a análise) com o fertilizante e somente o inoculante em distintos tempo de incubação (20, 21, 47 e 48 horas), sempre em modo de triplicata e sistema controle negativo para analisar possíveis contaminações. Ao longo do estudo, foram realizadas seis etapas de testes. No primeiro teste houve contaminação nas placas, onde os resultados não puderam ser contabilizados. Do segundo ao quinto teste houve crescimento acelerado em pouco tempo de incubação na maioria das placas, mas por outro lado, algumas não apresentaram nenhum crescimento, além disso, houve crescimento nas

placas que continham somente fertilizante sem o inoculante. No sexto e último teste do estudo, o método do teste foi modificado, aumentando a dose de inoculante e autoclavando o ferti, porém, os resultados não foram muito promissores. Ao final dos testes, pode-se concluir que as inoculações não demonstraram os resultados esperados, mas novas pesquisas com outros organominerais e outras doses de inoculantes podem incrementar os resultados já obtidos.

Palavras-chave: fertilizantes organominerais, sustentável, inoculante.

INTRODUÇÃO

Práticas agrícolas convencionais frequentemente usam fertilizantes químicos para aumentar a produtividade, mas estas têm inúmeros efeitos negativos ao meio ambiente e na saúde das pessoas (Shahwar et al., 2023). Tal fato tem sido destacado por inúmeros pesquisadores que descrevem as mudanças promovidas no final da década de 1950 e início da década de 1960, com a adoção de um modelo agrícola que passou a se caracterizar pela associação de insumos químicos, mecânicos e biológicos, promovendo uma intensa padronização das práticas agrícolas e artificialização do ambiente natural. Esse sistema ficou conhecido como “Revolução Verde” (Caporal e Costabeber, 2001).

A integração das ferramentas biotecnológicas nos sistemas de cultivo e as mudanças tecnológicas promovidas pela evolução do conhecimento científico e pela estratégia de valorização de ativos observadas a partir da década de 90, ampliaram as possibilidades de desenvolvimento de genótipos mais tolerantes a estresses bióticos e abióticos, cultivares mais produtivas,

controle biológico e sistemas de fertilização sustentáveis. O uso de microrganismos, dentre eles, as bactérias fixadoras de nitrogênio e bactérias promotoras de crescimento podem contribuir não apenas para uma menor dependência de fertilizantes químicos, mas também para uma produção mais sustentável também na dimensão econômica e social.

Diante disso, o presente estudo exploratório busca reunir, através de uma revisão bibliográfica narrativa, conhecimento sobre a potencialidade de desenvolvimento e aplicabilidade da combinação de inoculantes a base de bactérias e fertilizantes organominerais.

OBJETIVO

Objetivo geral

Reunir informações atualizadas através de uma revisão bibliográfica narrativa sobre inoculantes biológicos, fertilizantes organominerais e a interação entre eles.

Objetivos específicos

Através de estudos exploratórios avaliar os efeitos da inoculação de fertilizantes organominerais com um inoculante a base de *B. subtilis*, *B. megaterium* e *B. aryabhattai*;

Compreender o impacto de diferentes formulações contendo N, P, K no desenvolvimento de um novo produto;

Analisar o impacto de fatores como o tempo de exposição de prateleira e o tempo de incubação do fertilizante organomineral inoculado com diferentes *Bacillus*.

REVISÃO DE LITERATURA

O modelo agrícola atual necessita de mudanças de paradigmas, que sejam transformadores da política, dos planos, dos programas e dos instrumentos aplicados na agricultura, de maneira a contribuir com a conservação da agrobiodiversidade e com o reconhecimento explícito dos direitos dos produtores (Oliveira Neto, 2008).

Por isso, a busca por uma agricultura mais sustentável tem impulsionado o desenvolvimento e a adoção de tecnologias que reduzam o impacto ambiental, sem comprometer a produtividade. Segundo Hungria (2011), determinados microrganismos, tais como as bactérias fixadoras de nitrogênio e as bactérias promotoras de crescimento das plantas, podem ser altamente produtivos, econômicos e menos dependentes da importação de fertilizantes minerais.

Nesse cenário, os inoculantes e fertilizantes organominerais emergem como uma solução biotecnológica promissora, alinhada com os princípios da agricultura moderna e consciente.

Inoculantes biológicos

Inoculantes microbianos estão se tornando cada vez mais importantes para a obtenção de sistemas de produção agrícola sustentáveis. A capacidade de suprimento de nutrientes do solo está diminuindo continuamente devido à erosão, degradação, escassez ou excesso de água e desequilíbrio no sistema de suprimento de nutrientes. Para amenizar os impactos negativos, microrganismos estão surgindo como alternativas para a conservação da capacidade produtiva para produções sustentáveis e equilíbrio financeiro das economias (Sammuria et al., 2020).

Os inoculantes são produtos biológicos compostos por microrganismos vivos, como bactérias ou fungos, que promovem o crescimento vegetal por meio de mecanismos como fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fósforo, produção de fitormônios e indução de resistência a estresses (Hungria et al., 2010).

O uso de *Bacillus* e *Azospirillum* como novos inoculantes de consórcio microbiano ecologicamente corretos é uma estratégia promissora para aumentar o crescimento vegetal e a produtividade agrícola, melhorando a disponibilidade de nutrientes em sistemas agrícolas sustentáveis (Ribeiro et al., 2022).

Inoculantes destinados a recondicionar o solo e as raízes das plantas são amplamente recomendados pois apresentam em sua composição vários tipos de microrganismos. Dentre os microrganismos mais utilizados para esse fim, destacam-se o *B. megaterium* (solubilização de fósforo), *B. subtilis* (proteção das raízes) e *B. aryabhatai* (indução de resistência a seca).

As bactérias do gênero *Bacillus* podem ser consideradas rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP), pois apresentam habilidade de colonizar a rizosfera e promover o crescimento vegetal (Kundan et al., 2015), são essenciais para a reciclagem de nutrientes e possuem potencial como biofertilizantes para incremento da produtividade, além de poder beneficiar a planta durante períodos de estresses (Kavamura et al., 2013; Braga Junior et al., 2018; Diaz et al., 2019).

A utilização de espécies de *Bacillus* como promotoras de crescimento e agente de controle biológico para diversas culturas agrícolas proporciona um método atrativo,

eficiente e ambientalmente menos agressivo que defensivos e fertilizantes químicos, o que torna a prática da utilização de bioagentes uma alternativa mais sustentável nos âmbitos econômicos e ambiental (SHAFI et al., 2017).

O *B. megaterium* é uma rizobactéria gram-positiva em forma de haste com efeitos diretos sobre o desenvolvimento das plantas. Ela se desenvolve em condições de estresse ácido se adaptando a essa condição. Além disso, tem capacidade de induzir mecanismos de resistência a estresses bióticos e abióticos nas plantas, agindo na solubilização de fosfato por meio da secreção de ácidos orgânicos.

O *B. subtilis* é uma bactéria gram-negativa que, suporta pH entre 6 e 7. Ela se apresenta em formato de bastonete, é facultativa e é comumente encontrada em solos saudáveis. Ela se associa às raízes das plantas e tem a capacidade de produzir substâncias fúngicas e antifúngicas. *B. subtilis* pode ser isolado de vários ambientes, do solo a habitats marinhos, e utilizado em várias aplicações, desde a produção de enzimas e fermentação de alimentos até o biocontrole de plantas. *B. subtilis* é um microrganismo modelo para estudar divisão celular, secreção de proteínas, motilidade de superfície, desenvolvimento de biofilme, fixação a raízes de plantas ou hifas fúngicas e produção de metabólitos secundários (Akós et al., 2019).

Já o *B. aryabhatai* é uma rizobactéria gram-positiva encontrada naturalmente no sistema radicular e se adapta-se a um pH em torno de 5. Uma importante contribuição desse microrganismo está no aumento da resistência das plantas ao estresse e a disponibilidade de nutrientes.

De acordo com Balbinot (2018), os inoculantes são considerados uma estratégia indispensável para as plantas, independentemente de sua formulação, seja ela turfosa ou líquida. No entanto, é necessário comprovar sua eficiência agrônômica de acordo com as normas estabelecidas pelo RELARE (Rede de Laboratórios para a Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologias de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola), aprovadas pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). A quantidade mínima a ser aplicada deve fornecer cerca de 600.000 células por semente, sendo 1,2 milhões de células/sememente a quantidade ideal (Embrapa, 2022).

Segundo o protocolo oficial do MAPA, além da apresentação de um relatório técnico-científico, deve-se contemplar a avaliação de eficácia dos inoculantes a ser realizada em casa de vegetação, viveiro ou campo, dependendo do modo de ação e uso pretendido. Se realizada somente em casa de vegetação ou viveiro, é necessário conduzir o teste pelo menos quatro vezes, empregando diferentes cultivares, quando possível. Para avaliações em campo, é preciso realizar pelo menos em dois locais com condições edafoclimáticas distintas, adequadas à cultura, por pelo menos duas safras ou em quatro locais, tecnicamente adequadas à cultura em uma única safra. É importante que os experimentos sejam conduzidos em locais representativos de cultura.

Além disso, o MAPA tem a prerrogativa de solicitar testes de campo para verificar a eficácia de tecnologias de inoculação recentemente desenvolvidas. Efetivada a aprovação do relatório técnico-científico conclusivo, o Mapa efetivará a inclusão da cepa na relação dos microrganismos recomendados para produção de inoculantes

contida no Anexo III da Instrução Normativa Mapa/SDA nº 13, de 2011. Após esse procedimento, a instituição responsável pela recomendação deve providenciar o envio de amostras da cepa recomendada para coleção oficial de microrganismos, indicada pelo Mapa. Até o presente momento, o Mapa tem indicado o banco de germoplasma da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (Fepagro/RS)

Tudo isso, está incluso na Instrução Normativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária (Mapa/SDA) nº 13, de 24 de março de 2011 (Brasil, 2011), que regula a produção dos inoculantes, garantindo a qualidade e recomendando as estirpes específicas para cada tipo de inoculante.

O consumo de bioinsumos vem crescendo nos últimos 15 anos, com um mercado no Brasil de aproximadamente 45 milhões de doses de inoculante líquido e 10 milhões de doses de inoculante sólido (Santos et al. 2020).

Segundo dados da Embrapa, considerando apenas a inoculação da soja com bactérias fixadoras de nitrogênio, o Brasil economiza, anualmente, cerca de 14 bilhões de dólares, que deixam de ser gastos com fertilizantes nitrogenados. Mesmo com o alto investimento em pesquisa e tecnologia, são tecnologias com excelente custo-benefício ao produtor. Por isso, cada vez mais, novas inovações sustentáveis devem ser ingressadas nas lavouras para alcançar maior produtividade, economia e sustentabilidade.

Fertilizantes organominerais

Os fertilizantes organominerais são formulações que combinam nutrientes minerais com fontes orgânicas, geralmente

provenientes de resíduos agroindustriais ou compostagem. Essa combinação busca aliar a rápida disponibilidade dos nutrientes minerais com os benefícios da matéria orgânica, como a melhoria da estrutura do solo, o aumento da capacidade de retenção de água e a ativação da biota do solo (Santos et al., 2019).

De modo geral, a produção do adubo organomineral começa com a compostagem dos materiais orgânicos, até que se obtenha um composto. Depois, são adicionados os minerais, como nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K). Os fertilizantes organominerais, devem conter proporções específicas de carbono orgânico, umidade, capacidade de troca catiônica (CTC) e micro e macronutrientes. Essas proporções são regulamentadas pela Instrução Normativa nº 61, de 8 de julho de 2020, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

O uso de fertilizantes minerais é essencial para o bom desenvolvimento das plantas, principalmente nos solos com baixa fertilidade natural. No entanto, segundo dados da Associação Nacional de Difusão de Adubos (Anda 2025), as importações de fertilizantes aumentaram 2,5% no primeiro mês de 2025 em comparação ao mesmo período de 2024, totalizando 3.004 toneladas apenas em janeiro. Esse crescimento reflete não apenas na maior exigência nutricional das culturas nos últimos anos, mas também a necessidade de aplicação de doses mais elevadas devido a perdas no solo. Contudo, as fontes minerais são escassas e sua produção demanda alta quantidade de energia (Abdullaheem, et al. 2023). Além disso, o uso excessivo da adubação mineral pode ocasionar impactos ambientais, incluindo a contaminação do solo por metais pesados e a

eutrofização de recursos hídricos (De Souza et al., 2014; Freitas et al., 2009).

De acordo com Laforet (2013), os fertilizantes organominerais apresentam maior eficiência de uso, com aproveitamento de 70, 50 e 80% de N, P e K, respectivamente, enquanto os fertilizantes minerais apresentam eficiência de 50, 2050 e 60%. Essa diferença ocorre devido a presença de compostos orgânicos em sua formulação, que melhoram as propriedades físico-químicas do solo, promovendo maior disponibilidade de nutrientes e aumento da produtividade das culturas (Corrêa, et al., 2018).

Os fertilizantes organominerais, além de fornecer N necessário às plantas, auxiliam na retenção hídrica, reduzindo a densidade do solo bem como aumentando a porosidade, além de atuar na formação de agregados que diminuem a erosão do solo, aumenta a capacidade de absorção e a CTC (Fernandes et al., 2015). Outro ponto que favorece o emprego desses adubos é que parte dos nutrientes contidos se encontram em formas que não são imediatamente disponíveis, sendo geralmente liberados lentamente no solo, além disso catiônicos presentes na forma mineral, contribuem para evitar perdas por lixiviação ou por fixação em minerais do solo, quando relacionado exclusivamente com adubos minerais (Corrêa et al., 2018).

Diferentemente do sistema de produção de fertilizantes minerais, que exige grandes investimentos e instalações de grande porte, o setor de fertilizantes organominerais se enquadra em arranjos produtivos locais, associando-se a outros sistemas de produção, podendo ser uma alternativa para empresas de pequeno e médio porte. Esse modelo industrial normalmente gera mais empregos diretos que as grandes indústrias de fertilizantes. Nesse sentido, o Ministério

da Agricultura preparou o Plano Nacional de Fertilizantes, em que são sugeridas medidas de incentivo às pequenas e médias empresas regionais para a produção de fertilizantes organominerais (Abisolo, 2009).

Embora o fortalecimento do setor de fertilizantes organominerais não seja uma ação que reverta a dependência externa brasileira por fertilizantes e nem impacte diretamente a formação dos preços dos fertilizantes, os fatores ambientais e socioeconômicos relacionados a essa atividade justificam a adoção de medidas estratégicas que estimulem esse setor (Fao, 2010).

O fluxo de produção de fertilizantes organominerais envolve uma série de atividades que se iniciam na produção de matéria-prima e seguem até a formulação das composições que serão utilizadas diretamente na atividade agrícola e que dependem de fatores que devem ser avaliados para cada cultura e solo (Tavares; Haberli Júnior, 2011).

Em geral, existem diversas fontes de matéria orgânica que podem servir de base para a produção desses fertilizantes, destacando-se: os dejetos de animais, em especial as aves.

Segundo dados do IBGE, em 2024, foram abatidas 6,46 bilhões de cabeças de frangos, alta de 2,7% (+172,73 milhão de cabeças) em relação ao ano de 2023, alcançando novo recorde da série histórica iniciada em 1997. De acordo com esses dados, a geração de dejetos e carcaças advindas desses milhões de criações e abates, traz a importância de adoção de medidas que possam contribuir para o aproveitamento desses resíduos que são produzidos como matérias primas para a produção de adubos organominerais.

Os resíduos produzidos pela atividade avícola possuem concentrações significativas de nitrogênio, fósforo, potássio, micronutrientes como cobre e zinco, e uma alta carga de bactérias (Terzich et al., 2000). Como esses resíduos possuem uma rápida decomposição, dentro e fora dos locais de produção, problemas adicionais como poeira, volatilização de amônia, sulfeto de hidrogênio e outros compostos orgânicos voláteis aumentam os odores (Oviedo-Rondón, 2008).

O íon amônio (NH_4^+) é a forma dominante de nitrogênio orgânico nos dejetos de frango, quando há a elevação do pH e sob condições de umidade é transformado em amônia (NH_3) (Seiffert, 2000). Há também os níveis de Fe e Zn presentes na cama de frango são bastante elevados já que a ração das aves possui altas concentrações desses nutrientes. A aplicação contínua de esterco de aves e o consequente aumento desses metais no solo afeta o crescimento radicular das plantas, (Broadley et al., 2007).

A produção de frango de corte utiliza uma grande quantidade de antibióticos, coccidiostáticos e larvicidas, essas drogas podem ser encontradas em resíduos avícolas. Amprolium, clortetraciclina, salinomicina, sulfato de neomicina, nicarbazina, compostos arsenicais e oxitetraciclina são exemplos dessas drogas usadas na criação de frangos de corte, (Williams et al., 1999).

A legislação brasileira, estabelece regras sobre as definições, exigências, especificações, garantias, tolerâncias, registro, embalagem e rotulagem dos fertilizantes orgânicos e dos biofertilizantes, destinados à agricultura (Brasil, 2020). A tabela 1, apresenta algumas das especificações e quantidades em relação as características dos fertilizantes organominerais (FOMs).

Interação entre inoculante biológico e fertilizante organomineral

Muitos trabalhos já vêm adotando a prática de inoculação de fertilizantes organominerais com microrganismos para posterior aplicação no solo. Como no estudo de Domingues (2018), onde o fertilizante organomineral passou pelo processo de inoculação do *Azospirillum brasilense*, realizado a semelhança de um tratamento de sementes, para posterior aplicação no solo, onde resultou numa área foliar maior da cultura de soja do estudo.

Estudos recentes destacam que a associação de inoculantes microbianos com fertilizantes organominerais pode melhorar a eficiência da absorção de nutrientes pelas plantas, como nitrogênio, fósforo e potássio e aumentar a atividade enzimática do solo e estimular o desenvolvimento radicular, pois promovem uma nutrição mais equilibrada (Melo et al., 2020).

O estudo realizado por Pinho et al. (2016), avaliou o plantio de milho com tratamentos de formulações de fertilizantes organominerais granulados, constituídos de cama de frango (42,5%), acrescidos ou não de microrganismos imobilizados em carvão mineral (1×10^8 UFC/g 2%). Os autores constataram que as estirpes de bactérias adicionadas aos fertilizantes organominerais contribuíram para aumentar a atividade de ciclagem de fósforo disponível no solo, assim como a ciclagem de nitrogênio pelas enzimas urease e arginase. Já a atividade de fosfatase ácida aumentou no solo adubado somente com o fertilizante.

Dessa forma, a utilização de inoculantes em fertilizantes organominerais se insere como uma estratégia no contexto da agricul-

tura moderna, contribuindo para o avanço de práticas mais ecológicas e trazendo inovações e praticidade para o produtor.

METODOLOGIA

Análise bibliométrica

A revisão bibliométrica fornece uma análise estruturada para um grande corpo de informações e, portanto, possui potencial de introduzir um processo de revisão sistemática, transparente e reprodutível baseado na mensuração estatística da ciência, dos cientistas ou da atividade científica (Aria e Cucurullo, 2017).

Para a realização deste trabalho foi utilizado alguns sites para obtenção de informações, como o google, google acadêmico, National Center for Biotechnology Information (NCBI), Web of Scien.

A pesquisa bibliográfica foi conduzida pela busca de palavras chaves. Em primeiro momento, a busca foi realizada com as palavras-chave: inoculante, fertilizante organomineral e a interações entre esses produtos. A seguir, a busca foi feita com as palavras derivadas do assunto, como é mostrado na Tabela 2 e 3.

Para o site google acadêmico, a busca de trabalhos foi realizada num intervalo de tempo de 2005 a 2025. Para os demais sites a busca de trabalhos foi procedida sem tempo específico.

Estudo exploratório em laboratório

O estudo foi realizado no laboratório de Microbiologia do Solo, na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. O laboratório conta com a estrutura necessária para o estudo, desde materiais a equipamentos.

Especificações	Quantidades
Carbono orgânico	Mínimo 8% produto sólido, 3% fluido
Umidade	Máximo 20% produto sólido
Capacidade de Troca Catiônica	Mínimo 80 mmolc/kg produto sólido
Nitrogênio, Fósforo e Potássio	Mínimo de 1%
Enxofre, Cálcio e Magnésio	Mínimo de 1%
Cloro e zinco	0,1%
Silício	0,05%
Cobre, ferro e manganês	0,02%
Boro	0,01%
Cobalto, molibdênio, níquel	0,005%
Selênio	0,003%

Tabela 1 – Especificações legais para os fertilizantes organominerais no Brasil.

Fonte: Adaptado de Brasil 2020

O trabalho foi desenvolvido com base em dois produtos, um fertilizante organomineral, com quatro diferentes concentrações do NPK (02/10/10, 04/14/08, 05/15/15 e 10/10/10) e um inoculante, a base de três tipos de bacillus: *B. subtilis*, *B. megaterium* e *a B. aryabhatai*.

Neste presente trabalho, o fertilizante utilizado foi o Minerplant, da empresa

TERRAPLANT Fertilizantes. Ele é produzido através de cama de aves (frango de corte, poedeira e peru) compostada por 90 a 120 dias. Depois da compostagem, é realizado o processo industrial de limpeza, separação e granulação, onde também ocorre a mistura do material químico de acordo com cada formulação.

Os fertilizantes organominerais foram submetidos a uma análise de pH com três repetições de cada formulação, sendo a formulação 02:10:10 apresentando uma média de 5,3. A formulação 04:14:08 apresentou um pH mais ácido, sendo a média 5,1. Já a formulação 05:15:15 apresentou uma mé-

dia de 5,2. O pH mais básico foi representado pela formulação 10:10:10, onde a média ficou em 5,7.

Após essa análise, ficou definido em utilizar a formulação mais ácida e a mais básica no primeiro teste, sendo elas respectivamente 04:14:08 e 10:10:10, além do inoculante puro para confirmar a presença dos microrganismos. Em relação a formulação 02:10:10, mesmo sendo analisada seu pH, não foi utilizada em nenhum dos testes.

O fertilizante organomineral foi submetido ao inoculante sob diferentes tempos de exposição, sendo eles: Tempos 0: misturou-se o inoculante ao fertilizante e procedeu-se a análise; Tempo 5: misturou-se o inoculante ao fertilizante, armazenou-se a mistura por cinco dias e procedeu-se a análise; Temo 7: misturou-se o inoculante ao fertilizante, armazenou-se por sete dias e procedeu-se a análise

Para definir a quantidade de fertilizante e inoculante a ser utilizado nos ensaios,

realizou-se testes iniciais. Abaixo a sequência de cálculos utilizados para definir as doses.

1. A recomendação do fabricante do inoculante é de aplicar via semente e na dose de 3ml de inoculante por Kg de semente. Como nos dados da análise de pH do fertilizante obteve-se muita acidez, esta dose foi dobrada para garantir um maior crescimento das bactérias;
2. Para a realização desse cálculo utilizou-se a cultura de soja como exemplo. Sabe-se que, em um hectare de soja, são utilizados 60 kg de sementes. Então, se para 1kg de semente são usados 6 ml de inoculante, em 60 Kg de semente por hectare como no caso da soja, será utilizado 360 ml de inoculante por hectare.
3. Mas, iremos inocular fertilizante e não sementes, por isso, é necessário fazer essa transformação. Para isso, ainda tomando a soja como referência, para plantar um hectare, é necessário 300 kg de fertilizante. Então, se em um hectare são utilizados 300 Kg de fertilizante e 360 ml de inoculante, isso será 1,2 ml de inoculante por Kg de fertilizante, ou seja, 0,12 ml de inoculante.
4. Com os valores já estipulados, os testes em triplicata começaram a serem feitos de uma a duas vezes por semana, com três placas de controle negativo e mais 9 placas de cada tratamento em diferentes condições e com três diluições distintas, totalizando 30 placas em cada ensaio.

Em todos os testes, foi realizada a esterilização das vidrarias como béquer, erlenmeyer, placas e tubos de ensaio por meio da autoclave. A autoclave também foi utilizada para a esterilização da água destilada e do meio de cultura.

O meio de cultivo utilizado no estudo foi o TSA (Ágar Triponada de soja). É um meio de cultura utilizado em microbiologia para o cultivo e isolamento de uma ampla variedade de microrganismos, tanto bactérias aeróbias quanto anaeróbias. Ele é um meio não seletivo, o que significa que permite o crescimento de muitos tipos diferentes de bactérias, sendo rico em nutrientes, composto por tripton, pepton de soja, cloreto de sódio e ágar. A tripton e a pepton de soja fornecem aminoácidos e outras fontes de nitrogênio essenciais para o crescimento microbiano, enquanto o cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico e o ágar serve como agente gelificante.

Para o preparo deste meio foi utilizado 40 g de meio sólido diluído em 1litro de água destilada. O conteúdo foi aquecido até o ponto de ebulição e após transferido para a autoclave por 15 minutos. Após o tempo de autoclave, o meio foi levado para a capela de fluxo laminar, onde foi utilizado para ser vertido nas placas de petri.

As placas de petri após serem esterilizadas, foram levadas para a estufa de secagem. Após estarem secas, 30 placas foram utilizadas em cada experimento, sendo três destas o controle negativo (para controlar a presença de microrganismos no ambiente da capela) e nove placas em cada tratamento, sendo feitos três tratamentos em cada teste.

A pipetagem foi realizada para dosar a quantidade de inoculante, realizar as dilui-

ções seriada e pipetar a amostra das diluições nas placas.

A diluição seriada foi executada a partir de uma solução estoque, sendo ela, inoculante, fertilizante e fertilizante/inoculante a fim de obter uma solução menos concentrada para realização do plaqueamento. As concentrações das diluições usadas no experimento foram 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} e 10^{-9} , de acordo com cada teste.

O plaqueamento foi feito a partir de amostras de 0,1 ml em cada placa de petri, com auxílio da alça de drigalski pela técnica de espalhamento.

As inoculações foram realizadas em três tempos distintos, sendo eles: 0, 5 e 7 dias de contato do fertilizante com o inoculante.

As incubações foram realizadas por intervalos de tempo distintos, sendo eles: 20, 21, 47 e 48 horas sendo definidos testes após testes.

Durante o experimento de pesquisa foram realizados vários testes investigatórios do inoculante, fertilizante e inoculante/fertilizante em diferentes métodos e tempo de exposição e incubação até chegarmos a uma hipótese do nosso trabalho. Esses testes, são detalhadamente explicados logo abaixo:

Teste 1: Inoculação tempo zero; Tratamento 1 - Fertilizante 04:14:08 (com inoculante); Tratamento 2 – Fertilizante 10:10:10 (com o inoculante) e Tratamento 3 - apenas o inoculante.

Para o tratamento 1 e 2, 100 g de cada fertilizante foram misturados com 0,12 ml de inoculante e armazenados em um frasco. Após, 10 g da mistura fertilizante/inoculante foram retiradas e diluídas em 90ml

de água destilada estéril e retirado 0,1 ml de amostra para a diluição seriada até 10^{-7} .

Para o tratamento 3, 1 ml de inoculante foram diluídos em 9 ml de água destilada estéril. Após 0,1 ml foram retirados e realizada uma diluição seriada.

Para o plaqueamento, foram utilizadas as diluições 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} com três repetições cada. Depois disso, as placas foram incubadas por 48 horas para o crescimento das colônias.

Teste 2: Inoculação tempo zero: Tratamento 1 – Apenas o inoculante; Tratamento 2 – Fertilizante 10:10:10 (sem o inoculante) e Tratamento 3 - Fertilizante 10:10:10 (com o inoculante).

Para as 9 placas com o inoculante (Tratamento 1), identificadas no laboratório como (I) foi utilizado 1ml do inoculante diluídos em 9 ml de água e feitas diluições até 10^{-9} e após o plaqueamento.

Para as placas apenas com fertilizante (Tratamento 2), identificadas no laboratório como (F), 10 g foi diluído em 90 ml de água, retirou-se 0,1 ml e feita a diluição até 10^{-9} e após o plaqueamento.

Para o tratamento 3, identificadas no laboratório como (FI), 100 g do fertilizante foram misturados com 0,12 ml do inoculante. Após, 10 g foram retiradas e diluídas em 90 ml de água e depois 0,1 ml desta amostra foi usado para diluições até 10^{-9} e após foi feito o plaqueamento.

O plaqueamento foi realizado com base nas concentrações 10^{-7} , 10^{-8} e 10^{-9} com três repetições cada. Depois disso, as placas foram incubadas por 20 horas para o crescimento das colônias.

Teste 3: Inoculação tempo zero e cinco: Tratamento 1 – Fertilizante 10:10:10 (sem o inoculante); Tratamento 2 – Fertilizante 10:10:10 (com inoculante, tempo 0) e Tratamento 3 – Fertilizante 10:10:10 (com inoculante, tempo 5).

Para as 9 placas só com fertilizante (Tratamento 1), identificadas no laboratório como (F) foi utilizado 10 g do fertilizante diluídos em 90 ml de água destilada estéril, 0,1 ml foi retirado para a diluição até 10^{-9} e realizado o plaqueamento.

Para as placas com fertilizante inoculado tempo 0 (Tratamento 2), identificadas como (FI0), 100 g do fertilizante foram misturados em 0,12 ml do inoculante Akarú. Após, 10 g foram retiradas e misturadas em 90 ml de água destilada estéril e após retirados 0,1 ml para diluição até 10^{-9} e feito o plaqueamento.

Para as de fertilizante inoculado tempo 5 (Tratamento 3), identificadas como (FI5), 10 g do fertilizante inoculado em 5 dias anteriores e misturados em 90 ml de água destilada estéril e após retirados 0,1 ml para diluição até 10^{-9} e feito o plaqueamento.

O plaqueamento foi executado com base nas concentrações 10^{-7} , 10^{-8} e 10^{-9} em modo de triplicata. Após, as placas foram incubadas por 47 horas para o crescimento das colônias.

Teste 4: Inoculação tempo zero e sete; Tratamento 1 – Fertilizante 10:10:10 (sem o inoculante); Tratamento 2 – Fertilizante 10:10:10 (com o inoculante, tempo zero) e Tratamento 3 – Fertilizante 10:10:10 (com inoculante tempo 7).

Para as 9 placas só com fertilizante (Tratamento 1), identificadas em laboratório

como (F) foi utilizado 10 g do fertilizante diluídos em 90 ml de água destilada estéril, 0,1 ml foi retirado para a diluição até 10^{-7} e realizado o plaqueamento.

Para as placas com fertilizante inoculado tempo 0 (Tratamento 2), identificadas no laboratório como (FI0), 100 g do fertilizante foram misturados em 0,12 ml do inoculante. Após, 10 g foram retiradas e misturadas em 90 ml de água destilada estéril e após retirados 0,1 ml para diluição até 10^{-7} e feito o plaqueamento.

Para o Tratamento 3 (fertilizante inoculado tempo 7), identificadas como (FI7), 10 g do fertilizante inoculado em 7 dias anteriores e misturados em 90 ml de água destilada estéril e após retirados 0,1 ml para diluição até 10^{-7} e feito o plaqueamento.

O plaqueamento foi executado com base nas concentrações 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} em modo de triplicata. Após, as placas foram incubadas por 21 horas para o crescimento das colônias.

Teste 5: Inoculação tempo zero: Tratamento 1 – Fertilizante 05:15:15 (sem inoculante); Tratamento 2 – Fertilizante 04:14:08 (sem inoculante) e Tratamento 3 – Fertilizante 04:14:08 (com inoculante).

Para as 9 placas só com fertilizante 05:15:15 (Tratamento 1), identificadas em laboratório como (A) foi utilizado 10 g do fertilizante diluídos em 90 ml de água destilada estéril, 0,1 ml foi retirado para a diluição até 10^{-7} e realizado o plaqueamento.

Para as placas com fertilizante 04:14:08 (Tratamento 2), identificadas como (B), 10 g do fertilizante misturadas em 90 ml de água destilada estéril e após retirados 0,1 ml para diluição até 10^{-7} e feito o plaqueamento.

Para as de fertilizante 04:14:08 inoculado (Tratamento 3), identificadas em laboratório como (BI), 10 g do fertilizante foi diluído em 90 ml de água destilada estéril e dentro da capela misturados 0,12 ml do inoculante, após retirados 0,1 ml para diluição até 10^{-7} e feito o plaqueamento.

O plaqueamento foi executado com base nas concentrações 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} em modo de triplicata. Após, as placas foram incubadas por 47 horas para o crescimento das colônias.

Teste 6: Inoculação tempo zero: Tratamento 1 - Fertilizante 04:14:08

(autoclavado e sem o inoculante) e Tratamento 2 – Fertilizante 04:14:08 (autoclavado e com o inoculante).

Para a realização deste teste, foi mudado a sua forma de execução. Primeiramente, o fertilizante foi autoclavado antes de ser inoculado e misturado com o inoculante.

Além disso, a quantidade de inoculante também foi modificada, em vez de 1,2 ml de inoculante por quilo de fertilizante, foi utilizado 1,44 ml por quilo, para isso, um novo cálculo foi realizado:

1. Em vez de 6 ml de inoculante para 1 kg de semente de soja como exemplo, utilizou-se 7,2 ml de inoculante para a realização do cálculo. Ainda usando como referência, 60 kg de semente por hectare e realizando a regra de três, chegou-se então o resultado de 433 ml de inoculante por hectare.
2. Dando seguimento ao cálculo, foi realizada outra regra de três para transformação de quantidade de inoculante de semente para ferti-

lizante. Para isso, seguiu-se com a quantidade de 300 kg de fertilizante para um hectare em relação a 433 ml de inoculante, chegando ao resultado de 1,44 ml de inoculante por kg de fertilizante.

Outra mudança, foi em relação a quantidade de placas do estudo que diminuída de 30 placas para 21, sendo três placas com o controle negativo e dois tratamentos distintos com nove placas em cada. Em virtude disso, a quantidade de meio também foi alterada para 700 ml de meio, onde 28g de meio sólido foram diluídos em 700 ml de água destilada e após autoclavado.

Para as 9 placas só com fertilizante autoclavado (Tratamento 1), identificadas como (F) foi pesado 100 g do fertilizante e levado para a autoclave para eliminar as bactérias presentes. Após, 10 g foi retirado e diluído em 90 ml de água destilada estéril, 0,1 ml foi retirado para a diluição até 10^{-7} e realizado o plaqueamento.

Para as placas com fertilizante autoclavado e depois inoculado (Tratamento 2), identificadas como (FI), 10 g do fertilizante que já tinha sido autoclavado foram misturados em 90 ml de água destilada estéril e adicionados 144 μ l de inoculante e após retirados 0,1 ml para diluição seriada até 10^{-7} e feito o plaqueamento.

O plaqueamento foi executado com base nas concentrações 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} em modo de triplicata. Após, as placas foram incubadas por 20 horas para o crescimento das colônias.

Além dos testes citados acima, foi feita também uma coloração de Gram a fim de analisar os microrganismos que estavam crescendo no meio. Para isso, foi coletada a amostra de uma placa do teste 4, onde ti-

nha sido feito o plaqueamento da amostra de fertilizante com inoculante, de uma colônia que acreditava-se ser das bactérias do inoculante.

A coloração de Gram foi realizada conforme citada abaixo:

1. Primeiramente, foi esterilizada uma lâmina, aplicado água e feito o aquecimento desta para fazer o esfregão com a amostra da placa de petri.
2. Após, foi aplicado cristal violeta por 1 minuto e feito a lavagem. Em seguida, foi adicionada lugol por 1 minuto e feito a lavagem. O álcool 95% foram usados por 30 segundos e feito a lavagem. E por último, a fucsina foi aplicada por 30 segundos e feito a lavagem.
3. Para a visualização, foi aplicado óleo de imersão e levado ao microscópio. Ao analisar, foi encontrado a coloração azul, o que pode afirmar que a bactéria e seus bastonetes encontrados eram Gram-positivos, assim como as bactérias do inoculante.

Para atingir o objetivo do estudo foi feita a contagem das colônias que crescerem nas placas contendo o fertilizante organomineral acrescido do inoculante.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Bibliometria

Após realizada inúmeras pesquisas nos sites de busca, os resultados obtidos foram relatados em forma de tabela.

Os resultados de busca do site google acadêmico foram demonstrados na Tabela 2.

Analisando os trabalhos obtidos na busca no site Google acadêmico, utilizou para prospecção de desenvolvimento do presente trabalho em média 25 artigos como base de informações.

Um dos trabalhos usados como base, foi

Além disso, neste mesmo site de busca, usando as palavras-chave inoculante biológico e fertilizante organomineral, dentro dos resultados obtidos acima na tabela 2, respectivamente, 5.990 e 5.030 são de trabalhos brasileiros. O que mostra que a maioria dos artigos envolvendo fertilizantes organominerais foram desenvolvidos no Brasil, o que é totalmente esperado devido a grande importância que esse insumo tem na economia brasileira, o que torna indispensável pesquisas contínuas e relevantes sobre o assunto.

Já os trabalhos com inoculantes biológicos, analisando os números obtidos, não são em sua maioria publicados no Brasil. Isso mostra, que ainda é uma área que está se inserindo e progredindo na agricultura brasileira, onde novos trabalhos ainda são importantes para demonstrar a importância dos microrganismos para as plantas.

Para buscas processadas no site Web of Science, os resultados foram demonstrados na tabela 3.

Palavra-chave	Resultados
Fertilizante	16.800
Fertilizante organomineral	7.410
Fertilizante organomineral com cama de frango	752
Fertilizante organomineral legislação	1.900
Inoculante	16.100
Inoculante biológico	12.000
Inoculante com bacillus	4.500
Inoculante com <i>bacillus subtilis</i>	2.940
Inoculante com <i>bacillus megaterium</i>	3.170
Inoculante com <i>bacillus aryabattai</i>	1.040
Interação entre inoculante biológico e fertilizante organomineral	391

Tabela 2 – Resultados de pesquisa no site google acadêmico.

Fonte: De autoria própria.

Palavra-chave	Resultados
Fertilizante	181.369
Fertilizante organomineral	487
Fertilizante organomineral com cama de frango	22
Inoculante	9.963
Inoculante biológico	1.288
Inoculante bacillus	1.129
Inoculante <i>bacillus subtilis</i>	8
Inoculante <i>bacillus megaterium</i>	160
Inoculante <i>bacillus aryabattai</i>	-
Interação entre inoculante biológico e fertilizante organomineral	-

Tabela 3 - Resultados de pesquisa no site Web of Science.

Fonte: De autoria própria.

Dentro dos trabalhos obtidos no site Web of Science, foram analisados e relatados em forma de material referencial, 5 artigos envolvendo inoculantes biológicos e fertilizantes organominerais.

Dentre os resultados apresentados no site Web of Science, dentro dos trabalhos envolvendo fertilizantes organominerais, 459 são de idioma inglês e 21 de idioma português. Já para a pesquisa de inoculantes biológicos, 1.269 são ingleses e somente 9 são portugueses.

Além disso, no National Center for Biotechnology Information (NCBI), 3 artigos foram utilizados para a realização da pesquisa, sendo nenhum deles brasileiro.

Experimento de laboratório

Teste 1:

Após o tempo estimado de 48 horas, as placas foram observadas, mas como houve contaminação nos controles negativos e crescimento descontrolado nas demais placas, não foi feita nenhuma análise e as placas foram descartadas.

Teste 2:

Após as 20 horas de incubação, as placas foram observadas e feita a contagem das colônias, com o auxílio de um contador de colônias manual, com os resultados demonstrados na tabela 4.

Os controles negativos não obtiveram nenhuma contaminação nas três placas que tinham sido incubadas.

O resultado apresentou um crescimento excessivo das colônias e esse crescimento foi resultante em pouco tempo de incubação. Esse foi um resultado positivo para o teste, mas ao mesmo tempo não foi possível ter uma análise concreta.

O crescimento nas placas que continham só o fertilizante, foi deduzido a possibilidade de crescimento devido a algum resquício na alça.

Nas placas só com inoculante, ocorreu o crescimento esperado das colônias. Já nas placas que continham somente fertilizante organomineral, não ocorreu crescimento na maioria das placas, exceto na diluição 10^{-7} , nas placas 1 e 2 que ocorreu uma leve presença de microrganismos.

Teste 3:

Após 47 horas de incubação as placas foram retiradas da incubadora para realizar contagem das colônias dos tratamentos listados na tabela 5. Os controles negativos das três placas se mantiveram sem nenhuma presença de microrganismos.

Observou crescimento em algumas placas que continham somente fertilizante. Já nas placas que o fertilizante estava inoculado, a maioria das placas não ocorreu crescimento, o que nos gerou um resultado inconclusivo.

Teste 4:

Após 18 horas de incubação, as placas foram retiradas na incubadora e analisadas.

Os controles negativos não apresentaram contaminação, então a contagem foi realizada.

As placas que foram incubadas somente com fertilizante continuaram a apresentar crescimento, principalmente na diluição 10^{-6} .

Enquanto aquelas que o fertilizante estava inoculado (tempo 0 e 7) o crescimento não foi muito significativo. Nas placas de tempo 0, apenas duas placas apresen-

INOCULANTE (I)			
Diluição	Placa 1	Placa 2	Placa 3
10^{-7}	17 colônias	40 colônias	58 colônias
10^{-8}	Incontável	4 colônias	43 colônias
10^{-9}	Incontável	Incontável	Incontável

FERTILIZANTE 10:10:10 + INOCULANTE (FI)			
10^{-7}	5 colônias	72 colônias	Incontável
10^{-8}	0 colônias	0 colônias	Incontável
10^{-9}	Incontável	Incontável	Incontável

FERTILIZANTE 10:10:10 (F)			
10^{-7}	1 colônia	3 colônias	0 colônias
10^{-8}	0 colônias	0 colônias	0 colônias
10^{-9}	0 colônias	0 colônias	0 colônias

Tabela 4: Resultados teste 2: Inoculação tempo zero: Tratamento 1(I) – Apenas o inoculante. Tratamento 2 (F)– Fertilizante 10:10:10 (sem o inoculante) e Tratamento 3 (FI) – Fertilizante 10:10:10 (com o inoculante).

Fonte: De autoria própria.

FERTILIZANTE (F)			
Diluição	Placa 1	Placa 2	Placa 3
10^{-6}	0 colônias	0 colônias	1 colônia
10^{-7}	0 colônias	0 colônias	Incontável
10^{-8}	0 colônias	Incontável	Incontável

FERTILIZANTE + INOCULANTE TEMPO 0 (FI0)			
10^{-6}	0 colônias	0 colônias	Incontável
10^{-7}	0 colônias	0 colônias	0 colônias
10^{-8}	0 colônias	0 colônias	2 colônias

FERTILIZANTE + INOCULANTE + TEMPO 5 (FI5)			
10^{-7}	0 colônias	7 colônias	2 colônias
10^{-8}	0 colônias	0 colônias	0 colônias
10^{-9}	0 colônias	1 colônia	1 colônia

Tabela 5: Resultados teste 3: Inoculação tempo zero e cinco: Tratamento 1 (F) – Fertilizante 10:10:10 (sem o inoculante); Tratamento 2 (FI0) – Fertilizante 10:10:10 (com inoculante, tempo 0) e Tratamento 3 (FI5) – Fertilizante 10:10:10 (com inoculante, tempo 5).

Fonte: De autoria própria.

FERTILIZANTE (F)			
Diluição	Placa 1	Placa 2	Placa 3
10^{-5}	1 colônia	0 colônias	0 colônias
10^{-6}	Incontável	Incontável	Incontável
10^{-7}	1 colônia	1 colônia	0 colônias
FERTILIZANTE + INOCULANTE TEMPO 0 (FI0)			
10^{-5}	Incontável	0 colônias	1 colônia
10^{-6}	3 colônias	0 colônias	1 colônia
10^{-7}	0 colônias	0 colônias	8 colônias
FERTILIZANTE + INOCULANTE TEMPO 7 (FI7)			
10^{-5}	0 colônias	0 colônias	0 colônias
10^{-6}	0 colônias	0 colônias	0 colônias
10^{-7}	1 colônia	1 colônia	2 colônias

Tabela 6: Resultados teste 4: Inoculação tempo zero e sete; Tratamento 1 (F) – Fertilizante 10:10:10 (sem o inoculante); Tratamento 2 (FI0) – Fertilizante 10:10:10 (com o inoculante, tempo zero) e Tratamento 3 (FI7) - Fertilizante 10:10:10 (com inoculante tempo 7).

Fonte: De autoria própria.

FERTILIZANTE 05:15:15 (A)			
Diluição	Placa 1	Placa 2	Placa 3
10^{-5}	3 colônias	Incontável	Incontável
10^{-6}	1 colônia	Incontável	Incontável
10^{-7}	Incontável	Incontável	Incontável
FERTILIZANTE 04:14:08 (B)			
10^{-5}	0 colônias	Incontável	Incontável
10^{-6}	0 colônias	0 colônias	Incontável
10^{-7}	Incontável	5 colônias	1 colônia
FERTILIZANTE 04:14:08 INOCULADO (BI0)			
10^{-5}	9 colônias	2 colônias	Incontável
10^{-6}	0 colônias	Incontável	Incontável
10^{-7}	0 colônias	21 colônias	Incontável

Tabela 7: Resultados teste 5: Inoculação tempo zero: Tratamento 1 - Fertilizante 05:15:15 (sem inoculante); Tratamento 2 - Fertilizante 04:14:08 (sem inoculante) e Tratamento 3 - Fertilizante 04:14:08 (com inoculante).

Fonte: De autoria própria.

FERTILIZANTE 04:14:08 (F) AUTOCLAVADO			
Diluição	Placa 1	Placa 2	Placa 3
10^{-5}	Incontável	0 colônias	0 colônias
10^{-6}	0 colônias	3 colônias	1 colônia
10^{-7}	0 colônias	0 colônias	0 colônias
FERTILIZANTE 04:14:08 AUTOCLAVADO E INOCULADO (FI)			
10^{-5}	0 colônias	Incontável	35 colônias
10^{-6}	0 colônias	Incontável	4 colônias
10^{-7}	16 colônias	0 colônias	3 colônias

Tabela 8: Resultados teste 6: Inoculação tempo zero: Tratamento 1 - Fertilizante 04:14:08 (autoclavado e sem o inoculante) e Tratamento 2 – Fertilizante 04:14:08 (autoclavo e com o inoculante).

Fonte: De autoria própria.

taram colônias e no tempo sete apenas na diluição 10^{-7} houve uma leve presença de microrganismos.

Teste 5:

Após 20 horas de incubação, as placas foram analisadas para fazer a contagem.

As placas de controle negativo apresentaram contaminação em uma das três placas. Mas, notou-se que era problema na placa e não se tinha comprometido as demais placas, por isso, a contagem das colônias foi realizada normalmente e a placa contaminada foi descartada.

No quinto teste do estudo, as placas que continham o fertilizante 05:15:10 sem o inoculante, apresentaram muito crescimento, preenchendo todo o raio da placa, sendo impossível de fazer a contagem.

Nas placas que continham o fertilizante 04:14:08 sem o inoculante, apresentou enorme crescimento na maioria delas, sendo que algumas não apresentaram nenhum crescimento.

Se formos fazer uma comparação desses dois fertilizantes, que foram inoculados da mesma forma, sob a mesma diluição, percebemos que o fertilizante 05:15:15

apresentou maior crescimento de colônias, o que significa que sua parte orgânica provavelmente está mais ativa nesta formulação. Em relação ao fertilizante 04:14:08, sua possibilidade de apresentar menor crescimento pode-se ser ao fato de possuir o pH mais ácido em relação as outras formulações testadas.

Já nas placas com o fertilizante inoculado, somente duas não apresentaram nenhum crescimento e quatro placas apresentaram muito crescimento.

Teste 6:

Após 20 horas de incubação as placas foram analisadas e como não ocorreu contaminação nos controles negativos, a contagem de colônias foram realizadas.

Nas placas somente com fertilizante autoclavado, três placas apresentaram crescimento, sendo uma delas significativo. Se formos comparar com as mesmas placas que continham somente fertilizante nos testes anteriores, esse resultado foi muito significativo. Embora ainda se apresentou algum crescimento que não deveria por conta da autoclavação, a partir do fertilizante auto-

clavado é possível ter um panorama mais preciso de como as bactérias do inoculante se comportariam na inoculação com fertilizantes organominerais.

Nas placas com fertilizante autoclavado e após inoculado, três placas não apresentaram nenhum crescimento, enquanto as demais houve crescimento de microrganismos. Embora não é possível se afirmar com certeza apenas interpretando esses resultados, mas como o fertilizante foi autoclavado antes, a maioria das bactérias que colonizam são advindas do inoculante.

Mesmo com esses resultados demonstrando resultados mais promissores, que em relação aos testes anteriores, se torna difícil de conseguir uma consistência nos dados obtidos até então.

COLORAÇÃO DE GRAM

A coloração de Gram foi analisada em microscópio óptico, com o aumento de objetiva 100X, onde é possível analisar a morfologia e coloração das bactérias. A coloração resultante foi violeta, representando, portanto, uma bactéria gram-positiva, o que era o esperado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde o início do planejamento deste estudo vislumbrávamos o trabalho como uma grande oportunidade de desenvolvimento de um novo produto benefício para a natureza e para as plantas, assim como a facilidade de manejo e economia do produtor. Mesmo assim, nossa preocupação era se as bactérias do inoculante iriam sobreviver ao pH ácido do fertilizante durante muito tempo de exposição, já que para desenvolver um novo produto, esse por sua vez, deveria

ter uma boa carência, com a permanência das bactérias nele.

Logo nas primeiras inoculações, notou-se que as bactérias apresentavam uma grande taxa de crescimento em um curto período. Isso seria ótimo para o que estávamos procurando, no entanto, isso não foi tão positivo devido a presença de crescimento excessivo de bactérias nas placas que continham só o fertilizante. Isso portanto, tornou-se com que a possibilidade de produzir um produto que combinariam o fertilizante organomineral com o inoculante fosse descartada devido a incapacidade de armazenamento.

Sabemos que a existência das bactérias no fertilizante é esperada devido a forma que esse produto é fabricado, porém mesmo depois de autoclavadas essas bactérias continuaram ativas no fertilizante, o que nos trouxe uma grande questão de o porquê elas não tinham sido eliminada, ou seja, mortas. Por isso, novas pesquisas com outros organominerais e inoculantes que contenham outros tipos de microrganismos poderão incrementar ainda mais os bons resultados já obtidos. Além de se estudar a bactéria presente neste fertilizante, para descobrir-se a sua capacidade fisiológica.

Mas pode-se afirmar que a combinação de fertilizante organomineral/inoculante diretamente no solo para as plantas, é uma escolha altamente sustentável e vantajosa para a agricultura. Muitos estudos já comprovaram essa interação como um método muito benéfico e promissor no ramo da agricultura moderna.

REFERÊNCIAS

ABISOLO. **Plano Nacional de Biomassa. 44ª Reunião da Câmara Temática de Insumos Agropecuários** – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Palestra técnica, Brasília-DF, 16 novembro, 2009.

AKÓŠ, Kovács *et al.* **Trends in Microbiology**. 8. ed. Dinamarca: Biophysical journal, 2019. 724-725 p. v. 27.

BALBINOT, L.A. **Modos e doses de aplicação de inoculante na soja, em SinopMT**. Sinop-MT, 2018.

Baldani, J., Caruso, L., Baldani, V. L. D., Goi, S. R., & Dobereiner, J (1997). **Recent advances in BNF with non-legume plants**. Soil Biology & Biochemistry, 29(5-6), 911. [https://doi.org/10.1016/s0038-0717\(96\)00218-0](https://doi.org/10.1016/s0038-0717(96)00218-0).

BELAN, Helen Carla et al. **Fertilizante organomineral inoculado com microrganismos na cultura da soja**. iciag, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/36018/1/FertilizantesOrganomineralInoculado.pdf>. Acesso em: 25 jun. 2025.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 61, de 8 de julho de 2020**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, Brasília, n. 134, 15 de julho de 2020, seção 1. Pag. 5. Disponível em: <http://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-61-de-8-de-julho-de-2020-266802148>. Acesso em: 12 ago. 2025.

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. **Agroecologia e sustentabilidade. Base conceitual para uma nova extensão rural**. Botucatu, SP. 22 p. 2001.

Coelho, S. P., Galvão, J. C. C., Guihl, J., CAMPOS. S. D. A., BRITO, L., SANTOS, T. D., & Mendonça, B. F. (2016). **Influência de *Azospirillum brasiliense* no crescimento de milho em manejo orgânico e convencional**. In Congresso Brasileiro de milho e sorgo (Vol.31, pp. 1083-1086).

Corrêa, J. C., Grohskopf, M. A., Rebellatto, A., Rigo, A. Z., & Coldebella, A. (2018). **Fertilization of high-yield corn with poultry litter based on nitrogen doses**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 53(3), 342-350. <https://doi.org/10.1590/s0100204x2018000300009>.

Dartora, J., Guimarães, V. F., Marini, D., & Sander, G. (2013). **Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasiliense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental/Brazilian Journal of Agricultural and Environmental Engineering, 17(10), 1023-1029. <https://doi.org/10.1590/s1415-43662013001000001>.

DOMINGUES, Ricardo Ferreira. **EFEITOS DA COINOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium japonicum* E *Azospirillum brasilense* NA CULTURA DA SOJA VIA FERTILIZANTE ORGANOMINERAL**. Universidade federal de Uberlândia, 2018. Disponível em: <http://repositorio.ufu.br/handle/123456789/21932>. Acesso em: 20 ago. 2025.

EMBRAPA SOJA. **Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculantes, cepas e outras tecnologias relacionada ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas**. Anais da 13ª Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologias de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE). Londrina: EMBRAPA SOJA, 2007. 212p. – (Documento/Embrapa Soja, n.290).

FAO - **Food and Agriculture Organization of the United Nation**. Disponível no site. <http://www.fao.org/corp/statistics/en/>.

Fernandes, D. M., Grohskopf, M. A., Gomes, E. R., Ferreira, N. R., & Bull, L. T. (2015). **Fósforo na solução do solo em resposta à aplicação de fertilizantes fluidos minerais e organomineral**. Irriga, 1(1), 14–27. Disponível em: <https://doi.org/10.15809/irriga.2015v1n1p14>. Acesso em: 11 mai. 2025.

FONSECA, Larissa Ferreira et al. **Efeitos da adubação mineral, organomineral e inoculação na cultura do trigo**. Research, Society and Development, 2022. Disponível em: Doi: <http://DX.doi.org/10.33448/rsd-v11i16.38628>. Acesso em: 18 jul.2025.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: EMBRAPA SOJA, 2011. 37P (EMBRAPA SOJA. Documentos,325).

JUNIOR, Chagas *et al.* **Bacillus subtilis como inoculante promotor de crescimento vegetal em soja**. Diversitas Journal, 2022. Disponível em: DOI:<https://doi.org/10.17048/dj.v7i1.2071>. Acesso em: 18 ago. 2025.

Karpov DS, Domashin AI, Kotlov MI, Osipova PG, Kiseleva SV, Seregina TA, Goncharenko AV, Mironov AS, Karpov VL, Poddubko SV. **[Biotechnological**

Potential of the Bacillus subtilis 20 Strain]. Mol Biol (Mosk). 2020 JanFeb;54(1):137-145. Russian. doi: 10.31857/S0026898420010085. PMID: 32163397.

LINS, Miriam et al. **Organominerais estimulam a proliferação de microrganismos**. campo & negócios, 2015. Disponível em: <https://campoenegocios.com/organominerais-estimulam-a-proliferao-demicrorganismos/>. Acesso em: 01 jul. 2025.

MARTINS, Denize Carvalho et al. **Características agronômicas de milho adubado com fertilizante organominerais a base de cama de frango e fosfatos**. EMBRAPA, 2016. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1054316>. Acesso em: 30 jul. 2025.

MATTOS, Bianca Braz et al. **Sobrevivência de microrganismos solubilizadores de fosfato em fertilizantes organominerais granulados**. embrapa, 2017. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1078458/1/CNPSCircTec502017.pdf>. Acesso em: 27 maio 2025.

MEDEIROS, Cibele *et al.* **Inoculantes biológicos: produtividade, economia, preservação**. Agrolink, 2023. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/colunistas/coluna/inoculantes-biologicos--produtividade-economia--preservacao_475588.html. Acesso em: 08 abr. 2025.

MAZZUCHELLI, Rita De Cássia Lima et al. **Inoculação de bacillus subtilis e azospirillum brasilense na cultura do milho**. Unoeste, 2014. Disponível em: <https://journal.unoeste.br/index.php/ca/article/view/1151>. Acesso em: 29 jun. 2025.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. DVM, PhD. Dipl. ACPV. **Tecnologias para mitigar o impacto ambiental da produção de frangos de corte**. Revista Brasileira de Zootecnia. vol.37 no.spe Viçosa julho 2008.

PAIVA, Cristiane Abreu De Oliveira *et al.* **Inoculantes e seus efeitos sobre as plantas**. Embrapa, 2022. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1168585>. Acesso em: 10 jun. 2025.

PINHO, Jean Marcel Rodrigues ; DOS SANTOS, Flávia Cristina ; MATTOS, Bianca Braz. **Atividade enzimática do solo em cultivo de milho adubado com fertilizantes organominerais enriquecidos com microrganismos e granulados sob diferentes temperaturas de secagem.** Milho e sorgo: inovações, mercados e segurança alimentar, 2016. Disponível em: https://www.abms.org.br/cnms2016_trabalhos/docs/1092.pdf. Acesso em: 20 ago. 2025.

Ribeiro VP, Gomes EA, de Sousa SM, de Paula Lana UG, Coelho AM, Marriel IE, de Oliveira-Paiva CA. **Co-inoculation with tropical strains of Azospirillum and Bacillus is more efficient than single inoculation for improving plant growth and nutrient uptake in maize.** Arch Microbiol. 2022 Jan 19;204(2):143. doi: 10.1007/s00203-022-02759-3. PMID: 35044594.

Sammauria R, Kumawat S, Kumawat P, Singh J, Jatwa TK. **Microbial inoculants: potential tool for sustainability of agricultural production systems.** Arch Microbiol. 2020 May;202(4):677-693. doi: 10.1007/s00203-019-01795-w. Epub 2020 Jan 2. PMID: 31897539.

SANTILLI, Juliana. **Agrobiodiversidade e direitos dos agricultores.** São Paulo: Peirópolis, 2009.

SHAFI, Jamil et al. **Bacillus species as versatile weapons for plant pathogens: a review.** Biotechnology & Biotechnological Equipment, Abingdon, v. 1, n. 1, p. 446-459, 2017.

Shahwar D, Mushtaq Z, Mushtaq H, Alqarawi AA, Park Y, Alshahrani TS, Faizan S. **Role of microbial inoculants as bio fertilizers for improving crop productivity: A review.** Heliyon. 2023 May 16;9(6):e16134. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e16134. PMID: 37255980; PMCID: PMC10225898.

SEIFFERT, N.F. **Planejamento da atividade avícola visando qualidade ambiental.** In: **Proceedings do Simpósio sobre resíduos da Produção Avícola.** Concórdia, SC., Brasil. pp. 1-20, 12 Abril, 2000.

TAVARES, M. F.; HABERLI JÚNIOR, C. **O mercado de fertilizantes no Brasil e as influências mundiais.** Porto Alegre: ESPM, 2011.

XAVIER, Gustavo Ribeiro *et al.* **Inoculante.** Embrapa, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao-caupi/producao/manejo-do-solo-e-adubacao/fixacao-biologica-de-nitrogenio/inoculante>. Acesso em: 22 maio 2025.

WILLIAMS, C.M.; BARKER, J.C.; SIMS, J.T. **Management and utilization of poultry wastes. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology** v.162, p.105157, 1999.