



## ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE BACTÉRIAS PRODUZIDAS ON-FARM

Nicolay de O. **Martins**<sup>1</sup>; Maria Elizia P. **Ferreira**<sup>2</sup>; Julie G. **Chacon-Orozco**<sup>3</sup>; Fernando B. **Baldo**<sup>4</sup>; Luis G. **Leite**<sup>5</sup>

Nº 22839

**RESUMO** – A produção on-farm é a fabricação caseira de biopesticidas para consumo próprio. No Brasil, essa prática vem aumentando nos últimos anos e uma de suas vantagens é a redução dos custos com defensivos. Devido à falta de normas de regulação, fiscalização e desconhecimento dos protocolos específicos, estas fazendas acabam multiplicando, muitas vezes, microrganismos não desejados. O objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade dos inóculos e os produtos de fermentação finais obtidos on-farm. Foram observadas diversas situações dentre elas, produtos com a bactéria de interesse e contaminantes, produtos só com microrganismos contaminantes (ausência do microrganismo de interesse), produtos com ausência total de microrganismos, e o inóculo/produto com microrganismo puro. Nestas análises, em sua maioria, (88% para inóculo e 78% para produto final) foram encontrados microrganismos desejados e mais outros contaminantes. Isso se deu por conta da baixa qualidade de inóculos, provenientes de empresas, além da precariedade nos procedimentos de fermentação. Como resultado destaca-se a necessidade de um maior controle nos processos para obtenção de um produto final puro, ou com uma alta concentração do microrganismo desejado.

**Palavras-chaves:** Agronegócio, inóculo, análise microscópica, microrganismo, pureza e contaminantes.

<sup>1</sup> Autora, Bolsista Fundag, Graduação em Ciências Biológicas, PUCC, Campinas-SP, [nicmartins.o@hotmail.com](mailto:nicmartins.o@hotmail.com)

<sup>2</sup> Doutoranda Instituto Biológico.

<sup>3</sup> Pós-doutoranda, Bolsista FAPESP, Laboratório de Controle Biológico, CAPSA-IB, Campinas-SP.

<sup>4</sup> Pós-doutorando, Bolsista FAPESP, Laboratório de Controle Biológico, CAPSA-IB, Campinas-SP.

<sup>5</sup> Orientador Pesquisador do CAPSA-IB, Campinas-SP, [garrigos.leite@gmail.com](mailto:garrigos.leite@gmail.com).



## MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF BACTERIA PRODUCED ON-FARM

**ABSTRACT** – *On-farm production is the homemade manufacture of biopesticides for own consumption. In Brazil, this practice has been increasing in recent years and one of its advantages is the reduction of pesticide costs. Due to the lack of regulations, inspection and lack of knowledge of specific protocols, these farms often end up multiplying unwanted microorganisms. The objective of this work was to analyze the quality of the inoculum and the final fermentation products obtained on-farm. Several situations were observed, among them, products with the bacterium of interest and contaminants, products with only contaminating microorganisms (absence of the microorganism of interest), products with total absence of microorganisms, and the inoculum/product with pure microorganism. In these analyses, for the most part (88% for inoculum and 78% for final product) desired microorganisms and other contaminants were found. This was due to the low quality of inoculum from companies, in addition to the precariousness of fermentation procedures. As a result, there is a need for greater control in the processes to obtain a pure final product, or with a high concentration of the desired microorganism.*

**Keywords:** Agribusiness, inoculum, microscopic analysis, microorganism, purity and contaminants.

### 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o agronegócio compreende um dos pilares mais fortes da economia nacional, pois é responsável por cerca de 27% do PIB (Conab, 2021), com uma área plantada de 88.445.710 Hectares (IBGE, 2022). Para combater pragas, doenças e plantas daninhas que causam drásticas reduções da produtividade, muitos produtores aplicam defensivos em grandes quantidades, sendo que o consumo de agrotóxicos no Brasil é em média de 975 000 toneladas aplicados em 1,6 bilhões de hectares (SARKAR et al, 2021). Embora a aplicação de agrotóxicos aumente a produtividade agrícola, o seu uso intensivo e frequente gera um conjunto de desvantagens como, perigos para saúde humana, contaminação ambiental, geração de insetos resistentes, entre outras. Por isto, o mercado exige para o consumo produtos livres de agroquímicos, sendo indispensável encontrar alternativas sustentáveis para uso como fertilizantes (ALEKSEEVA et al., 2019), e



defensivos biológicos para combater patógenos e pragas (BOON et al., 2014). Uma das desvantagens do uso dos produtos biológicos disponíveis no mercado é seu alto custo. Por isto, diversos produtores rurais vêm fabricando em suas fazendas biopesticidas para aplicação direta nas lavouras. Esta prática é conhecida como produção *on-farm*.

No entanto, a maioria dos produtores desconhecem os protocolos adequados para produzir microrganismos em larga escala. Com isso, se multiplicam bactérias contaminantes, resultando em um produto final com baixa ou nenhuma eficácia. Além disso, tais fatores podem aumentar os riscos fitossanitários, podendo causar prejuízo na saúde dos operários.

O laboratório de controle biológico (Instituto Biológico) oferece serviços tanto para análise microbiológica dos inóculos comerciais, como do produto final da fermentação *on-farm*. Visando conhecer o panorama atual no âmbito de controle de qualidade destes produtos, foi realizado um levantamento de dados, com os resultados das análises dos últimos 18 meses.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um levantamento dos resultados obtidos nas amostras enviadas ao laboratório de controle biológico durante 18 meses (de 11/2020 até 04/2022), avaliando o controle de qualidade, tanto dos inóculos das empresas, como o produto final das fazendas. Foi avaliada também a diversidade das espécies de bactérias mais produzidas *on-farm*.

A metodologia para as análises foram realizadas segundo a Instrução Normativa N° 30, de, 12 de novembro de 2010, da Secretária de Defesa Agropecuária (Diário Oficial da União, 2010). Cada amostra foi diluída serialmente, inoculada em meios de cultura específico para cada microrganismo (tabela 1). O plaqueamento para as análises microbiológicas foi realizado nas diluições  $10^{-1}$  até  $10^{-10}$  e cultivadas na temperatura e tempo que cada bactéria necessita para seu crescimento.

**Tabela 1** Condições de cultivo dos microrganismos analisados.

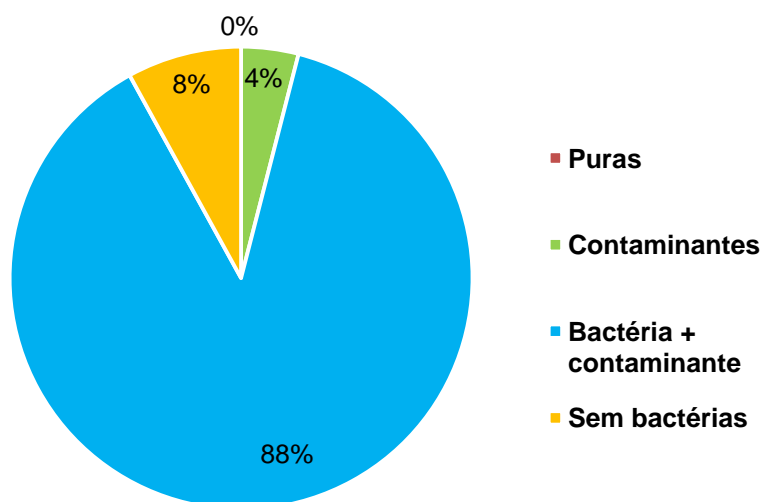
Bactéria	Meio de cultura	Temperatura	Tempo de crescimento
<i>Bacillus</i> spp.	Nutrient Agar (NA)	28 a 30°C	2 a 3 dias
Rizobactérias	79 + VC IKUTA	28 °C	4 a 5 dias

	( <i>Bradyrhizobium japonicum</i> ) NFB ( <i>Azospirillum</i> )		
Actinobactérias	Nutrient Ágar (NA)	28 a 30 °C	2 a 3 dias

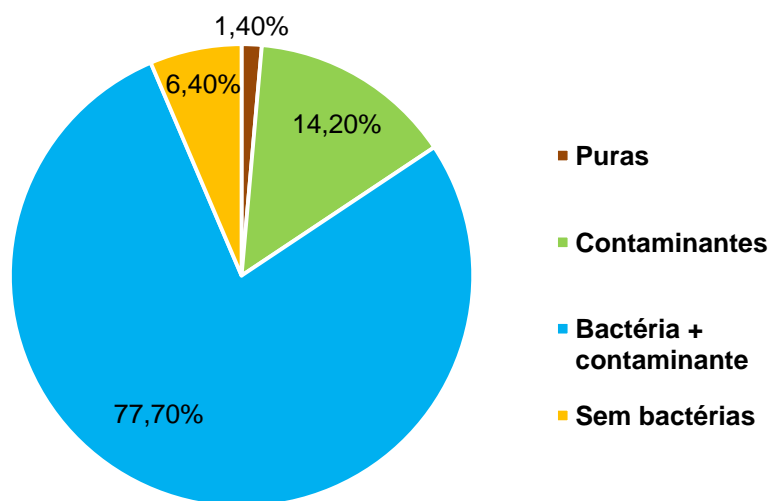
Em seguida, foram feitas as contagens das UFC/mL das amostras. Para cada colônia bacteriana morfolologicamente diferente, foi realizado o teste de coloração de Gram e de Wirtz – conklin.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total foram analisadas 319 amostras provenientes de 20 empresas, sendo 25 inóculos e 294 produtos finais. Através do levantamento dos resultados foi possível observar que dos 25 inóculos analisados, 88% (22 amostras) apresentavam o microrganismo de interesse e mais algum contaminante. Além disso, nenhuma das amostras estava totalmente pura. Em relação aos produtos finais, dos 294 analisados, apenas 1,3% (4 amostras) possuíam a bactéria de interesse pura e 77% (229 amostras) apresentavam a bactéria de interesse mais um contaminante.



**Figura 1** Controle de qualidade dos inóculos de bactérias para produção *on-farm*.



**Figura 2** Controle de qualidade dos produtos finais da multiplicação *on-farm*.

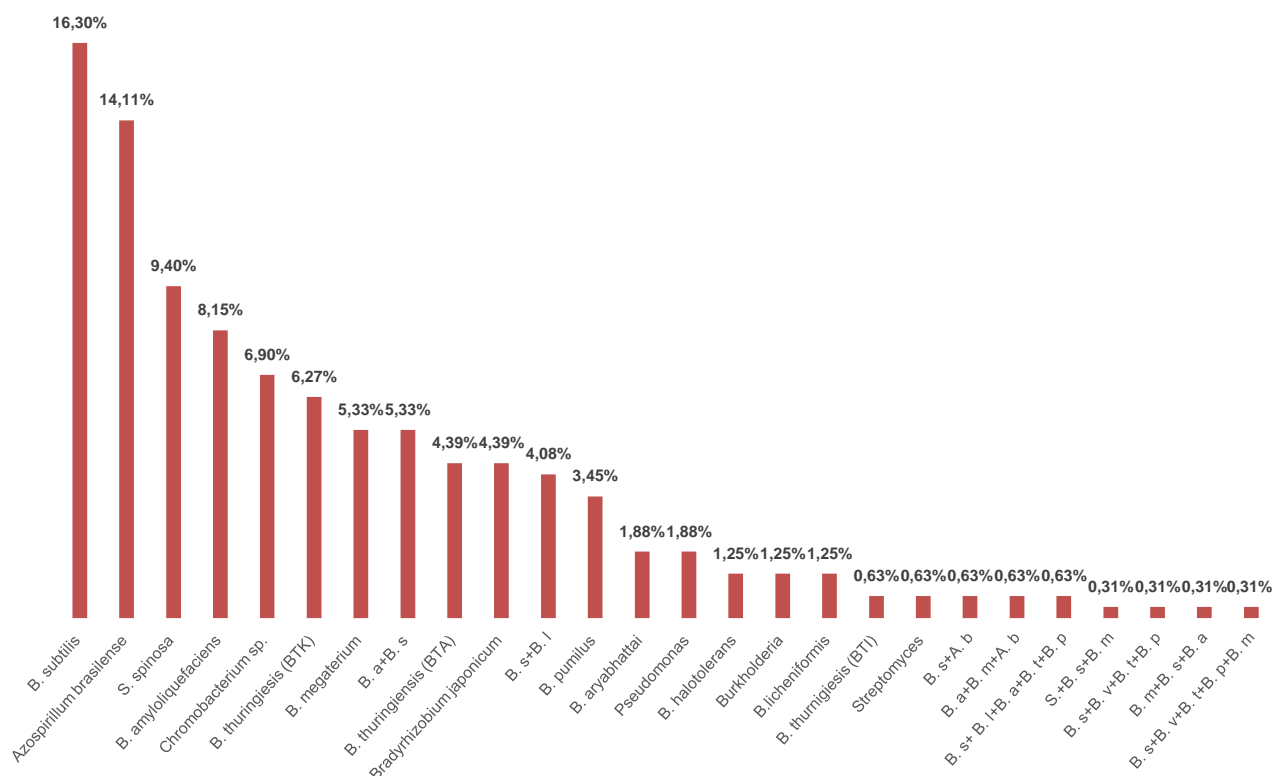
Pelos resultados analisados no laboratório de controle biológico, atualmente existe uma grande diversidade de espécies produzidas *on farm*, sendo 19 espécies diferentes (Tabela 2 e Figura 3), das quais as mais produzidas são, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasiliense* e *Saccharopolyspora spinosa*. Alguns produtores fazem também mistura de micro-organismos, representando 3,13% das amostras (40 amostras).

**Tabela 2** Quantidade e porcentagem do microrganismo de interesse nas amostras.

Microrganismo	Número de amostras	Porcentagem
<i>Bacillus subtilis</i>	52	16,30%
<i>Azospirillum brasiliense</i>	45	14,11%
<i>Saccharopolyspora spinosa</i>	30	9,40%
<i>Bacillus amyloliquefacies</i>	26	8,15%
<i>Chromobacterium</i>	22	6,90%
<i>Bacillus thuringiensis</i> (BTK)	20	6,27%
<i>Bacillus megaterium</i>	17	5,33%
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> + <i>Bacillus subtilis</i> (B.a + B.s)	17	5,33%



<i>Bacillus thuringiensis</i> (BTA)	14	4,39%
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	14	4,39%
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i> (B.s + B.l)	13	4,08%
<i>Bacillus pumilus</i>	11	3,45%
<i>Bacillus aryabhattai</i>	6	1,88%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	1,88%
<i>Bacillus halotolerans</i>	4	1,25%
<i>Burkholderia cepacia</i>	4	1,25%
<i>Bacillus licheniformis</i>	4	1,25%
<i>Bacillus thuringiensis</i> (BTI)	2	0,63%
<i>Streptomyces</i>	2	0,63%
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Azospirillum brasiliense</i> (B.s + A.b)	2	0,63%
<i>Bacillus amyloliquefacies</i> + <i>Bacillus methilotrophicus</i> + <i>Azospirillum brasiliense</i> (B.a + B.m + A.b)	2	0,63%
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i> + <i>Bacillus amyloliquefacies</i> + <i>Bacillus thuringiensis</i> + <i>Bacillus pumilus</i> (B.s + B.l + B.a + B.t + B.p)	2	0,63%
<i>Streptomyces</i> + <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus megaterium</i> (S. + B. s + B. m)	1	0,33%
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus velezensis</i> + <i>Bacillus thuringiensis</i> + <i>Bacillus pumilus</i> (B.s + B.v + B.t + B.p)	1	0,33%
<i>Bacillus megaterium</i> + <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus amyloliquefacies</i> (B.m + B.s + B.a)	1	0,33%
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus velezensis</i> + <i>Bacillus thuringiensis</i> + <i>Bacillus pumilus</i> + <i>Bacillus megaterium</i> (B.s + B.v + B.t + B.p + B.m)	1	0,33%



**Figura 3** Porcentagem do microrganismo de interesse nas amostras analisadas.

A qualidade dos produtos bacterianos gerados na produção *on-farm* é essencial para que se possa promover os efeitos desejados. O controle de qualidade dos produtos do *on-farm* é uma etapa fundamental para o processo de produção (Monnerat *et al.*, 2020), garantindo a qualidade, segurança e eficácia do produto (YOUSTEN, 1984; OECD, 2013).

O efeito negativo vai além do risco à qualidade dos produtos agrícolas e do meio ambiente, pois os benefícios podem não ser alcançados com o seu uso. A ausência do microrganismo alvo ou mesmo a baixa concentração pode colocar em dúvida tecnologias consolidadas que são de extrema importância para a sustentabilidade de sistemas de produção agrícola brasileira (Bocatti *et al.*, 2022). Além disso, o excesso de contaminantes em um produto de baixa qualidade pode acarretar sérios desequilíbrios ecológicos (LANA *et al.*, 2022).

#### 4. CONCLUSÃO

Através do levantamento realizado foi possível observar a necessidade de melhorar a qualidade dos produtos mediante controles mais rígidos em todo o processo de fermentação *on-*



*farm*. Os produtores *on-farm* precisam adquirir inóculos a partir de fontes que garantam a pureza de seus produtos, pois a partir deles é feito o escalonamento nos tanques de fermentação. A falta de concentração adequada e a contaminação do produto final podem resultar em baixa eficiência dos produtos, riscos a saúde dos operadores e à fitossanidade da cultura.

## 5. AGRADECIMENTOS

Esse estudo teve o apoio financeiro da FUNDAG.

## 6. REFERÊNCIAS

AVILA, G. M. de A. et al. PRODUÇÃO “ON FARM” DE MICRORGANISMOS NO BRASIL. **Encontro Internacional de Produção Científica**, 2021.

Diário Oficial da União – Nº 219. **Secretária de Defesa Agropecuária**. Instrução Normativa Nº 30, de, 12 de novembro de 2010. ISSN (677.7042).

DA SILVA, M. G.; CESARIO, A. V.; CAVALCANTI, I. R. Relevância do agronegócio para a economia brasileira atual. **Apresentado em X ENCONTRO DE INICIAÇÃO À DOCÊNCIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**. Recuperado de <http://www.prac.ufpb.br/anais/IXEnex/iniciacao/documentos/anais/8. TRABALHO/8C CSADAMT01. pdf>, 2013.

HUNGRIA, M. **Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 38 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

LANA, UG de P. et al. **Avaliação da qualidade de inoculantes à base de Bacillus para promoção de crescimento de plantas produzidos em sistema on farm**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2022, 25 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 238).

RODRIGUES, R. **O agronegócio brasileiro**. Belo Horizonte, 2004. Palestra apresentada no seminário Desafios de Logística para o Agronegócio.

SARKAR S., BERBARDES, D.J., KEELY, J., MOHRING, N. & JANSEN, K. (2021). **The use of pesticides in developing countries and their impact on health and the right to food**. EU publications. <https://doi.org/10.2861/28995>

SANTOS, C. O futuro do agronegócio brasileiro. **Revista Conjuntura Econômica**, v. 68, n. 9, p. 52-57, 2014.