

CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DE BIOINSUMOS PRODUZIDOS ON FARM: AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO, PUREZA E SELEÇÃO MICROBIANA

Modalidade: Artigo Completo

Amanda Rafaela Gross*;

Randell Ruben Lopez Cardenas;

Leticia Fernanda Giombelli;

Esteffany Helscher Candeo;

* amanda.gross53@gmail.com

RESUMO: A produção de bioinsumos diretamente nas propriedades rurais (*on farm*) tem se expandido como alternativa para uma agricultura mais sustentável, porém requer controle de qualidade microbiológico para garantir a concentração, pureza e viabilidade dos microrganismos de interesse. Este trabalho teve como objetivo avaliar aspectos da qualidade microbiológica de bioinsumos bacterianos e fúngicos produzidos *on farm*, utilizando estratégias de quantificação, caracterização morfológica e seleção microbiana. Para as amostras bacterianas, foi aplicado tratamento térmico a 60 °C por 5 minutos, visando reduzir células vegetativas e favorecer a recuperação de endósporos de *Bacillus* spp. As amostras bacterianas e fúngicas foram submetidas a diluições seriadas e plaqueamento em meios de cultivo específicos para determinação da concentração em UFC/mL. Para os fungos, foram utilizados Tween 80 e Triton X-100 como agentes auxiliares na dispersão e visualização das colônias de *Trichoderma*. Os procedimentos permitiram melhor recuperação e visualização das colônias, possibilitando a avaliação de características morfológicas e a comparação entre as amostras. O tratamento térmico mostrou-se uma estratégia auxiliar para a seleção e recuperação de endósporos de *Bacillus* spp., enquanto os meios e agentes dispersantes contribuíram para a análise de *Trichoderma*. Dessa forma, a associação entre quantificação, avaliação morfológica e estratégias de seleção pode contribuir para a padronização e o controle da qualidade microbiológica de bioinsumos produzidos *on farm*.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de microrganismos na agricultura tem se consolidado como uma importante estratégia para o desenvolvimento de sistemas produtivos mais sustentáveis. Os bioinsumos de origem microbiana podem atuar em diferentes processos de interesse agrícola incluindo promoção do crescimento vegetal, fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes e controle biológico de pragas e fitopatógenos (VERMELHO *et al.*, 2026). Entre os microrganismos empregados destacam-se espécies dos gêneros *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Azospirillum* e *Trichoderma*, que apresentam diferentes mecanismos de interação com plantas e outros organismos presentes no ambiente agrícola.

O Brasil apresenta papel de destaque no desenvolvimento e na utilização de bioinsumos agrícolas, favorecido pela extensão de sua produção agropecuária e diversidade microbiana. Nesse contexto, tem se expandido a produção de bioinsumos diretamente nas propriedades rurais, denominada produção *on farm*. Esse modelo consiste na multiplicação de microrganismos e produção de bioinsumos para utilização na própria propriedade, proporcionando maior autonomia

ao produtor e redução de custos de aquisição e transporte de produtos comerciais (XAVIER; VALE; ALMEIDA, 2026)

Apesar das oportunidades associadas à produção *on farm*, a obtenção de produtos microbiológicos com qualidade adequada depende do controle das condições de produção e da manutenção do microrganismo de interesse. Nesse contexto, análises microbiológicas são fundamentais para avaliar a quantidade de células viáveis, verificar a presença do microrganismo de interesse e identificar possíveis contaminantes (BOCATTI *et al.*, 2022)

Dessa forma, a avaliação da concentração e da pureza microbiológica constitui uma etapa relevante para a caracterização da qualidade de bioinsumos, podendo ser complementada por estratégias de seleção de determinados grupos microbianos. Entre essas estratégias, o tratamento térmico pode ser empregado em situações específicas para favorecer a recuperação de microrganismos com maior resistência ao calor, como bactérias formadoras de endósporos. Assim, o presente trabalho tem como objetivo abordar a importância do controle de qualidade microbiológico de bioinsumos produzidos *on farm*, com ênfase na avaliação da concentração e pureza dos produtos e na aplicação de estratégias de seleção microbiana.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Os bioinsumos microbianos são constituídos por organismos capazes de desempenhar funções de interesse nos sistemas agrícolas, apresentando aplicações relacionadas à nutrição, promoção do crescimento vegetal e proteção das culturas (FLORENCIO *et al.*, 2022). Bactérias como *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* são utilizadas principalmente por sua associação com processos de fixação biológica de nitrogênio e promoção do crescimento vegetal (GÓMEZ-GODÍNEZ *et al.*, 2023), enquanto espécies de *Bacillus* e fungos do gênero *Trichoderma* apresentam aplicações relacionadas ao controle biológico e promoção do desenvolvimento das plantas (SANTOYO *et al.*, 2024). A produção *on farm* consiste na multiplicação desses microrganismos diretamente nas propriedades rurais e, embora possa proporcionar maior autonomia ao produtor, apresenta desafios relacionados à padronização das condições de cultivo e ao controle da qualidade microbiológica.

Nesse contexto, a concentração e a pureza constituem parâmetros importantes para a avaliação da qualidade dos bioinsumos. A determinação da concentração de microrganismos viáveis pode ser realizada por meio de diluições seriadas e contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC), permitindo estimar a população microbiana presente na amostra. Entretanto, uma elevada contagem não necessariamente indica qualidade adequada, uma vez que o crescimento pode ser composto por microrganismos diferentes do organismo de interesse. Dessa maneira, a avaliação da pureza microbiológica deve ser associada à determinação da concentração, possibilitando verificar a presença de contaminantes e a predominância do microrganismo-alvo (BRASIL, 2010). A escolha adequada dos meios de cultivo e das condições de recuperação também é fundamental para favorecer o crescimento do microrganismo de interesse e facilitar a identificação de possíveis contaminantes.

Além das técnicas convencionais de cultivo e contagem, características fisiológicas dos microrganismos podem ser utilizadas como ferramentas auxiliares de seleção. Bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium*, por exemplo, podem formar endósporos, estruturas que apresentam elevada

existência a condições ambientais adversas, incluindo o calor (ROMERO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2023). Dessa forma, o tratamento térmico reduz a presença de células vegetativas, favorecendo a recuperação dos endósporos, resistentes ao calor, o que contribui para uma análise mais precisa da concentração microbiana e da qualidade dos bioinsumos.

3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Para reduzir a interferência de células vegetativas e favorecer a recuperação da fração esporulada de *Bacillus* spp. as amostras de bioinsumo bacteriano foram previamente submetidas a tratamento térmico. Para isso, uma alíquota de 50 mL do bioinsumo bruto foi transferida para frasco estéril e submetida a banho-maria a 60 °C por 5 minutos. Em seguida, a amostra foi resfriada em congelador, a aproximadamente 0 °C, por 5 minutos (WEN *et al.*, 2022). As amostras de bioinsumo bacteriano bruta e tratada termicamente e amostra de bioinsumo fúngico foram homogeneizadas e submetidas, em condições assépticas, à quantificação UFC/mL por meio da diluição seriada seguida de plaqueamento conforme descrito abaixo.

Como diluente do método, para as bactérias utilizou-se solução salina fisiológica (0,85% m/v) e para os fungos acrescentou-se Tween 80 (0,05% v/v) (BRASIL, 2025). A diluição seriada decimal foi realizada transferindo-se 100 µL da amostra para 900 µL do diluente, obtendo-se a diluição 10^{-1} . Após homogeneização em vórtex, foram feitas transferências sucessivas de 100 µL para 900 µL de diluente até a diluição 10^{-6} . As ponteiros foram trocadas a cada etapa, e os tubos foram homogeneizados imediatamente antes da retirada de cada alíquota.

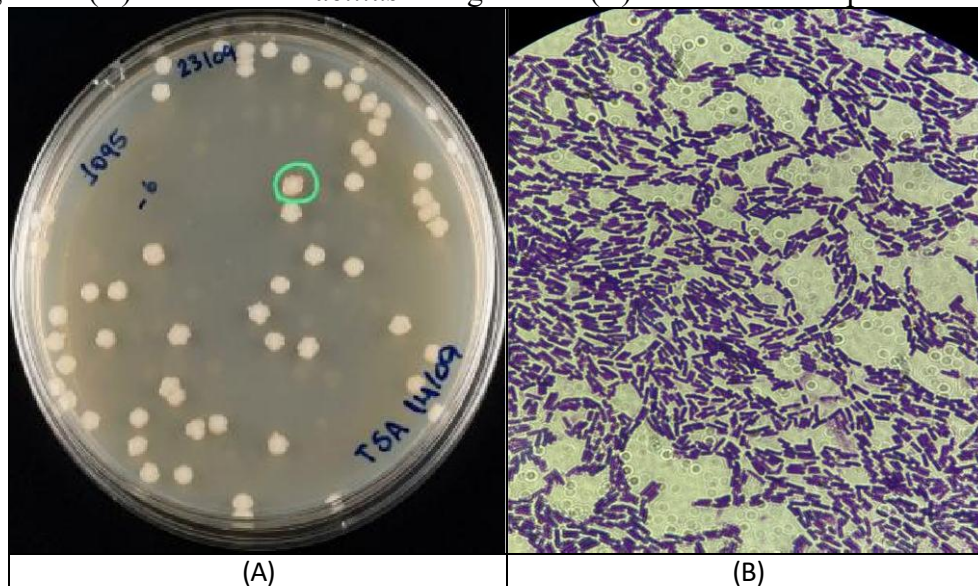
O plaqueamento foi realizado pela técnica de espalhamento em superfície, com transferência de 100 µL das diluições selecionadas para os meios específicos. Para bactérias heterotróficas e *Bacillus* spp., utilizou-se Ágar Triptona Soja (TSA), com incubação a 30 °C $\pm$ 2 por 24 a 48 horas. Para fungos, utilizou-se Ágar Batata Dextrose (BDA) suplementado com Triton X-100, com incubação a 25 °C $\pm$ 2 por 3 a 7 dias (LEE *et al.*, 2023). Após a incubação, foram selecionadas placas com 30 a 300 colônias. O resultado foi expresso em UFC/mL, considerando o fator de diluição e a média das placas correspondentes.

4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

As amostras bacterianas submetidas ao choque térmico apresentaram melhor recuperação e visualização das colônias. O tratamento favoreceu a seleção de endósporos viáveis de *Bacillus* spp. e reduziu a interferência de células vegetativas. Essa melhoria tornou mais nítida a morfologia das colônias, permitindo observar características como cor, formato, elevação, borda e aspecto da superfície. Nas placas, colônias de *Bacillus* podem apresentar aspecto irregular, superfície seca ou opaca e bordas onduladas, características úteis para a descrição presuntiva do crescimento (AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, s.d.). Conforme apresentado na Figura 1A, essas características podem ser comparadas visualmente com uma colônia de referência. Como caracterização complementar, a coloração de Gram pode auxiliar na avaliação presuntiva de *Bacillus* spp. em culturas jovens, que geralmente apresentam bacilos Gram-positivos, corados em violeta pela retenção do complexo cristal violeta-iodo na parede celular rica em peptidoglicano. Essa observação contribui para comparar a morfologia microscópica com o crescimento em placa,

mas não substitui a identificação da espécie por métodos bioquímicos ou moleculares. A Figura 1B apresenta uma imagem de *Bacillus* após a coloração de Gram.

Figura 1 - (A) Colônias de *Bacillus* em ágar TSA. (B) Bacilos corados pelo método de Gram.



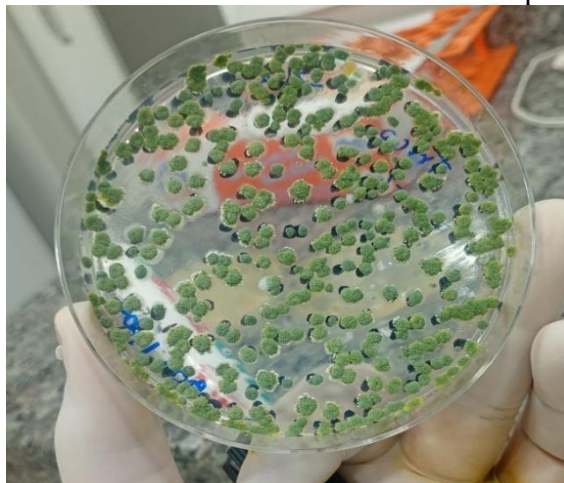
Fonte: os autores (2026)

A relação entre o choque térmico e a morfologia é importante para o controle de qualidade no modelo *on-farm*. Ao concentrar a observação na fração esporulada, o tratamento facilita a comparação entre as placas e a identificação de alterações no crescimento, como colônias muito diferentes, crescimento excessivo ou possível contaminação. Assim, a recuperação de UFC viáveis e a descrição morfológica ajudam a verificar se o bioinsumo produzido na propriedade mantém condições mínimas de viabilidade e uniformidade antes da aplicação, embora não substituam a confirmação da identidade da linhagem nem os ensaios de eficiência agrônômica.

Nas amostras analisadas, o Tween 80 favoreceu a dispersão dos conídios de *Trichoderma* e reduziu a formação de aglomerados, tornando a suspensão mais homogênea para a contagem. O uso desse reagente é descrito para a dispersão de esporos de *Trichoderma harzianum* (SARGIN *et al.*, 2013). O Triton X-100, utilizado no meio de cultivo, reduziu o espalhamento das colônias e facilitou a visualização e a contagem. Dessa forma, os dois reagentes contribuíram para a análise de controle de qualidade realizada neste estudo, permitindo observar com maior clareza a viabilidade e a morfologia das colônias de *Trichoderma*. A concentração dos reagentes foi mantida constante para garantir a comparação entre as amostras.

Com a redução do espalhamento proporcionada pelo Triton X-100 (LAM DAN *et al.*, 2015), foi possível observar com maior clareza a morfologia do fungo. Em *Trichoderma harzianum*, o crescimento pode iniciar-se com micélio branco e filamentosos e, com a esporulação, adquirir coloração verde ou verde-amarelada, podendo formar anéis concêntricos. Essas características foram utilizadas como descrição visual presuntiva. O padrão descrito é ilustrado na Figura 2.

Figura 2 – Exemplo de colônia de *Trichoderma harzianum* em placa de cultura.



Fonte: Os Autores (2026).

Essa padronização é relevante porque a simples presença de colônias nas placas não comprova, isoladamente, que o bioinsumo terá boa performance em campo. A eficiência depende também da concentração de células ou propágulos viáveis, da identidade e estabilidade do microrganismo, da capacidade de manter a atividade durante o armazenamento e da resposta às condições ambientais e de aplicação. Por isso, a análise de viabilidade, associada à avaliação morfológica e ao controle de qualidade, é necessária para verificar se o produto *on-farm* apresenta população ativa e uniformidade compatíveis com sua finalidade, sem substituir ensaios de eficácia agrônoma. Essa distinção entre presença microbiana e desempenho efetivo é fundamental para reduzir resultados inconsistentes e aumentar a segurança da recomendação de uso (FERREIRA; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2024; FENIBO; MATAMBO, 2025).

Em síntese, os procedimentos utilizados permitiram comparar as amostras de forma padronizada e verificar a viabilidade e a morfologia dos microrganismos presentes no bioinsumo. Esses resultados reforçam a importância do controle de qualidade na produção *on-farm*, pois ajudam a identificar variações no material antes de sua aplicação e fornecem maior segurança para a utilização do produto.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises realizadas permitiram atingir o objetivo proposto, possibilitando avaliar aspectos relacionados à qualidade microbiológica de bioinsumos produzidos *on farm*, com ênfase na concentração, viabilidade, pureza e características morfológicas dos microrganismos presentes. O tratamento térmico mostrou-se uma estratégia auxiliar para favorecer a recuperação de endósporos de *Bacillus* spp., enquanto a utilização de meios de cultivo e agentes dispersantes específicos contribuiu para a melhor recuperação, visualização e contagem de microrganismos fúngicos e bacterianos.

A partir dos procedimentos realizados, recomenda-se que empresas, laboratórios e projetos que trabalhem com a produção *on farm* adotem rotinas de monitoramento microbiológico, incluindo a determinação da concentração de células ou propágulos viáveis, avaliação da pureza e observação

das características morfológicas das colônias. A padronização dessas etapas pode auxiliar na identificação de contaminações e variações entre lotes, contribuindo para maior segurança e confiabilidade dos bioinsumos antes de sua utilização.

Entre os aspectos que facilitaram o desenvolvimento do trabalho destacam-se a disponibilidade de infraestrutura laboratorial, meios de cultivo e equipamentos adequados para a realização das análises. Como limitações, destaca-se a necessidade de análises complementares para a confirmação da identidade dos microrganismos e a ausência de ensaios de eficácia agrônômica, que não permitem relacionar diretamente os resultados microbiológicos ao desempenho dos bioinsumos em campo.

Por fim, o trabalho possibilitou ampliar os conhecimentos práticos sobre técnicas de microbiologia, especialmente preparo e diluição de amostras, plaqueamento, contagem de UFC, observação morfológica e aplicação de estratégias de seleção microbiana. Além dos conhecimentos técnicos, o trabalho contribuiu para compreender a importância do controle de qualidade na produção de bioinsumos e para desenvolver maior atenção à padronização e à interpretação dos resultados microbiológicos.

REFERÊNCIAS

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. Colony morphology. Washington, DC: ASM, [s.d.].

BOCATTI, C. R.; FERREIRA, E.; RIBEIRO, R. A. *et al.* Microbiological quality analysis of inoculants based on *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* produced “on farm” reveals high contamination with non-target microorganisms. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 53, p. 267–280, 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Manual de metodologias de bioinsumos. Brasília, DF: MAPA, 2025

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº 30, de 12 de novembro de 2010. Estabelece os métodos oficiais para análise de inoculantes. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, ano 147, n. 219, p. 5–30, 17 nov. 2010. Alterada pela Instrução Normativa nº 14, de 14 de maio de 2018.

FENIBO, E. O.; MATAMBO, T. Biopesticides for sustainable agriculture: feasible options for adopting cost-effective strategies. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v. 9, art. 1657000, 2025.

FERREIRA, E.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Manual de análises de bioinsumos para uso agrícola: inoculantes. Londrina: Embrapa Soja, 2024.

FLORENCIO, C.; BORTOLETTO-SANTOS, R.; FAVARO, C. P.; BRONDI, M. G.; VELLOSO, C. C. V.; KLAIC, R.; RIBEIRO, C.; FARINAS, C. S.; MATTOSO, L. H. C. Avanços na produção

e formulação de inoculantes microbianos visando uma agricultura mais sustentável. Química Nova, v. 45, n. 9, p. 1133–1145, 2022.

GÓMEZ-GODÍNEZ, L. J.; AGUIRRE-NOYOLA, J. L.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; ARTEAGA-GARIBAY, R. I.; IRETA-MORENO, J.; RUVALCABA-GÓMEZ, J. M. A look at plant-growth-promoting bacteria. Plants, v. 12, n. 8, p. 1668, 2023.

LAMDAN, N. L.; SHALABY, S.; ZIV, T.; KENERLEY, C. M.; HORWITZ, B. A. Secretome of *Trichoderma* interacting with maize roots: role in induced systemic resistance. Molecular & Cellular Proteomics, v. 14, n. 4, p. 1054–1063, 2015.

LEE, Lundo Tobias et al. Efeito inibitório de DMSO, Tween 80 e Triton X-100 sobre *Agaricus bisporus* e *Lecanicillium fungicola*. 2023.

ROMERO-RODRÍGUEZ, A.; RUIZ-VILLAFÁN, B.; MARTÍNEZ-DE LA PEÑA, C. F.; SÁNCHEZ, S. Targeting the impossible: a review of new strategies against endospores. Antibiotics, v. 12, n. 2, p. 248, 2023.

SANTOYO, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. DEL C.; AFRIDI, M. S.; MITRA, D.; VALENCIA-CANTERO, E.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L. *Trichoderma* and *Bacillus* multifunctional allies for plant growth and health in saline soils: recent advances and future challenges. Frontiers in Microbiology, v. 15, e1423980, 2024.

SARGIN, S.; GEZGİN, Y.; ELTEM, R.; VARDAR, F. Micropropagule production from *Trichoderma harzianum* EGE-K38 using solid-state fermentation and a comparative study for drying methods. Turkish Journal of Biology, v. 37, n. 2, p. 139–146, 2013.

VERMELHO, A. B.; MACRAE, A.; NEVES JÚNIOR, A.; DOMINGOS, L. T. S.; DE SOUZA, J. E.; BORSARI, A. C. P.; DE OLIVEIRA, S. S.; VON DER WEID, I.; VEILLARD, P.; ZILLI, J. E. Microbial bioinputs in Brazilian agriculture. Journal of Integrative Agriculture, v. 25, n. 2, p. 402–423, 2026.

WEN, J.; SMELT, J. P. P. M.; VISCHER, N. O. E.; DE VOS, A. L.; SETLOW, P.; BRUL, S. Heat activation and inactivation of bacterial spores: is there an overlap? Applied and Environmental Microbiology, Washington, DC, v. 88, n. 5, e02324-21, 2022.