INSTITUTO FEDERAL
Goiano
Campus Rio Verde

BACHARELADO EM AGRONOMIA

TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS NA PRODUÇÃO DE BIOINSUMOS PARA AGRICULTURA

VITÓRIA RODRIGUES DA SILVA

Rio Verde – Goiás
2025

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO CAMPUS RIO VERDE

BACHARELADO EM AGRONOMIA

TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS NAPRODUÇÃO DE BIOINSUMOS PARA AGRICULTURA

VITÓRIA RODRIGUES DA SILVA

Relatório de Estágio Curricular apresentado ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, como requisito parcial para obtenção de grau de Bacharelado em Agronomia.

Orientadora: Prof. Dra. Darliane de Castro Santos

Rio Verde – Goiás
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF Goiano - SIBi

Rodrigues, Vitória
696 Técnicas Microbiológicas na Produção de Bioinsumos para Agricultura / Vitória Rodrigues. Rio Verde 2025.

27f. il.

Orientadora: Profª. Dra. Darliane de Castro Santos.
Tcc (Bacharel) - Instituto Federal Goiano, curso de 0220024 - Bacharelado em Agronomia - Integral - Rio Verde (Campus Rio Verde).
1. Bioinsumos. 2. Fermentação. 3. Microrganismos. 4. Inoculação. 5. Biotecnologia. I. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO

PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- ☐ Tese (doutorado)
- ☐ Dissertação (mestrado)
- ☐ Monografia (especialização)
- ☑ TCC (graduação)
- ☐ Artigo científico
- ☐ Capítulo de livro
- ☐ Livro
- ☐ Trabalho apresentado em evento
- ☐ Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:
Vitória Rodrigues da Silva

Matrícula:
2021102200240164

Título do trabalho:
TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS NA PRODUÇÃO DE BIOINSUMOS PARA AGRICULTURA

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: ☑ Não ☐ Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 6 /8 /25

O documento está sujeito a registro de patente? ☐ Sim ☑ Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? ☐ Sim ☑ Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

• Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;

• Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;

• Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde (Local) 6 /8 /25 (Data)

Documento assinado digitalmente
gov.br
VITORIA RODRIGUES DA SILVA
Data: 08/08/2025 10:42:10-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Documento assinado digitalmente
gov.br
DARLIANE DE CASTRO SANTOS
Data: 06/08/2025 11:26:02-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Assinatura do(a) orientador(a)

Regulamento de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) – IF Goiano - Campus Rio Verde

ANEXO V - ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Aos 02 dias do mês de julho de dois mil e vinte e cinco, às 08 horas, reuniu-se a Banca Examinadora composta por: Profª. Darliane de Castro Santos (orientadora), Prof. Alaerson Maia Geraldine (membro interno) e Dr. Eugênio Miranda Sperandio (membro externo), para examinar o Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado "TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS NA PRODUÇÃO DE BIOINSUMOS PARA AGRICULTURA" de VITÓRIA RODRIGUES DA SILVA , estudante do curso de Agronomia do IF Goiano – Campus Rio Verde, sob Matrícula nº 2021102200240164. A palavra foi concedida à estudante para a apresentação oral do TC, em seguida houve arguição do candidato pelos membros da Banca Examinadora. Após tal etapa, a Banca Examinadora decidiu pela APROVAÇÃO da estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata, que, após apresentação da versão corrigida do TC, foi assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Rio Verde, 02 de julho de 2025.

(Assinado eletronicamente)

Darliane de Castro Santos

Orientador(a)

(Assinado eletronicamente)

Alaerson Maia Geraldine

Membro da Banca Examinadora

(Assinado eletronicamente)

Eugênio Miranda Sperandio

Membro da Banca Examinadora

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelas oportunidades e por me fortalecer em cada etapa dessa jornada.

À minha família, por todo amor, incentivo e por acreditarem sempre em mim.

À minha orientadora, por todo suporte, orientação e disponibilidade.

A toda equipe do laboratório Metabtech, pelo acolhimento e por compartilharem comigo seus conhecimentos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....5
2. REVISÃO DE LITERATURA 8
2.1. Empresa Metabtech.....8
2.2. Agricultura regenerativa.....8
2.3. Fermentação 9
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....10
3.1. Preparo de meios de cultura 10
3.2. Repicagem, pré-inoculação, inoculação e incubação.....13
3.3. Fermentação bacteriana em biorreator 16
3.4. Coloração de endósporos (Técnica de Shaeffer – Fulton).....19
3.5. Técnica de choque térmico.....20
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS 22
5. REFERÊNCIAS 23

RESUMO

SILVA, Vitória Rodrigues. **Técnicas Microbiológicas na Produção de Bioinsumos para Agricultura.** 2025. 25 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia). Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Rio Verde, GO.

A participação em atividades extracurriculares durante a graduação é essencial para o desenvolvimento acadêmico. Essas experiências complementam a formação técnica e teórica adquirida em sala de aula, proporcionando vivências práticas que ampliam o aprendizado. Este trabalho descreve as atividades de estágio desenvolvidas na empresa Metabtech, com foco na área de análises microbiológicas, com ênfase na aplicação prática de técnicas de fermentação com foco na produção de bioinsumos, avaliação de bactérias e avaliação de fungos, visando garantir a viabilidade e qualidade de produtos a serem fabricados. Durante o estágio foram conduzidas rotinas de monitoramento de microrganismos de interesse, utilizando metodologias padronizadas e adaptadas às necessidades específicas de produção. As atividades de fermentação bacteriana incluíram a preparação de meios de cultura adequados, controle rigoroso de parâmetros como temperatura, pH e tempo de incubação, além da análise de crescimento microbiano por meio de contagem de colônias viáveis e observações morfológicas. Paralelamente, foram conduzidas avaliações de fungos, abrangendo isolamento, identificação e testes de viabilidade. Este trabalho evidencia a importância do controle microbiológico como etapa essencial no desenvolvimento de processos biotecnológicos seguros e eficazes, e ressalta o papel das análises microbiológicas na garantia da qualidade e estabilidade dos produtos biológicos destinados ao setor comercial.

Palavras chave: análise microbiológica, avaliação, bioinsumos, fermentação, viabilidade.

1. INTRODUÇÃO

A busca por práticas de produção mais sustentáveis na agricultura é impulsionada por diversos questionamentos e estimula o desenvolvimento de novas tecnologias, bem como de estratégias inovadoras de organização e execução das atividades agrícolas.

A sustentabilidade depende da combinação e uso adequado dos recursos naturais, do trabalho e das tecnologias empregadas nos sistemas de produção (Alcantara, 2020). As decisões e estratégias adotadas por produtores rurais, agroindústrias, consumidores e gestores públicos, entre outros agentes, influenciam diretamente a forma como os alimentos são produzidos, processados e consumidos (Alcantara, 2020).

Essas escolhas também afetam os custos de produção, os impactos no meio ambiente, a qualidade dos alimentos e o desenvolvimento de uma agricultura sustentável, que pode melhorar a vida social e econômica das comunidades rurais (Alcantara, 2020).

Os bioinsumos utilizados no controle biológico, inseridos no contexto da indústria de insumos agrícolas, constituem tecnologias biológicas baseadas na utilização de microrganismos. Tais tecnologias apresentam características que favorecem a sustentabilidade, ao mitigar os impactos decorrentes do uso intensivo de produtos químicos.

Entretanto, ainda enfrentam desafios significativos relacionados ao seu desenvolvimento e aplicação. O controle biológico era visto como pouco eficaz, tal percepção mudou completamente nas últimas décadas.

As empresas passaram a investir em tecnologia de formulação e aplicação, obtendo com isso produtos de controle cada vez mais efetivos. Do ponto de vista econômico, um inimigo natural efetivo é aquele que controla a praga mantendo sua população abaixo do nível de dano econômico para a cultura (Bueno; Lins; Junior; Silveira, 2020).

A eficácia do controle biológico depende de diversos fatores, porém, o monitoramento de doenças e pragas, planejamento e aplicação correta são cruciais para o seu sucesso no campo. Além disso, são importantes questões relacionadas à disponibilidade, qualidade, transporte e armazenamento dos bioinsumos, bem como suas conexões com as estruturas regulatórias (Parra et al., 2024).

Apesar dos desafios, o mercado brasileiro de bioinsumos para controle biológico vem experimentando a expansão do registro de produtos e sua comercialização. De acordo com a CropLife Brasil (2025), (CLB), entidade que representa as indústrias de pesquisa e desenvolvimento de tecnologias voltadas a agricultura, a utilização de bioinsumos no país apresentou um crescimento de 13% na safra 2024/2025. Nos últimos três anos, o setor registrou

uma taxa média de crescimento anual de 22%, valor que representa um ritmo quatro vezes superior à média observada globalmente.

Diante esse cenário de expansão e inovação no setor agrícola, torna-se cada vez mais evidente a importância dos processos biotecnológicos, como a fermentação, para a produção eficiente de bioinsumos baseados em bactérias e fungos (Torres, 2022).

Esses microrganismos desempenham papeis fundamentais no controle de pragas, na promoção do crescimento vegetal e práticas agrícolas sustentáveis (Delgado, 2023). A fermentação se destaca como uma etapa chave, pois é por meio dela que se garante a multiplicação segura e em larga escala desses agentes biológicos, com qualidade e eficácia (Teixeira, 2023).

O avanço nas pesquisas e o uso estratégico de espécies como *Bacillus subtilis* e *Trichoderma spp,* reforçam o potencial dessas tecnologias para reduzir a dependência de insumos químicos e minimizar os impactos ambientais (Delgado, 2023).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Empresa Metabtech

A empresa Metabtech foi fundada em 2022, em Rio Verde/GO, com foco em atividades voltadas a inovação ao desenvolvimento sustentável no setor agroindustrial. Suas principais atividades incluem o apoio técnico a agricultura, a pesquisa voltada ao desenvolvimento de defensivos agrícolas biológicos, a realização de testes e análises técnicas especializadas, além da condução de pesquisas e desenvolvimento experimental em ciências físicas e naturais.

A atuação da Metabtech destaca-se pelo compromisso com a aplicação de tecnologias inovadoras e sustentáveis, contribuindo para o avanço da agricultura de base biológica e para a geração de soluções que promovam maior eficiência produtiva e menor impacto ambiental.

2.2. Agricultura regenerativa

Recentemente, com a intensificação dos efeitos das alterações climáticas e a pandemia de COVID-19, o interesse público e científico pela agropecuária regenerativa tem crescido significativamente (Johnson et al., 2021).

Esse aumento no interesse reflete a necessidade urgente de abordagens sustentáveis e resilientes na produção de alimentos, bem como o reconhecimento do papel fundamental que a regeneração ambiental desempenha na mitigação dos impactos negativos das mudanças climáticas e na promoção da segurança alimentar global (Gliessman, 2015).

A agricultura regenerativa representa um passo à frente, com base em teorias de hierarquia ecológica e práticas conservacionistas, visa à regeneração e manutenção de todo o sistema de produção alimentar, incluindo as comunidades rurais e consumidores, de forma a aumentar sua resiliência (Souza et al, 2024).

Muitos produtores convencionais passaram a adotar essas práticas há alguns anos, especialmente ao notarem a redução da produtividade provocada pela degradação do solo (Souza, et al, 2024).

Apesar dos desafios iniciais, eles continuaram a usar essas práticas devido aos benefícios observados, como redução da dependência de insumos químicos e aumento do teor de carbono no solo (Altieri, 1995; LaCanne; Lundgren, 2018; Chappell et al., 2019; Souza, 2023). Esses agricultores encontraram apoio em diversas fontes, incluindo grandes universidades, agências federais e organizações sem fins lucrativos.

Na agricultura regenerativa, o controle biológico tem grande importância por contribuir para o equilíbrio ecológico dos agroecossistemas, essa prática dá prioridade a restauração e a

preservação dos processos naturais que favorecem a biodiversidade funcional. No setor agrícola, estratégias biológicas de controle ocorre por meio de um processo estruturado que se inicia com a identificação, por partes dos agricultores, das pragas ou doenças que estão afetando negativamente as culturas (Infante et al., 2014; Zanuncio Junior et al.,2018).

A partir desse diagnóstico, são selecionados organismos vivos com comprovada eficácia no combate aos agentes causadores do problema. Esses organismos denominados agentes de controle biológico são posteriormente introduzidos nas áreas de cultivo, onde atuam no controle populacional dos patógenos, contribuindo dessa forma para a proteção das plantas e do sistema produtivo (Embrapa, 2006).

Os microrganismos benéficos caracterizam um papel fundamental no desenvolvimento agrícola, uma vez que, promovem o melhor desempenho das culturas, promovendo diversos benefícios às plantas e ao solo com a introdução de bactérias e fungos (Jaén-Contreras et al., 2022).

2.3. Fermentação

Os processos microbianos ocorrem na fermentação submersa (FSM ou fermentação líquida) e em estado semi-sólido ou sólido (FES) (Reguly, 2000). A fermentação submersa é caracterizada pelo uso de um meio de cultura liquido, rico em nutrientes solúveis, que permite melhor controle dos parâmetros físico-químicos, como pH, temperatura e aeração (Alonso, 2001).

Possui certa facilidade para cultivo em larga escala, pois assegura uniformidade do meio de cultivo e permite o controle eficiente das condições do processo, especialmente quando são utilizados sensores apropriados para o monitoramento (Couto et al, 2006)

Em processos de fermentação industrial, tanto o meio de cultivo quanto as condições operacionais exercem um papel fundamental, sendo determinantes para atingir altas concentrações e a eficiência na produção do produto desejado (Sousa, 2013).

Portanto, para garantir a viabilidade econômica do processo fermentativo, é essencial otimizar tanto o meio de cultivo quanto as condições operacionais, visando maximizar a produtividade e, consequentemente, os lucros obtidos (Schimidt, 2005).

A otimização dos processos fermentativos exige a avaliação de diversas combinações e ordens de aplicação dos componentes do meio e das variáveis operacionais, com o objetivo de identificar as condições que favoreçam o maior acúmulo de biomassa, associada ao melhor perfil fisiológico para a síntese eficiente do produto desejado (Sousa, 2013).

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

O presente estágio teve vigência do dia 12 de março de 2025 a 12 de junho de 2025, com atividades de análises laboratoriais aplicadas a pesquisas cientificas, especialmente no contexto do controle biológico de pragas e doenças agrícolas. As atividades desenvolvidas abrangeram principalmente a avaliação da viabilidade e concentração de bactérias do gênero *Bacillus thuringiensis* (Bt), além disso, foram conduzidas analises microbiológicas com foco em fungos entomopatogênicos e antagonistas, como *Metarhizium spp.*, *Beauveria spp.*, *Trichoderma spp.*, *Cordyceps spp.*, com o objetivo de verificar sua viabilidade, pureza e potencial de atuação em diferentes condições. As principais atividades realizadas durante o estágio incluíram:

- Preparo de meios de cultura;
- Repicagem, pré-inoculação, inoculação e incubação;
- Participação no processo de fermentações bacteriana em biorreatores;
- Contagem de unidades formadoras de colônia (UFC);
- Coloração de Schaeffer – Fulton;
- Técnica de choque térmico.

Essas atividades foram cruciais para o meu desenvolvimento acadêmico, pois permitiu consolidação de conhecimentos teóricos durante a graduação.

3.1. Preparo de meios de cultura

Os meios de cultura são um conjunto de substâncias formuladas de maneira adequada, capazes de promover o crescimento bacteriano, as quais podem ser cultivadas em meios de cultura líquidos e sólidos (Vieira; Fernandes, 2012). Suas características básicas incluem:

- Fonte de carbono (glicose ou sacarose): fundamental para fornecer energia e estruturas básicas celulares;
- Fonte de nitrogênio (peptona ou extrato de levedura): essenciais para a síntese de proteínas e ácidos nucleicos;
- Fonte de energia: auxilia o metabolismo celular;
- Sais minerais: participam de reações enzimáticas e equilíbrio osmótico (fosfatos, sulfatos, magnésio, ferro, etc);
- Fatores de crescimento: vitaminas e aminoácidos.

Durante os processos de fermentação para cultivo bacteriano, utiliza-se meios líquidos de enriquecimento, esse tipo de meio estimula o crescimento de bactérias presentes em uma amostra, permitindo que se multipliquem rapidamente e em grandes quantidades. O preparo do meio inclui pesagem dos ingredientes, dissolução em água filtrada, ajuste do pH, distribuição em frascos de vidro e esterilização em autoclave. Após o resfriamento, o meio está pronto para inoculação.

Os meios de cultura sólidos têm a mesma composição dos meios de cultura líquidos equivalentes, e a consistência sólida é obtida pelo acréscimo de Ágar-ágar, esses meios, após terem sofrido esterilização, são distribuídos em placas de Petri, e permitem a observação visual das colônias bacterianas crescidas sobre sua superfície.

Figura 1. Preparo de Meio de Cultura Enriquecido.
Fonte: Autoria própria.

Figura 2. Meio de Cultura Enriquecido para Fermentação.
Fonte: Autoria própria.

Figura 3. Distribuição do meio de cultura em placas de Petri.
Fonte: Autoria própria.

3.2. Repicagem, pré-inoculação, inoculação e incubação

O processo de inoculação bacteriana se inicia com a repicagem. Primeiramente, uma amostra da placa-mãe é transferida com o auxílio de um cabo kolle para uma placa de petri que contém o meio de cultivo, essa placa se tornará a placa matriz, essa placa é então vedada geralmente com fita parafilme e colocada em uma estufa de crescimento bacteriano, onde permanece incubada por aproximadamente 24 horas em uma temperatura de 28-30°C.

Após esse período, observa-se o crescimento completo das colônias bacterianas na superfície do meio sólido. Em seguida, realiza-se a lavagem da placa com o objetivo de obter uma suspensão bacteriana, para isso, é adicionada solução salina estéril sobre a placa, e utiliza-se uma alça drigalski para realizar a raspagem e homogeneização das colônias. Essa suspensão contém as bactérias viáveis que serão utilizadas nas próximas etapas.

A amostra obtida é então dividida, uma parte é utilizada para realizar diluições seriadas e plaqueamento, com o objetivo de avaliar a viabilidade e concentração bacteriana (em UFC). A outra parte é transferida para um frasco Erlenmeyer contendo meio de cultivo líquido, iniciando o processo de pré-inoculação.

O frasco é então colocado em um shaker (agitador), onde permanece em agitação constante, esse processo é importante, pois é quando começa o processo de ativação e adaptação das bactérias ao meio de cultivo, garantindo, então, que elas estejam em plena atividade metabólica no momento da transferência para o biorreator.

Após esse processo, retira-se uma amostra para realizar novamente uma diluição seriada e plaqueamento para verificar a viabilidade e a concentração celular. O meio é então transferido para o biorreator, dando início ao processo de fermentação em maior escala.

Todas as amostras após serem diluídas e plaqueadas, elas são vedadas e incubadas na estufa de crescimento bacteriano, mantidas a uma temperatura entre 28-30°C, após um período de 24 horas, já é possível observar o crescimento de colônias bacterianas, permitindo a realização da contagem (UFC), bem como analises e interpretações dos resultados obtidos.

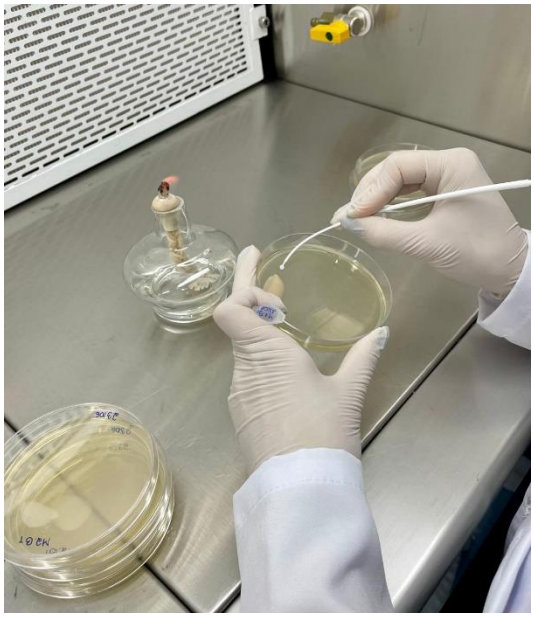

Figura 4. Repicagem de bactéria.
Fonte: Autoria Própria

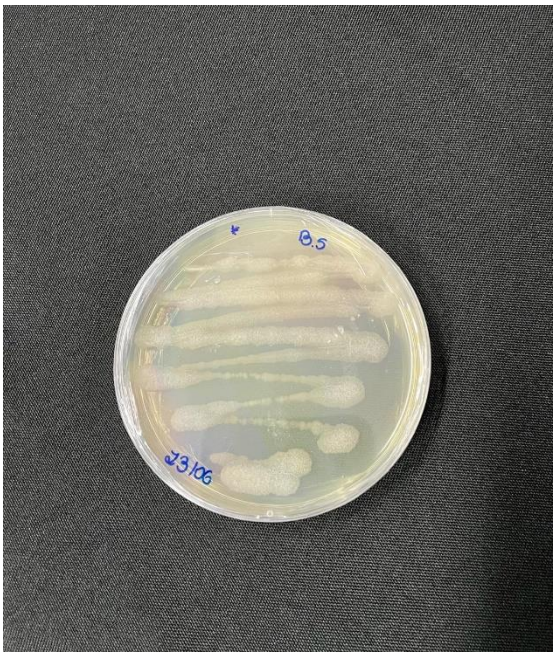

Figura 5. Crescimento de colônia em formato de estria.
Fonte: Autoria própria

Figura 6. Lavagem de placa com solução salina estéril.
Fonte: Autoria Própria

Figura 7. Inoculação do meio de cultura.
Fonte: Autoria própria

Figura 8. Incubadora shaker.
Fonte: Autoria própria

3.3. Fermentação bacteriana em biorreator

O Biorreator é um equipamento utilizado nos processos de fermentação, projetado para oferecer condições controladas e ideais ao crescimento de microrganismos, trata-se, geralmente, de um vaso cilíndrico que permite a transformação de matérias primas em produtos de interesse por meio da multiplicação celular (Teixeira, 2023).

Esse equipamento deve ser capaz de suportar condições rigorosas, como a pressão durante esterilização, além de atender as exigências especificas de cultivo de diferentes tipos de microrganismos (Teixeira, 2023).

Durante o processo, variáveis como temperatura, pH, demanda de oxigênio e liberação de dióxido de carbono são monitorados e ajustados para maximizar a eficiência da fermentação (Pinheiro, 2015). O tempo da fermentação pode variar de acordo com diversos fatores, como a cepa bacteriana utilizada e a composição do meio de cultivo. De modo geral, a duração total da fermentação varia de 24 a 72 horas (Sousa, 2013).

Nas primeiras 12 horas, ocorre o crescimento exponencial da bactéria (fase log) caracterizada pela rápida multiplicação celular, em seguida, inicia-se a fase estacionária, marcada pela desaceleração do crescimento e pelo início da esporulação, por fim, atinge-se o pico de produção de esporos e cristais proteicos (Sousa, 2013).

A temperatura ideal para o cultivo de *Bacillus thuringiensis* varia entre 28°C e 32°C, sendo 30°C a mais comumente utilizada, o pH deve ser mantido entre 6,8 e 7,2 ou seja, em condições neutras a ligeiramente alcalinas (Roth, 2020). É necessário monitoramento contínuo, pois, durante a fase de crescimento, o pH tende a diminuir em razão da atividade metabólica, enquanto durante a esporulação, tende a aumentar, e para manter o pH dentro da faixa ideal, realiza-se a correção automática com soluções acidas ou alcalinas (Sousa, 2013)

A aeração é essencial nesse processo, pois garante o fornecimento de oxigênio necessário para a respiração celular dos microrganismos, esse processo é regulado por sistemas de injeção de ar ou oxigênio, promovendo um crescimento celular (Teixeira, 2023).

Já a agitação tem como principal função manter o meio de cultivo homogêneo, evitando a sedimentação de partículas e assegurando que os microrganismos tenham acesso uniforme aos nutrientes e ao oxigênio dissolvido (Teixeira, 2023).

Figura 9. Equipamento Biorreator.
Fonte: Alfa Mare

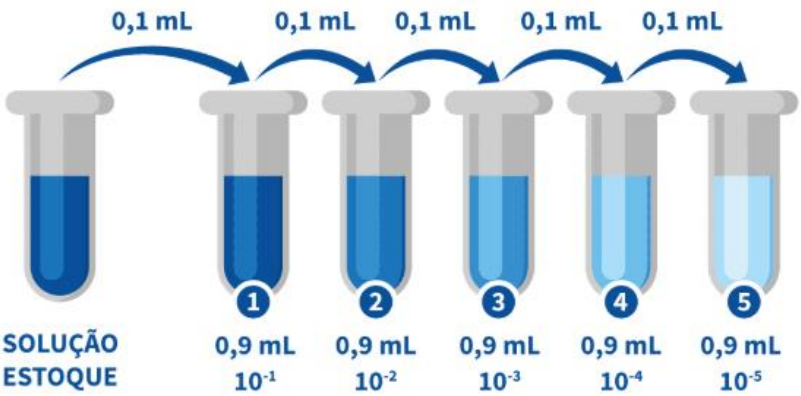

Figura 10. Representação de diluição seriada.

Fonte: Kasvi

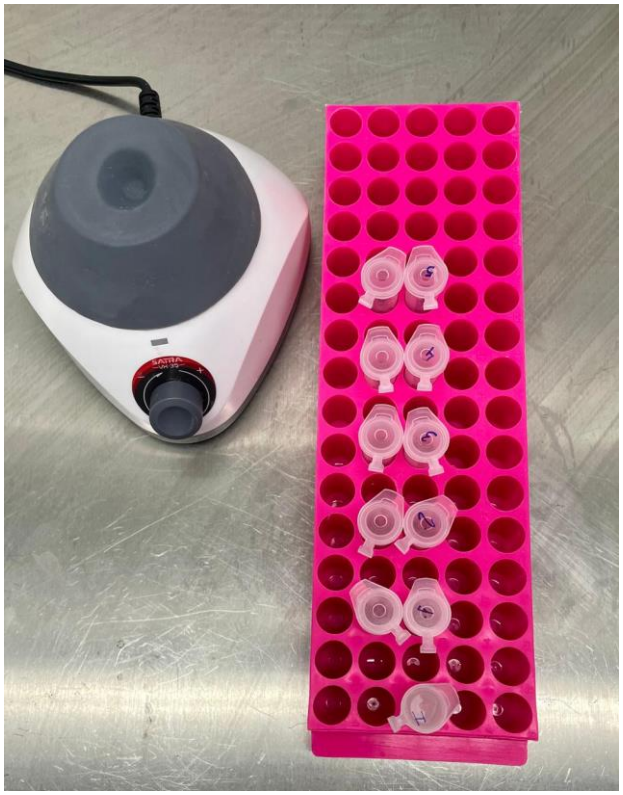

Figura 11. Diluição seriada.
Fonte: Autoria própria

Figura 12. Amostra inoculada na placa de petri com meio de cultura.
Fonte: Autoria própria

Figura 13. Plaqueamento da amostra.
Fonte: Autoria própria

Figura 14. Placas incubadas em estufa bacteriológica.
Fonte: Furlab

3.4. Coloração de endósporos (Técnica de Shaeffer – Fulton)

Segundo Signor et al. (2016), algumas bactérias, quando expostas a condições ambientais desfavoráveis, iniciam um processo de diferenciação celular no qual ocorre a desidratação da célula e a formação de uma estrutura altamente resistente. Essa estrutura,

chamada endósporo (ou esporo bacteriano), é formada a partir do envolvimento do citoplasma e do material genético por uma parede espessa e protetora, localizada dentro da membrana celular (Tortora et al., 2013). As bactérias capazes de formar esses endósporos são conhecidas como bactérias esporuladas (Brock, 2012).

O método de Shaeffer-Fulton é fundamental para a visualização seletiva de endósporos bacterianos, em que utiliza o calor para facilitar a penetração do corante verde de malaquita no interior do endósporo, cuja estrutura altamente resistente impede a entrada de corantes em suas condições normais (Oktari et al., 2017).

Em seguida, a lavagem com água remove o corante das células vegetativas, mas os endósporos retêm a coloração verde devido a sua estrutura resistente. A célula, então, é contra-corada com Safranina, adquirindo a cor rosa, ao final da coloração, os endósporos verdes podem ser observados dentro das células vegetativas rosadas ou isolados, fora das células (Oktari et al., 2017). Caso não haja endósporos presentes na amostra, serão visíveis apenas as células vegetativas coradas de rosa.

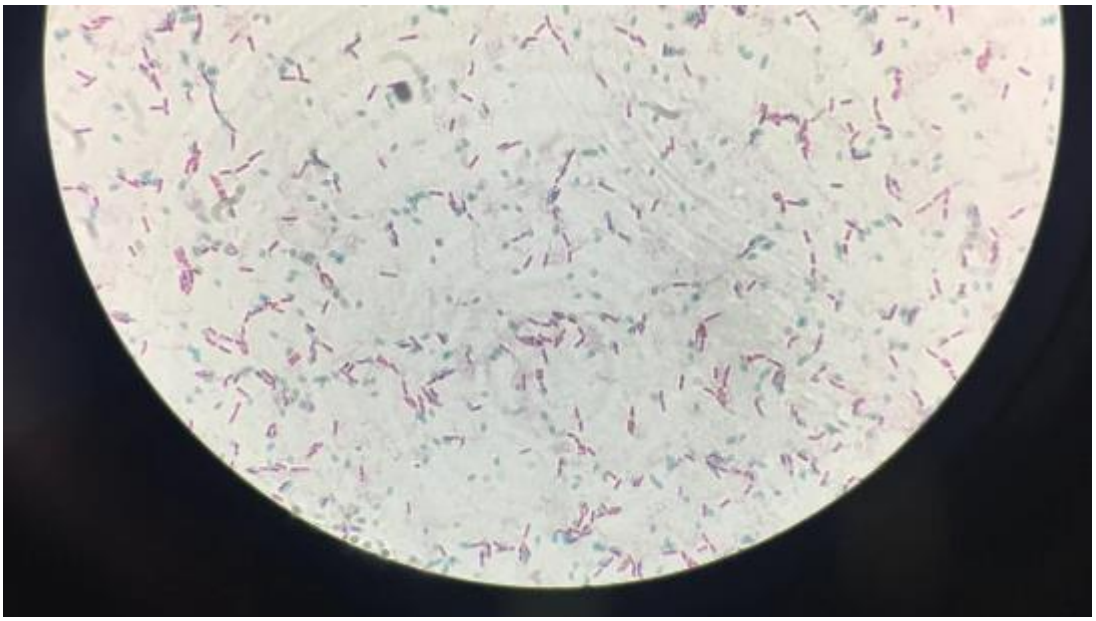

Figura 15. Visualização de endósporos – Fonte: Revista RBAC – Principais métodos clássicos de coloração em bacteriologia

3.5. Técnica de choque térmico

A técnica do choque térmico é utilizada para diferenciar e quantificar endósporos bacterianos em uma amostra, essa técnica inativa as células vegetativas, preservando apenas os endósporos viáveis. Esse processo ocorre em suspensão liquida, então a amostra é submetida a

aquecimento controlado, de 80°C a 12 minutos (Embrapa, 2022). Esse processo promove a morte das células vegetativas, enquanto os endósporos sobrevivem devido a sua resistência.

Após o tratamento térmico, a amostra passa pelo processo de resfriamento por 5 minutos, e em seguida é feita a diluição seriada, o plaqueamento e a incubação das amostras (Embrapa, 2022). Logo que a incubação é concluída, apenas os endósporos que germinaram darão origem a colônias, possibilitando a avaliação da presença e quantidade de endósporos viáveis.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização do estágio obrigatório proporcionou uma oportunidade significativa de vivência direta, com atividades relacionadas a microbiologia aplicada a agricultura sustentável, especialmente no contexto do controle biológico. As atividades desenvolvidas, possibilitaram a aplicação direta de conhecimentos teóricos adquiridos durante a graduação. Essa prática supervisionada contribuiu não apenas para o fortalecimento da formação acadêmica, mas também para o desenvolvimento de habilidades técnicas e cientificas fundamentais para a atuação no setor agrícola.

Além disso, o contato direto com a rotina laboratorial voltado a produção e análise de bioprodutos, possibilitou uma compreensão mais aprofundada dos desafios e inovações, relacionados ao desenvolvimento de bioinsumos de alta qualidade, capazes de atender a crescente demanda por alternativas sustentáveis na agricultura. Essa experiência demonstrou ser relevante, especialmente no atual cenário de expansão do mercado brasileiro de biotecnologias agrícolas, evidenciado a importância da qualificação técnica dos profissionais, para acompanhar as exigências e transformações desse setor em constante crescimento.

5. REFERÊNCIAS

AGROFY NEWS. **Adoção de bioinsumos cresceu 13% na safra 2024/2025.** Agrofy News, 5 jun. 2025. Disponível em: https://news.agrofy.com.br/noticia/207452/adocao-bioinsumos-cresceu-13-na-safra-20242025. Acesso em: 23 jun. 2025.

ALCANTARA, Isabela Romanha de. **Fatores de produção, agricultura e desenvolvimento econômico regional no Brasil. 2020.** 164 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Agronegócio) – Centro de Ciências Sociais Aplicadas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2020. Disponível em: <https://tede.unioeste.br/bitstream/tede/4780/2/Isabela_Alcantara_2020.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2025.

BORTOLOTI, Gillyene; SAMPAIO, Renata Martins. **Desafios e estratégias no desenvolvimento dos bioinsumos para controle biológico no Brasil.** *Revista de Tecnologia e Sociedade*, v. 20, n. 60, 2024. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rts/article/view/15792>. Acesso em: 14 jun. 2025. DOI: 10.3895/rts.v20n60.15792.

COSTA, Renata Garcia; ESTEVES, Wagner Thadeu Cardoso; NOGUEIRA, Joseli Maria da Rocha. **Principais métodos clássicos de coloração em bacteriologia: aplicações, técnicas, fundamentos e limitações.** *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, Rio de Janeiro, v. 56, n. 3, p. 183-196, 2024. Disponível em: <https://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2024/12/RBAC-vol-56-3-2024_artigo05_PT.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2025.

DELGADO, Nathália Felipe**. Avaliação da produção de biológicos on-farm e seu papel no setor agrícola. 2023.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2023. Disponível em: <https://dspace.unila.edu.br/items/aa06e90a-1ce8-4f75-8fd2-d6ec8df6f866>. Acesso em: 14 jun. 2025.

LANNA FILHO, Roberto; FERRO, Henrique Monteiro; PINHO, Renata Silva Canuto de. **Controle biológico mediado por Bacillus subtilis**. Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas, v. 4, n. 2, p. 12-18, 2010. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/233140814.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2025.

LEITE, Laís Oliveira. **Cinética de crescimento de Bacillus subtilis ATCC 6633 e atividades proteolítica e celulolítica em meios de cultura formulados a partir do hidrolisado ácido da macroalga vermelha Solieria filiformis. 2022.** 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/69966/3/2022_tcc_loleite.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2025.

LIMA, Jhonata. **Avaliação econômica das práticas agrícolas: um estudo comparativo de custos na agricultura regenerativa e tradicional no cerrado. 2023.** Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias – Agronomia) – Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Rio Verde, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/4307>. Acesso em: 14 jun. 2025.

MONNERAT, Rose G.; BORDAT, Dominique; CASTELO BRANCO, Marina; FRANÇA, Félix H. **Efeito de Bacillus thuringiensis Berliner e inseticidas químicos sobre a traça-das-crucíferas, Plutella xylostella (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) e seus parasitóides.** Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 29, n. 4, p. 723-730, dez. 2000. Disponível em: <https://seb.org.br/admin/files/papers/file_5Y5gV7P8eLnF.pdf.>. Acesso em: 14 jun. 2025.

MEYER, M. C.; BUENO, A. de F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. **Bioinsumos na cultura da soja. Brasília, DF: Embrapa Soja, 2022.** 550 p. Disponível em: https:<//www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1143066/bioinsumos-na-cultura-da-soja>. Acesso em: 23 jun. 2025.

SAMBUICHI, Regina Helena Rosa Policarpo; ALVES, Mariana Aquilante; FÁBIO. **A produção de bioinsumos no Brasil: desafios e potencialidades. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), 2023**. Disponível em: <https://repositorio.ipea.gov.br/handle/11058/16003>. Acesso em: 14 jun. 2025.

SAMBUICHI, Regina Helena Rosa; POLICARPO, Mariana Aquilante; ALVES, Fabio; GUALDANI, Carla; PACÍFICO, Daniela Aparecida**. O Programa Nacional de Bioinsumos no âmbito da Política Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica: origem, contribuições e potencialidades**. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), 2023. Texto para Discussão, n. 2933. Disponível em:<https://hdl.handle.net/10419/285055>. Acesso em: 14 jun. 2025.

SIGNOR, Diana**. Guia prático de biologia do solo.** Curitiba: SBCS; NEPAR, 2016. 152 p. Disponível em:<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1044395/1/Diana3.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2025.

SOUZA, Maurício Novaes et al. **Agricultura regenerativa: abordagens, técnicas e práticas conservacionistas de água e solo no Sítio Jaqueira Agroecologia.** In: SOUZA, Maurício Novaes (Org.). Tópicos em recuperação de áreas degradadas. Mérida: Mérida Publishers, 2024. Disponível em: <https://meridapublishers.com/rad8/cap02.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2025.

OKTARI, A.; SUPRIATIN, Y.; KAMAL, M.; SYAFRULLAH, H**. The bacterial endospore stain on Schaeffer Fulton using variation of methylene blue solution.** *Journal of Physics: Conference Series*, v. 812, p. 012066, 2017. DOI: 10.1088/1742-6596/812/1/012066. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/812/1/012066>. Acesso em: 25 jun. 2025.

TECNAL. **Como funciona um biorreator? Tecnal Equipamentos Científicos, 2016**. Disponível em: <https://tecnal.com.br/pt-BR/blog/426_como_funciona_um_biorreator>. Acesso em: 23 jun. 2025.