

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**CLAUDINEIA PAULUK**

**MONITORAMENTO DA BIODEGRADAÇÃO COM AÇÃO DE BIOFERTILIZANTE  
EM SOLO DE UMA HORTA NA UTFPR CAMPO MOURÃO-PARANÁ.**

**CAMPO MOURÃO**

**2022**

**CLAUDINEIA PAULUK**

**MONITORAMENTO DA BIODEGRADAÇÃO COM AÇÃO DE  
BIOFERTILIZANTE EM SOLO DE UMA HORTA NA UTFPR CAMPO  
MOURÃO-PARANÁ.**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentada como requisito para obtenção do título de  
Licenciado em Química da Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Agenor Alves Bueno.

Coorientador(a): Prof. Dra. Estela Dos Reis Crespan.

**CAMPO MOURÃO**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**CLAUDINEIA PAULUK**

**MONITORAMENTO DA BIODEGRADAÇÃO COM AÇÃO DE BIOFERTILIZANTE  
EM SOLO DE UMA HORTA NA UTFPR CAMPO MOURÃO-PARANÁ**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentada como requisito para obtenção do título de  
Licenciado em Química da Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Agenor Alves Bueno.

Coorientador(a): Prof. Dra. Estela Dos Reis Crespan.

Data de aprovação: 21/11/2022

---

Debora Cristina De Souza  
Pós-Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná

---

Marcilene Ferrari Barriquello Consolin  
Pós-Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná

---

Prof. Dra. Estela Dos Reis Crespan  
Pós-Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná

---

Prof. Dr. Paulo Agenor Alves Bueno  
Pós-Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná

**CAMPO MOURÃO**

**2022**

Aos amigos, familiares e professores do curso de licenciatura em Química do campus UTFPR de Campo Mourão pelo incentivo e apoio constantes.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a **Deus** por me instruir, por toda essa passagem acadêmica nesta universidade, por colocar as pessoas que constituem a minha família, amigos e professores.

Aos meus pais, **Ana** e **Nicolau**, por sempre me ensinarem que o estudo e o trabalho são degraus da vida para que se possa alcançar os sonhos que tanto almejamos.

Aos meus irmãos **Claudinei** e **Juliano**, pela dedicação e sempre estarem presentes em pensamentos e mensagens de apoio.

A todos os professores que estiveram presentes durante a minha formação acadêmica, não poderia estar mais grata, estimada Prof. Dra. **Estela Dos Reis Crespan** e Prof. Dr. **Paulo Agenor Alves Bueno**, por esta oportunidade de construir conhecimentos, o meu sincero obrigado! Meu coração está transbordando de alegria pela oportunidade da finalização desta etapa acadêmica.

Agradeço a todos meus amigos **Francielle, Danielli, Leandro, Ana, Zé Roberto** e colegas que passaram por essa trajetória, aos que contribuíram para essa pesquisa **Karine, Joao, Larissa** e a todos que contribuíram direta ou indiretamente com esta pesquisa, não poderia deixar de agradecer ao meu esposo **Fagner Gabriel** pelo incentivo, compreensão e apoio constante.

## RESUMO

O solo teve drásticas alterações com o surgimento de agriculturas em grande escala, tendo provocado a deficiência de minerais e macronutrientes, assim com o desenvolvimento rápidos dessas culturas causaram o empobrecimento do solo. Com a aplicação de fertilizantes químicos com o tempo houve a saturação desses compostos químicos, onde o solo não é capaz de suprir esses produtos químicos. Para a substituição dos fertilizantes temos os biofertilizantes que são fertilizantes naturais, onde são compostos por organismos vivos, não afetando o processo natural do solo, a degradação é um processo natural, onde é causado pelo intemperismo do solo, com a degradação acelerada pela atividade humana desenfreada, causadas pelo extrativismo, produção agrícola e pastoril, tem se prejudicado a microbiota do solo. Uma técnica da Europa usada para comparar as taxas de degradação do solo em diferentes lugares do mundo, chamada de *Tea Bag Index* e um bioindicador do solo, que foi usado neste estudo para comparar a utilização dos biofertilizantes compostos pelo *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp. e a comparação do aumento de microrganismos como das bactérias aeróbicas totais e produtoras de celulase e fungos totais. Com a aplicação do tratamento obtivemos uma resposta de até cinco vezes mais de fosforo (P), presente na área tratada, com o potássio (K) tivemos o dobro desse elemento no solo sendo que o potássio (K) é um elemento estrutural para a formação das plantas. No uso em comparação da degradação dos chás a melhores respostas foi do chá vermelho onde esse chá é formado por raízes das plantas, apesar de um período considerado quente onde em 2020 o aumento da temperatura foi significativa, havendo uma estiagem histórica na bacia do rio Paraná em 2021 na mesma fase que houve o estudo podemos considerar que o tratamento com os biofertilizantes superaram as expectativas.

Palavras-chave: microrganismos; *Bacillus subtilis*; *Trichoderma* spp.; *Tea Bag Index*.

## ABSTRACT

The soil underwent drastic changes with the emergence of large-scale agriculture, which caused a deficiency of minerals and macronutrients, as well as the rapid development of these cultures, which caused the impoverishment of the soil. With the application of chemical fertilizers over time there was a saturation of these chemical compounds, where the soil is not able to supply these chemical products. For the replacement of fertilizers we have biofertilizers that are natural fertilizers, where they are composed of living organisms, not affecting the natural process of the soil, degradation is a natural process, where it is caused by soil weathering, with degradation accelerated by human activity unbridled, caused by extractivism, agricultural and pastoral production, the soil microbiota has been harmed. A European technique used to compare soil degradation rates in different parts of the world, called the Tea Bag Index and a soil bioindicator, which was used in this study to compare the use of biofertilizers composed of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma* spp. and the comparison of the increase of microorganisms with total aerobic and cellulose-producing bacteria and total fungi. With the application of the treatment we obtained a response of up to five times more phosphorus (P), present in the treated area, with potassium (K) we had twice as much of this element in the soil and potassium (K) is a structural element for the plant formation. When comparing the degradation of teas, the best responses were for red tea, where this tea is formed by plant roots, despite a period considered hot where in 2020 the temperature increase was significant, with a historic drought in the Paraná River basin in 2021, at the same stage as the study, we can consider that the treatment with biofertilizers exceeded expectations.

Keywords: microorganisms; *Bacillus subtilis* and *Trichoderma* spp; Tea Bag Index.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Imagem área da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, onde está localizada a horta experimental. ....	22
Figura 2 - Imagem A com a área onde os saquinhos de chá foram plantados. B e C aspectos do chá vermelho antes de confeccionar os saquinhos. D saquinhos já confeccionados sendo plantado no solo. E posição e distância de como os saquinhos foram plantados no solo. E organização dos saquinhos. .	23
Figura 3 - Representação da distribuição dos pontos de coleta.....	24
Figura 4 - Imagem A coleta do solo já retirados ganhos e sujidades. B solo já secado e estabilizado em estufa pronto para ser analisado. C e D metodologia utilizada para o plaqueamento do solo. F diluição seriada. ....	25
Figura 5 – Representação da metodologia utilizada para estabilização de umidade, agitação do solo em solução salina, diluições e plaqueamento. ....	26
Figura 6 - Imagem das placas formadoras de B.A.T. ....	27
Figura 7 - Imagem das placas formadoras de B.PC. ....	28
Figura 8 - Imagem das placas formadoras de F.T. ....	29
Figura 9 - Biodegradação do chá verde .....	34
Figura 10 - Biodegradação do chá vermelho .....	35
Figura 11 - Imagem A chá verde sendo pesado na balança analítica para realizar o monitoramento no solo. B chá verde sendo pesado na balança analítica para realizar o monitoramento. C canteiro onde foi plantado os saquinhos de chá vermelho e verde D chá verde sendo retirado do saquinho	36
Figura 12 - Biodegradação dos chás verde e vermelho (com e sem Biofertilizante) .....	37
Figura 13 - Bactérias Aeróbias totais .....	38
Figura 14 - Bactérias produtoras de celulase .....	40
Figura 15 - Fungos totais.....	41
Figura 16 - Perfil de bioindicadores microbiológicos .....	41



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1</b>	<b>O solo em suas perspectivas socioambientais .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2</b>	<b>A degradação do solo .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3</b>	<b>Utilização fertilizantes e biofertilizantes no solo .....</b>	<b>14</b>
<b>2.4</b>	<b>Química Bioinorgânica e bioconcentrações .....</b>	<b>16</b>
<b>2.5</b>	<b><i>Tea bag index</i>.....</b>	<b>17</b>
<b>2.6</b>	<b>Os Microrganismos .....</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivos gerais.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>20</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1</b>	<b>Demarcação da área de estudo e características .....</b>	<b>21</b>
<b>4.2</b>	<b>Análise Química do Solo.....</b>	<b>21</b>
<b>4.3</b>	<b>Aplicação da técnica tea bag index .....</b>	<b>22</b>
<b>4.4</b>	<b>Tratamento e coletas de solo .....</b>	<b>23</b>
<b>4.5</b>	<b>Bactérias Aeróbias Totais (B.A.T.).....</b>	<b>26</b>
<b>4.6</b>	<b>Bactérias Produtoras de Celulase (B.P.C).....</b>	<b>27</b>
<b>4.7</b>	<b>Fungos Totais .....</b>	<b>28</b>
<b>4.8</b>	<b>Análise Estatística.....</b>	<b>29</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
<b>5.1</b>	<b>Análise do solo .....</b>	<b>30</b>
<b>5.2</b>	<b>Macronutrientes.....</b>	<b>31</b>
<b>5.1.1</b>	<b>Fósforo (P).....</b>	<b>31</b>
<b>5.1.2</b>	<b>Carbono Orgânico Total (COT) .....</b>	<b>32</b>
<b>5.1.3</b>	<b>Cálcio (Ca<sup>2+</sup>).....</b>	<b>32</b>
<b>5.1.4</b>	<b>Magnésio (Mg<sup>2+</sup>).....</b>	<b>33</b>
<b>5.1.5</b>	<b>Potássio (K+).....</b>	<b>33</b>
<b>5.3</b>	<b>Biodegradação do Chá Verde e Chá Vermelho.....</b>	<b>34</b>
<b>5.2.1</b>	<b>Chá verde.....</b>	<b>34</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Chá vermelho .....</b>	<b>35</b>
<b>5.4</b>	<b>MICROBIOLOGIA DO SOLO. ....</b>	<b>37</b>

5.4.1	Bactérias Aeróbias totais .....	38
5.4.2	Bactérias Produtoras de Celulase .....	39
5.3.2	Fungos Totais.....	40
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>42</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O solo é constituído por vários componentes, nele encontramos os microrganismos, que são compostos por inúmeras associações microbianas, sendo assim, pode ser considerado como um sistema vivo, onde são um dos fatores que ajudam na transformação do solo. Essas associações microbianas são sensíveis às modificações químicas e físicas, então qualquer alteração nessas perspectivas pode provocar reações ao solo, modificando o seu equilíbrio biológico.

Assim o solo sendo considerado um sistema vivo em transformação, ele é composto por fases líquidas, sólidas e gasosas o solo por possuirás diferentes fases é considerado heterogêneo. A fase sólida é composta majoritariamente por areia, silte, argila, materiais orgânicos, ácidos húmicos, ligninas, hemicelulase, celulase, amido, pectina, lignina, lipídeos e entre outros. A fase líquida abrange a solução do solo onde são absorvidos elementos químicos e moléculas solúveis. Enquanto a fase gasosa é composta por gases que circulam entre as partículas do solo (ZILLI *et al.*, 2003).

No século passado era possível observar nas florestas naturais, que mesmo onde os solos eram considerados pobres, a paisagem natural, não havia perceptíveis mudanças visíveis sobre a falta dos minerais. Com o avanço da agricultura florestal neste século atual que foram implantados, para fins industriais é possível observar que, essa cultura que traz uma espécie arbórea exótica de sua origem, mesmo que o solo a ser plantado, possua climas e solos parecidos a espécie não se comportara como no seu verdadeiro habitat. Mesmo que essa espécie seja pouco exigente em relação aos nutrientes, poderá mais cedo ou mais tarde a deficiência desses macronutrientes (POGGIANI, 1980).

Uma questão a ser analisada sobre o crescimento, dessa cultura é o seu desenvolvimento rápido, também há absorção mais acelerado desses nutrientes, assim causando o empobrecimento desses nutrientes que são importantes para as plantas. Como observamos que no crescimento de culturas em grande escala, tanto na agricultura florestal quanto a agrícola, tem se causado a deficiência desses nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas (POGGIANI, 1980).

Um dos problemas principais que alteram esses macronutrientes e microrganismos, prejudicando o equilíbrio do solo, são os fertilizantes químicos que são usados, com a finalidade de recuperar mais rápido esses nutrientes, podemos

também de uma maneira alternativa, substituir os fertilizantes químicos que, com o tempo, podem prejudicar o solo, causando a destruição dos microrganismos vivos, e causando a deficiência seria a aplicação de biofertilizantes. Podem ser aplicados, por exemplo, fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma*, os quais agem como inoculantes, que são compostos por um aditivo biológico, a base de bactérias onde esse inoculantes são capazes de desempenhar atividades que trazem benefícios para as plantas, sendo aplicados no solo, às sementes que germinarão, promovendo a melhoria na fixação do N<sub>2</sub>, ou seja, ele intensifica o processo natural da fixação do N<sub>2</sub> desde a semente até a fase adulta da planta (CHAGAS *et al.*, 2014). Outro tipo de biofertilizante é o *Bacillus Subtilis*, uma bactéria natural do solo que produz enzimas fitohormônicas, o que pode auxiliar no crescimento da vegetação (MAZZUCHELLI *et al.*, 2013).

Visando a compreensão deste importante biofertilizantes no uso do solo é preciso compreender a biodegradação do solo. Uma das técnicas utilizadas como um bioindicador do solo, na Europa existe, um estudo conhecido como *Tea Bag Index* (índice de saquinhos de chá, em português), cujos chás são constituídos por chá *green* e *roibos*, sendo que no Brasil podem ser encontrados contendo chá verde e chá vermelho. Esse método é utilizado para determinar a perda da massa de chá no solo, em que os saquinhos são enterrados no solo e permitem que posteriormente seja realizada a comparação da biodegradação desses chás, permitindo a realização do teste de umidade e das circunstâncias abióticas do solo (KEUSKAMP *et al.*, 2013).

Diante do exposto, este projeto tem a finalidade de avaliar a biodegradação dos saquinhos de chá no solo, utilizando os biofertilizantes combinados de *Trichoderma spp.* e *Bacillus Subtilis*, por meio de aplicação desses biofertilizantes a fim de comparar a evolução da biodegradação dos chás, a evolução microbiológica das bactérias produtoras de celulase, bactérias aeróbicas totais e fungos totais e análises físico-química do solo para comparar a evolução dos macronutrientes, na área da horta orgânica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Este tópico possui como objetivo explicar os assuntos que tangenciam o tema principal. Para uma melhor coesão da apresentação deste tópico, este foi subdividido em cinco subseções.

- O solo em suas perspectivas socioambientais;
- A degradação do solo;
- Utilização de fertilizantes e biofertilizantes no solo;
- Bioinorgânica e bioconcentração;
- *Tea Bag Index*.
- Microrganismos

### 2.1 O solo em suas perspectivas socioambientais

Os seres humanos demoraram a perceber a importância do solo, sendo que os homens primitivos, conhecidos como nômades, o consideravam como algo fixo e imutável. Classificavam, também, o solo apenas como sendo alguns lugares que apresentavam uma boa colheita, outros forneciam boa matéria prima (como barro para confecção de artesanato) e, com isso, o solo era considerado como parte da terra e nada mais, não se modificando e nem possuindo outra função (LEPSCH, 2010).

Com a evolução que os homens primitivos tiveram com o tempo, aprenderam a cultivar e manusear o solo, mas só foram retirando os alimentos que ali plantavam e com isso foram desestruturando o solo. Com o método da aeração foram cada vez mais aumentando as erosões, de 10 a 100 vezes, das taxas naturais. Nas últimas décadas, é possível que se tenha perdido cerca da metade da camada superficial do solo que a natureza levou milhares de anos para compor (COTRUFO *et. al*, 2017).

Para que uma planta possa ter um bom desenvolvimento, é necessários ao menos dezesseis tipos de nutrientes químicos que são encontrados na natureza: treze estão no solo e os outros três no ar, que são o oxigênio (O), carbono (C) e o hidrogênio (H). Os outros nutrientes encontrados no solo são o nitrogênio (N), fósforo (P) e o potássio (K), considerado como macronutrientes primários. Os macronutrientes secundários são o cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S). Esses nutrientes são classificados como macronutrientes porque a planta absorve uma quantidade maior para se desenvolver (TISCHER; NETO, 2012).

Para uma boa decomposição da matéria orgânica, é necessário possuir uma grande quantidade de atividade biológica, como os microrganismos vivos. Estes, que são os decompositores naturais da matéria orgânica do solo, produzem a degradação das matérias vegetais que compõem o solo, produzindo CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub> que, através dessa transformação, contribuem para a formação do composto húmico (CUNHA; MENDES; GIONGO, 2015).

A matéria orgânica no solo é composta por componentes vivos e não-vivos, os organismos vivos são raízes de plantas e os organismos do solo, já os organismos não vivos são os resíduos de plantas em decomposição e substâncias umidificadas e não umidificadas. É muito importante o solo manter um pH (potencial hidrogeniônico) neutro, para que a planta tenha um bom fornecimento de nutrientes. Portanto, uma boa matéria orgânica que o solo possui é fundamental para um bom desenvolvimento da planta, indicando uma boa característica de qualidade por possuir propriedades químicas, físicas e biológicas do solo proporcionando uma boa formação para a planta (MENEZES *et al.*, 2011).

## **2.2 A degradação do solo**

Com a intervenção humana, a degradação vem acelerando cada vez mais, prejudicando os solos e florestas, o que contribui para os desequilíbrios ecológicos. Isso ocorre pela prática de mais de 400 anos das tradições do extrativismo para a produção de produtos de origem pastoril, agrícola e madeireira. Essas devastações, que foram ocasionadas com o corte de árvores, para que houvesse a ampliação nas áreas de pastagens ocasionou transformações irreversíveis para os ecossistemas (AMÂNCIO *et al.*, 2009).

Um das principais causas de degradação do solo são causadas pela erosão que é um processo natural, mas com a atividade humana é acelerado devido a práticas do pastoreio, da aeração, e o desflorestamento. A erosão acaba removendo a camada de matéria orgânica e de nutrientes prejudicando a produtividade do solo (MARTINS; FERNANDES, 2017).

A biodegradação ocorre na natureza através da ação biológica, que ocorre através dos microrganismos, bactérias, fungos, enzimas entre outros fatores. Com adições de pesticidas essa ação microbiana presente no solo é afetada, causando um

desequilíbrio físico e químico no solo, destruindo a parte biológica do solo (ANDRIGHETTI *et al.*, 2014).

A degradação é a desintegração de matéria orgânica realizada por bactérias, como por exemplo, produtos de origem orgânica, essa matéria sofre decomposição e se transforma em nutrientes e energia, que envolve a oxidação desses compostos que podem ser mais ou menos tóxicos que sua forma inicial (ANDRIGHETTI *et al.*, 2014).

### **2.3 Utilização fertilizantes e biofertilizantes no solo**

O ser humano, com a demanda alta de produção de alimentos, utiliza fertilizantes químicos para aumentar o rendimento na produção de alimentos, porém, com a utilização frequente, podem causar impactos ambientais, como a contaminação dos lençóis freáticos e a poluição como a eutrofização e acidificação, causada pelo uso exagerado desses produtos. Esses produtos podem também alterar a microbiota do solo, reduzindo os microrganismos vivos, enzimas, bactérias entre outros que o solo possui (BOMFIM, 2016).

Os fertilizantes frequentemente apresentam em sua composição química nitrogênio, fósforo, potássio e entre outros. Contudo, as plantas não absorvem totalmente esses componentes e, com isso, promovem o excesso dessas substâncias (BERTOLI, 2011).

Uma perspectiva que traz benefícios para o meio ambiente envolve o uso de biofertilizantes – em que a palavra “bio” significa vida e “fertilizante” adubo. Na junção das duas palavras pode-se entender que biofertilizantes proporcionam a fertilização do solo através de organismos vivos (GUAZZELLI *et al.*, 2012).

Os biofertilizantes são adubos orgânicos produzidos através da compostagem de produtos orgânicos, em que todo material que se decompõe pode ser considerado matéria orgânica. Nesse processo, ocorre a fermentação dessa matéria através do contato com oxigênio, que pode ser classificado também como aeróbico (presença de oxigênio) ou anaeróbico (ausência de oxigênio). Um exemplo de matéria orgânica bastante utilizada são os dejetos de animais, uma vez que já foram inoculados por bactérias decompositoras de matéria orgânica (GUAZZELLI *et al.*, 2012).

A aplicação de biofertilizantes no solo proporciona maior qualidade de vida para as plantas e, além disso, por ser um adubo natural, torna o solo mais rico em

micro e macronutrientes. Proporcionando, também, a fixação de nitrogênio, tornando o solo sustentável, eficiente e aumentando a produtividade com baixo custo e de forma sustentável (ADUAN; VILELA; REIS, 2004).

Os ciclos da matéria são aqueles que compõem os elementos naturais presentes no solo, conhecidos como ciclos biogeoquímicos. Estes são processos naturais em que ocorre a ciclagem dos elementos físico-químicos, os quais são absorvidos pelos seres vivos, favorecendo reações químicas fundamentais para a sobrevivência. Como exemplo, tem-se os ciclos do nitrogênio, fósforo e carbono e o ciclo da água. (ADUAN; VILELA; REIS, 2004).

O ciclo do carbono envolve todos os tipos de seres vivos e pode ocorrer por meio terrestre e aquático, as moléculas de carbono passa por diversas etapas de vida na terra. Através das plantas ele é absorvido pela ajuda do sol, ocorrendo o processo da fotossíntese, realizados por organismos autotróficos, onde esses organismos produzem a respiração celular da planta, com isso o gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ) é liberado para a natureza. No caso em que esses organismos morram, ele também vai liberar o  $\text{CO}_2$ , através do processo de decomposição. Outra forma não natural de liberação do  $\text{CO}_2$ , é feito pela queima de materiais orgânicos chamado de combustão (ADUAN; VILELA; REIS, 2004).

O nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) é o elemento mais abundante da atmosfera, a qual apresenta 78% desse gás. A falta desse composto ocasiona problemas graves para a natureza em seus diversos ecossistemas. Isso porque a capacidade de captura de  $\text{N}_2$  é essencial para as plantas sintetizarem enzimas e proteínas – sendo essencial para produzir ácido desoxirribonucleico (DNA). Para que os organismos possam utilizar esse elemento é necessário que ocorra a clivagem da ligação química covalente do  $\text{N}_2$ , o em amônia ( $\text{NH}_3$ ), amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), ou nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). A transformação de  $\text{N}_2$  para esses compostos é chamada de fixação ou disponibilização de nitrogênio, em que pode haver a transformação no sentido inverso, chamado de indisponibilização (ADUAN; VILELA; REIS, 2004).

O ciclo do Fósforo é menos complexo que o ciclo do nitrogênio e carbono. O fósforo participa da formação de macromoléculas em organismos vivos, sendo um componente fundamental para a construção do DNA, ácidos nucleicos e de todos os fosfolípidios da membrana celular e, por isso, é indispensável para as formas de vida que conhecemos. Esse ciclo não depende da composição da atmosfera ou atividade microbiana, mas se caracteriza por ser um processo longo e dependente do



intemperismo dos minerais a base de fosfato  $\text{PO}_4^{3-}$  e de cálcio Ca (ADUAN; VILELA; REIS, 2004).

Vale ressaltar que todos os ciclos acontecem em conjunto e são importantes para a constituição dos ecossistemas, pois é através desses processos que os elementos desempenham funções na atmosfera, solo e seres vivos, garantido a manutenção do sistema da Terra e de todas as formas de vida que conhecemos.

## 2.4 Química Bioinorgânica e bioconcentrações

Atualmente há grande preocupação com o aumento da poluição ambiental resultante do incremento do emprego intensivo e extensivo de produtos químicos e da liberação de substâncias potencialmente tóxicas para o meio ambiente. Nessas pautas, é problematizado seus efeitos para os ecossistemas e, conseqüentemente, para a sociedade. Segundo a Agência para o Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR) vinculada ao governo americano, metais-traço como o arsênio (As), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg) apresentam elevada toxicidade e potencial de contaminação, necessitando de prioridade de monitoramento e controle desses metais (KEHRIG *et al.*, 2011). Nessa perspectiva, a Química Bioinorgânica surge como uma importante ramificação da Química.

A Química Bioinorgânica, um ramo da ciência que visa estudar o papel de elementos metálicos e não-metálicos nas funções biológicas, é uma ramificação da Química que se situa na interface das áreas mais clássicas da Química e Biologia Inorgânica (SILVA;SILVA, 2011). É de grande relevância, considerando que muitos metais desempenham significativa importância em vários processos biológicos. Além disso, a Química Bioinorgânica é ainda responsável por investigações de elementos inorgânicos em nutrição e dos níveis de toxicidade das espécies inorgânicas.

Os metais-traço são elementos com densidade superior a  $5 \text{ mg cm}^3$  e número atômico superior a 20. Esses elementos representam uma fonte potencial para a poluição ambiental, pelo fato de os metais-traço serem encontrados no ambiente em baixas concentrações, sendo denominados de “elementos potencialmente tóxicos”, devidos às propriedades prejudiciais que estes apresentam, tais como a bioacumulação (SANTANA, 2010). A maioria dos elementos-traço exercem um expressivo papel biológico na construção de estruturas orgânicas e na regulação de

fluxos de nutrientes e de energia nos organismos vivos (ANDRADE, 2003). No entanto, quando suas concentrações são elevadas, causam danos ao ambiente.

O solo possui grande capacidade de retenção de metais-traço que, em função de suas características, podem ser facilmente lixiviados, penetrando na cadeia alimentar dos organismos vivos ou colocando em risco a qualidade das águas em aquíferos (CASARTELLI; MIEKELEY, 2003).

A toxicidade dos metais no solo depende de sua biodisponibilidade, definida como a sua capacidade de serem transferidos a partir de um compartimento do solo a um organismo vivo (JUSTE, 1988). Berthelinet *et al.* (1995) afirmam que a biodisponibilidade do metal é uma função não apenas da sua concentração total, mas também de fatores físico-químicos como pH, potencial redox e conteúdo de argila, e também biológicos (como bioissorção, bioacumulação e solubilização).

Dessa forma, a preocupação com a rápida degradação dos solos agrícolas no mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais, onde as elevadas temperaturas e índices de umidade propiciam o processo de intemperismo do solo, despertou grande interesse pela qualidade do solo e pela sustentabilidade da exploração agrícola (PRIMO, 2011). Emergiu, assim, vários conceitos de qualidade do solo, entre os quais está o de Doran & Parkin (2015), que define a qualidade do solo como sendo a sua capacidade em manter a produtividade biológica, a qualidade ambiental e a vida vegetal e animal de forma saudável na face da terra.

## **2.5 Tea bag index**

Uma técnica utilizada mundialmente, cujos estudos iniciais foram na Europa, é o método *Tea Bag Index* (índice de saquinhos de chá, em português). Essa técnica é usada como um bioindicador do solo, onde sua taxa de degradação é medida através da perda da matéria orgânica, onde essas comparações são feitas, em diversos solos diferentes do mundo, tem como objetivo calcular a taxa de decomposição, de cada solo do nosso planeta, onde se e comparado os fatores físicos, químicos e biológicos, os saquinhos possuem em sua composição chá verde, que compõem as folhas jovem da arvore *Camelliasinensis (L.) Kuntzee* e *rooibos* (chá vermelho) que compõem as raízes da arvore *Camelliasinensis (L.) Kuntzee*. Esses saquinhos de chá são enterrados no solo que se deseja estudar e com um

determinado tempo, são retirados e medições de perda da matéria de chá são pré-formados, permitindo a comparação de biomas, ecossistemas e o solo (KEUSKAMP *et al.*, 2013).

O chá verde é derivado de uma árvore do sudeste da Ásia, China e Índia, podendo também ser encontrado em países de clima ameno e úmido. O nome científico é *Camelliasinensis (L.) Kuntzee*, cuja planta pode atingir até 15 metros de altura. Quanto às características organolépticas do chá, o sabor é significativamente dependente do tipo de solo em que foi cultivado (FLORIEN, 2019).

## 2.6 Os Microrganismos

A microbiota do solo, são carentes de nutrientes como o carbono (C), nitrogênio (N) e o potássio (K), são um dos macronutrientes mais importantes para o solo e para a planta obter um bom desenvolvimento. A utilização de microrganismo na agricultura pode aumentar a absorção de nutrientes, causando um aumento do crescimento vegetal, além de obter uma maior resistência para doenças (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

A diversidade microbiana no solo é imensa, mas podemos destacar alguns principais como pode ser classificado como fonte de energia, nelas temos os fototróficos que usam a luz solar como fonte de energia, ou os quimiotróficos que dependem das reações de oxidação e redução de compostos inorgânicos ou orgânicos para gerar energia. Em outra classificação temos a fonte de carbono (C) e nutrientes nela temos os microrganismos autotróficos e litotróficos, que utilizam fontes de carbono (C) inorgânico e os heterotróficos ou organotróficos que precisam de carbono (C) orgânico encontrados na matéria orgânica do solo, outros microrganismos encontrados no solo que utilizam essa matéria orgânica são os heterotóxicos e quimiotróficos, para assim manter seu metabolismo de crescimento. Uns do microrganismo que utilizam esses metabolismos, são os fungos que tem uma importância na decomposição da matéria orgânica (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

No solo temos a rizosfera que é uma fração do solo, onde são encontradas as raízes das plantas, as bactérias presentes na rizosfera são chamadas de rizobactérias que são importantes na fixação de nitrogênio (N) atmosférico (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Essas bactérias são seres unicelulares, invisíveis a olho nu podendo ser vistas através de microscópio, onde há um único compartimento de citoplasma, já os fungos são organismos eucariontes e multicelulares, conhecidos como bolores, cogumelos, entre outros. A diferença entre esse grupo de microrganismos, são que as bactérias são células com organelas membranosas (mitocôndrias, complexo de golgi, vacúolo), não possuindo células móveis em seu ciclo de vida, já diferentes dos fungos que são geralmente adaptados a ambientes que poderiam ser hostis às bactérias, normalmente crescem melhor em ambientes em que o pH é muito ácido, o qual são desfavoráveis para o crescimento da maioria das bactérias comuns. Podem crescer sobre substâncias com baixa umidade, tão baixo que impede o crescimento de bactérias, também são capazes de metabolizar carboidratos complexos, tais como lignina (madeira), que as bactérias não podem utilizar como nutriente (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivos gerais

- Avaliar o efeito da aplicação do biofertilizante constituídos a partir de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp. na comunidade microbiológica do solo através da técnica *Tea Bag Index*.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Observar a evolução da comunidade microbiológica na área tratada com biofertilizante no período do experimento;
- Quantificar fungos totais, bactérias aeróbias e bactérias produtoras de celulase presentes na área de estudo;
- Através do *Tea Bag Index*, comparar os solos com a aplicação dos biofertilizantes a amostra-controle e traçar os perfis biológicos e físico-químicos de cada amostra.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Demarcação da área de estudo e características**

A cidade de Campo Mourão possui um solo classificado como nitossolo, que são solos constituídos por material mineral e argila originando-se por rochas basálticas com a sua cor avermelhada, com profundidade, pela porosidade que determina o solo com uma boa fertilidade. O clima é considerado subtropical úmido, com verões frescos com grandes concentrações de chuva nos meses de verão, o inverno possibilita geadas fortes a cada cinco anos, não havendo estações com secas. A vegetação é composta por Floresta Ombrófila Mista e Estacional Semidecidual (VILLWOCK *et al.*, 2021).

O município de Campo Mourão possui uma área territorial 749,637 km<sup>2</sup>, com uma população de 87.194 habitantes, fazendo uma divisa com os municípios de Luziânia, Farol, Araruna, Peabiru, Mamborê, Corumbataí do Sul e Barbosa Ferraz. Com uma produção agrícola de arroz, feijão, amendoim, milho, soja, trigo, triticales entre outros (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

Conforme mostra a Figura 1, no campus de Campo Mourão da UTFPR existe uma horta experimental destinada a estudos acadêmicos científicos e de extensão. Nela são realizados diversos experimentos voltados à fertilidade do solo como um todo e de forma sustentável. São realizados testes de viabilidade agrônômica de culturas tratadas com fertilizantes biológicos. Faz parte do departamento de Biodiversidade e Conservação da Natureza (DABIC) destinada a experimentos biotecnológicos no âmbito acadêmico nos cursos assistidos pelo departamento.

### **4.2 Análise Química do Solo**

A análise química dos macronutrientes do solo foi realizada pelo Laboratório Santa Rita, localizado no município de Mamborê, Paraná, sendo realizada para comparação entre amostras de solo da área controle e área com a aplicação de biofertilizantes. A coleta do solo foi feita no final do estudo no início do mês de junho de 2021.

**Figura 1 - Imagem aérea da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, onde está localizada a horta experimental.**



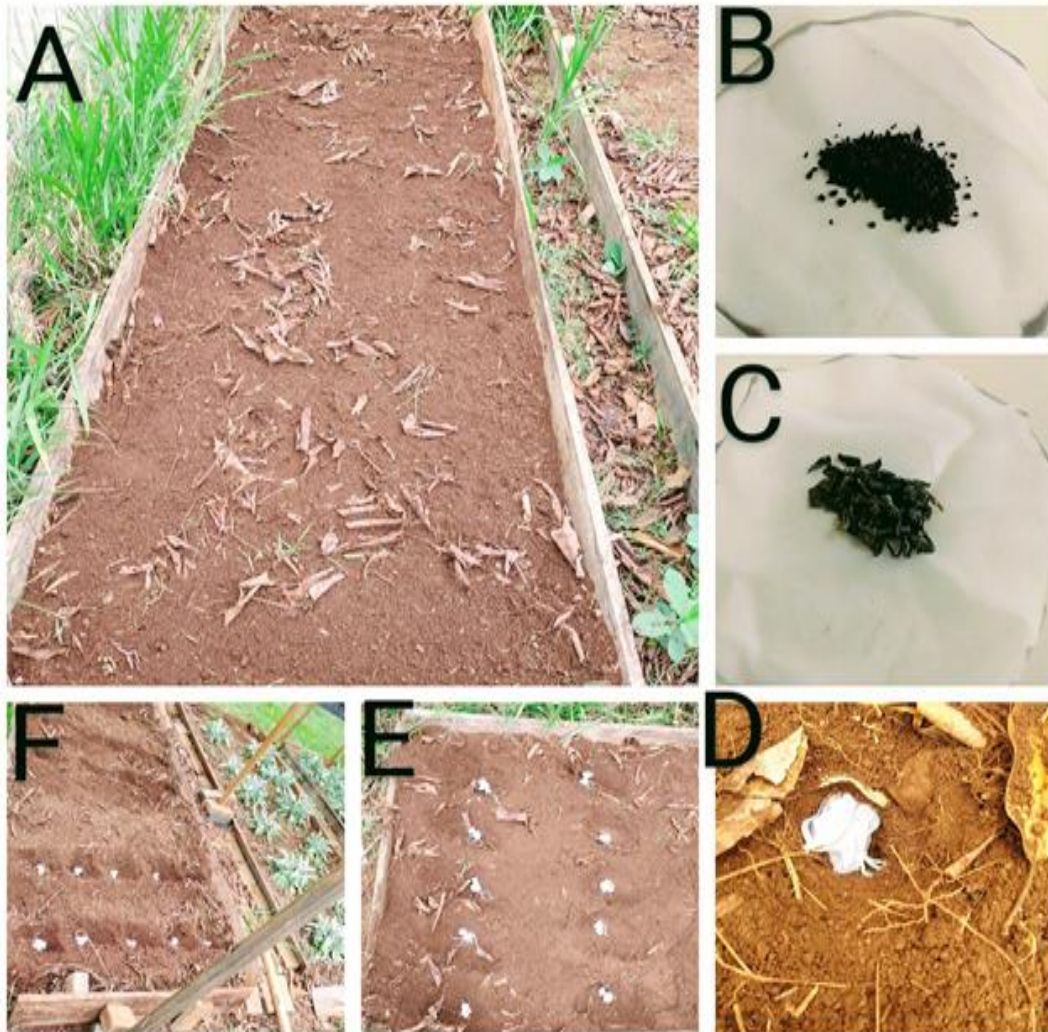
Fonte: Autoria própria (2022)

### 4.3 Aplicação da técnica tea bag index

No presente estudo foi utilizado o chá verde que é composto por folhas e possui taxa de decomposição superior ao chá vermelho, que é composto por raízes e estas possuem mais lignina um composto menos solúvel também utilizado por (GUALDI, 2019). Nos países da Europa os chás utilizados no estudo são da *Lipton* o chá *green* e chá *rooibos*.

Os chás foram confeccionados em tecido *voil*, como mostra na Figura 2, imagens B e C, semelhante aos saquinhos de chá comerciais, e enterrados em uma profundidade de 10 cm Figura 2, imagem A, totalizando cinco saquinhos do chá vermelho e cinco saquinhos de chá verde conforme mostra na imagem D, E e F, com uma repetição de quinze dias, de trinta e de sessenta dias, onde as repetições foram realizadas em triplicatas e houve uma rodada extra de 90 dias sem a realização de triplicata para um comparativo de melhor taxa de degradação dos saquinhos (GUALDI, 2019), com a aplicação dos biofertilizantes *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp., disponibilizado pela empresa CELF – Energias Renováveis e Bioenergia, localizada no município de Campo Mourão, Paraná (ALVES, 2013; FREITAS, 2017; GUALDI, 2019).

**Figura 2 - Imagem A com a área onde os saquinhos de chá foram plantados. B e C aspectos do chá vermelho antes de confeccionar os saquinhos. D saquinhos já confeccionados sendo plantado no solo. E posição e distância de como os saquinhos foram plantados no solo. F organização dos saquinhos.**



Fonte: Autoria própria (2021)

#### 4.4 Tratamento e coletas de solo

Para a quantificação dos microrganismos, foram realizadas 5 coletas de solo com o período da coleta de 30 em 30 dias, onde o início do estudo foi realizado no dia 30 de outubro de 2020 e finalizando no dia 16 de abril de 2021, com duração de 180 dias, onde foram enterrados os saquinhos de chá e logo foi feita a pulverização do biofertilizante, através de um pulverizador costal manual, no canteiro onde foi utilizado para o estudo, onde aplicou-se o biofertilizante e outro canteiro foi utilizado como controle, onde não foi aplicado o biofertilizante.

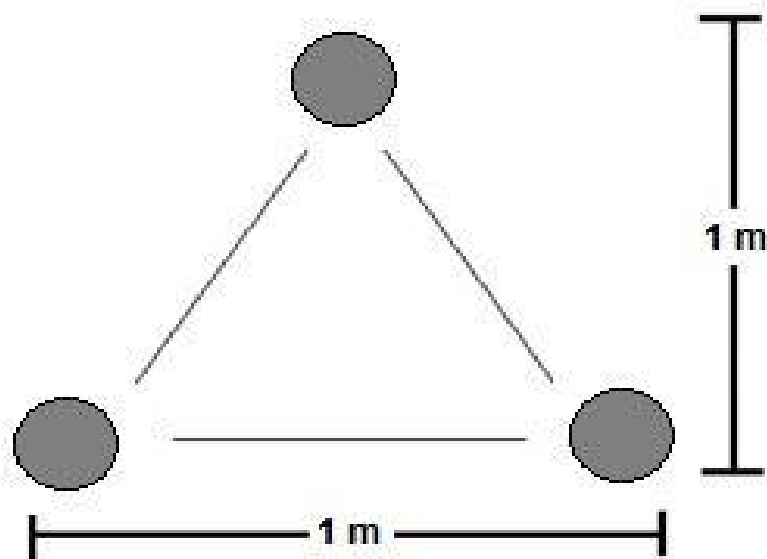
O clima da estação que se realizou o estudo, estava passando pelo fenômeno climático “La Niña”, onde teve seu início em setembro de 2020 finalizando em abril de



2021, onde as precipitações das chuvas foram escassas, prejudicando as cabeceiras e nascentes de rios da região sudeste e centro oeste do Paraná, onde fica localizado a cidade de Campo Mourão. A região do Paraná, foi registrado que no ano de 2021, houve a maior estiagem da sua história na bacia do Rio Paraná, afetando diversas atividades realizadas no percurso do rio. Com o levantamento do Centro Nacional de Monitoramento e Alertas de Desastres Naturais (CEMADEN, 2021), classificou a seca como severa a excepcional, a última estiagem foi registrada em dezembro de 1968 a setembro de 1971. A bacia do rio é considerada a maior do país, com 57 reservatórios, no final de 2020 e início de 2021 registrou-se uma das maiores secas já considerado pela categoria.

A coleta foi feita em três pontos, com um círculo de 20 cm de diâmetro e 20 cm de profundidade, formando uma área triangular seguindo a metodologia proposta por Freitas (2017), conforme a Figura 3.

**Figura 3 - Representação da distribuição dos pontos de coleta.**

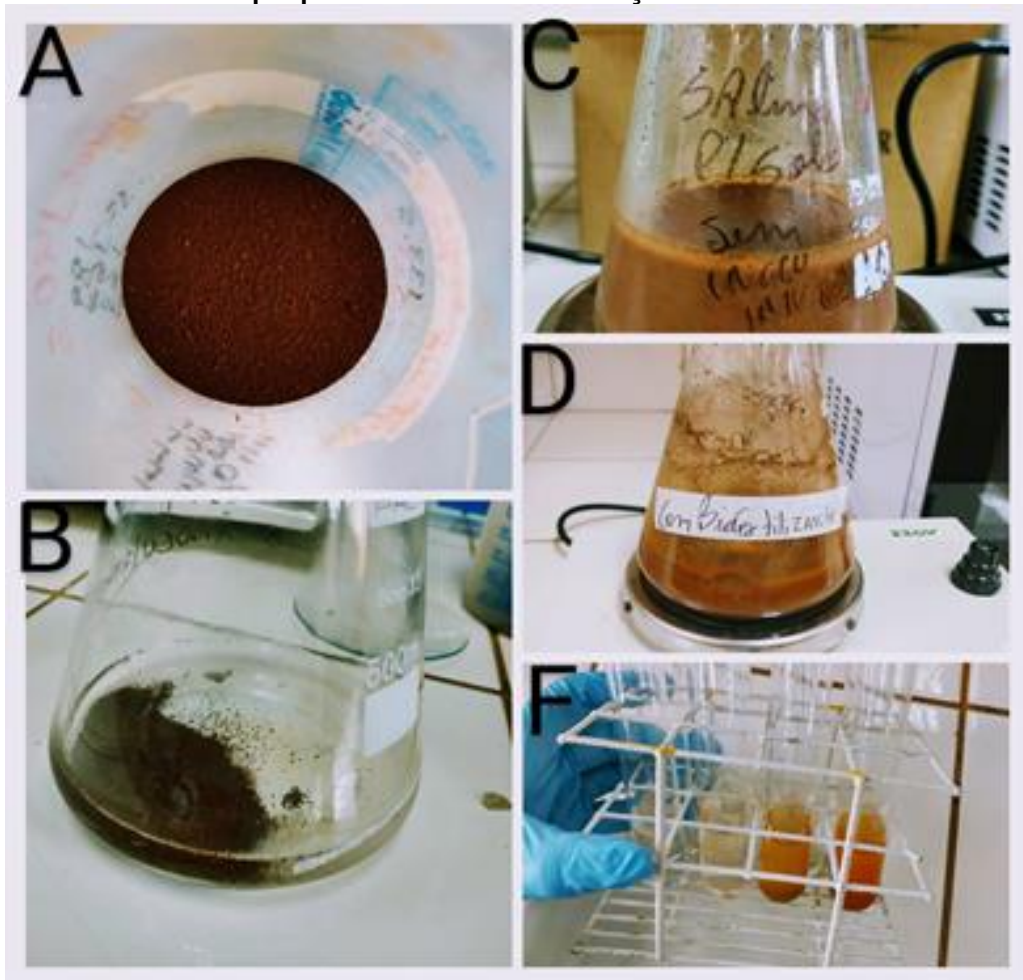


**Fonte: adaptado de Freitas (2017, p.18)**

Coletou-se, em média, aproximadamente 150 gramas do solo conforme mostra a Figura 4, imagem A, cujas amostras foram peneiradas para garantir a eliminação de interferentes como galhos, folhas e raízes com uma peneira de granulometria de 1,40 mm de malha. Posteriormente, as amostras foram submetidas à estufa de secagem e esterilização (modelo THELGA 1500 W), em temperatura

constante de 30 °C até que a variação da massa da amostra se tornasse constante seguindo a metodologia utilizada por FREITAS, (2017). Realizou-se diluição em série das amostras, onde uma alíquota de 10 g de cada amostra Figura 4, imagem B, foi diluída em 90 ml de solução salina (0,85% NaCl) estéril, mantendo sob agitação em agitador magnético (Figura 4, imagens C e D).

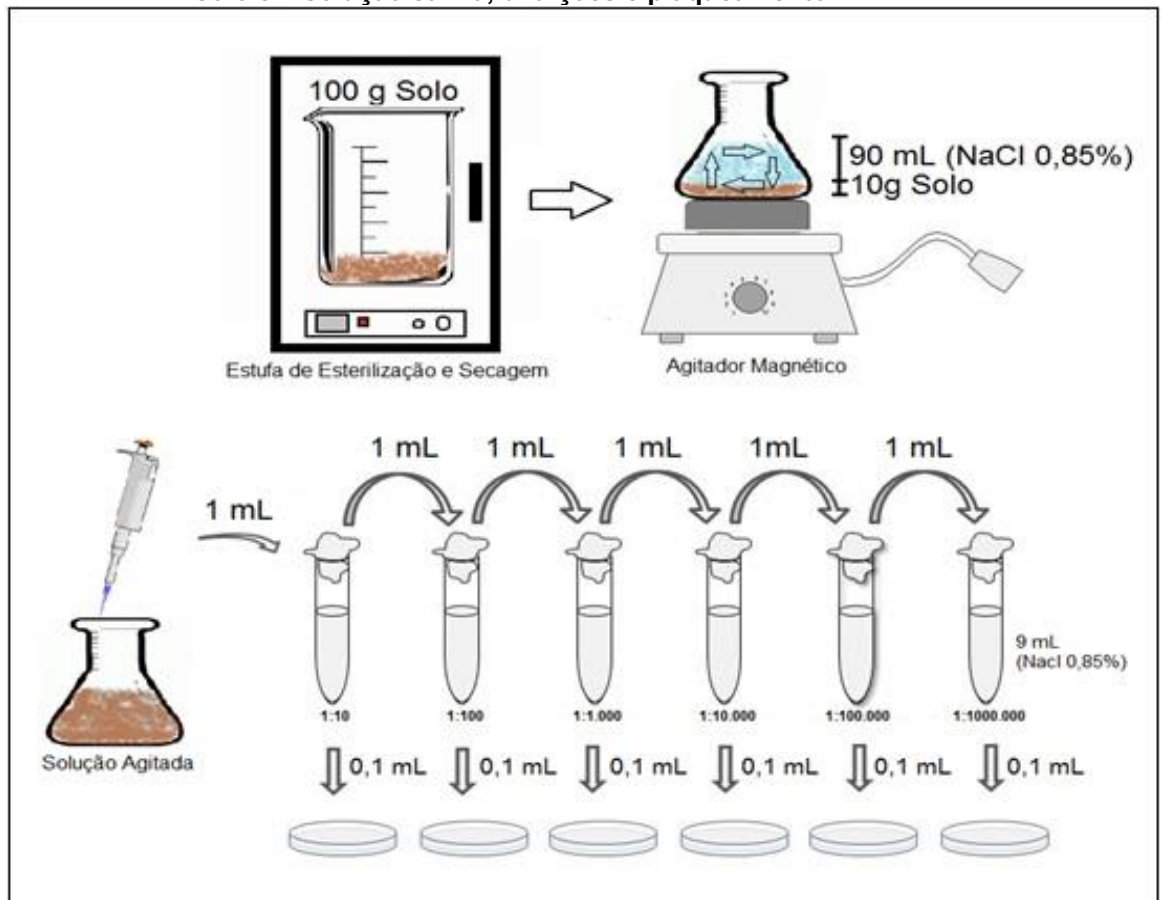
**Figura 4 - Imagem A coleta do solo já retirados ganhos e sujidades. B solo já secado e estabilizado em estufa pronto para ser analisado. C e D metodologia utilizada para o plaqueamento do solo. F diluição seriada.**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

Para realização da diluição seriada (Figura 5), foi aplicado 1 ml da solução obtida em 9mL de solução salina estéril, sendo esta diluição de  $10^{-1}$ . A representação esquemática da metodologia aplicada está resumida na Figura 4 imagem F, essa respectiva metodologia foi utilizada para o solo Controle e o solo com biofertilizante. O biofertilizante utilizado foi manipulado na empresa CELF – Energias Renováveis e Bioenergia, localizada no município de Campo Mourão, Paraná (ALVES, 2013; FREITAS, 2017; GUALDI, 2019).

Figura 5 – Representação da metodologia utilizada para estabilização de umidade, agitação do solo em solução salina, diluições e plaqueamento.



Fonte: Freitas (2017, p. 21)

#### 4.5 Bactérias Aeróbias Totais (B.A.T.)

O meio empregado para o crescimento das bactérias aeróbicas foi o meio Luria-Bertani (LB), cuja composição foi constituída de 10,0 g/L de Triptona; 5,0 g/L de extrato de levedura; 10,0 g/L de cloreto de sódio (NaCl); 15,0 g/L de ágar; em água destilada (pH 7,0). Na sequência e para garantir a esterilização do meio, o mesmo foi auto clavado por 15 minutos a 120 °C e vertido em placas de petri, onde se inoculou, em triplicata, 0,1 ml das diluições de  $1 \times 10^{-6}$  até  $1 \times 10^{-8}$  (ALVES, 2013; FREITAS, 2017; GUALDI, 2019).

**Figura 6 - Imagem das placas formadoras de B.A.T.**



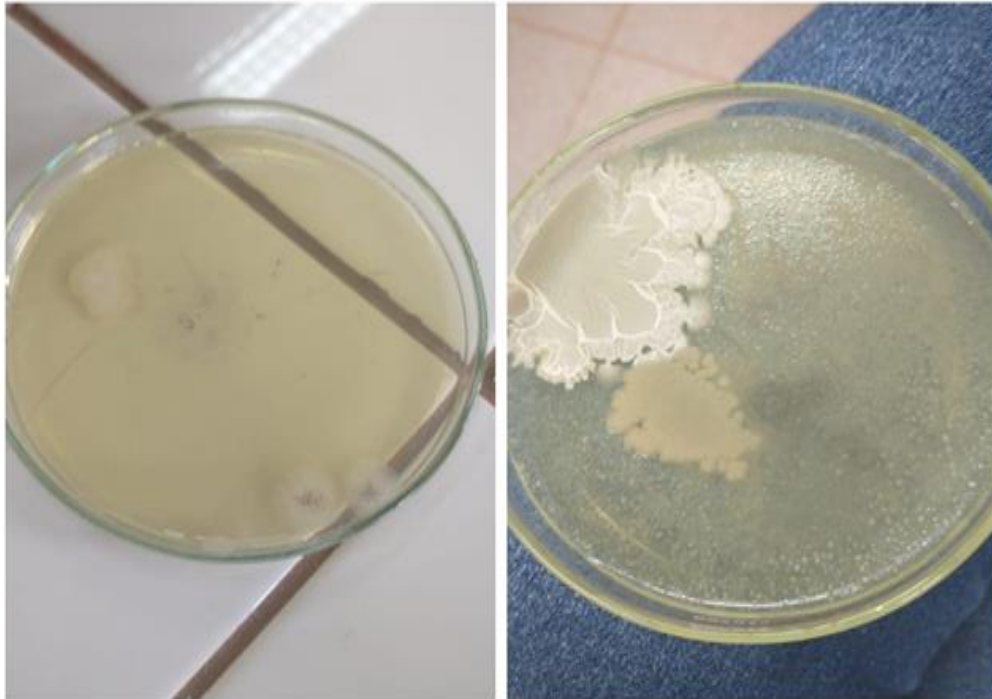
**Fonte: A autoria própria (2021)**

As culturas foram inoculadas por 48 horas e 27 °C, sendo que a frequência de contagem de placa era diária (Figura 6), até que se atingiu a estabilização de crescimento. Como as amostras eram triplicatas, fez-se a média dos valores individuais (ALVES, 2013; FREITAS, 2017; GUALDI, 2019).

#### **4.6 Bactérias Produtoras de Celulase (B.P.C)**

De modo análogo ao item anterior, para a análise das bactérias produtoras de celulase também se utilizou o meio LB em triplicata, contudo, acrescido de 0,2% de carboximetilcelulase (CMC). As placas de Petri, contendo o meio, onde se inoculou, em triplicata, 0,1 ml das diluições de  $1 \times 10^{-6}$  até  $1 \times 10^{-8}$  foram incubadas por 48 horas e 27 °C antes da primeira contagem – em que se realizou contagens diárias (Figura 7), até que houvesse a estabilização de crescimento (ALVES, 2013; FREITAS, 2017; GUALDI, 2019).

**Figura 7 - Imagem das placas formadoras de B.PC.**



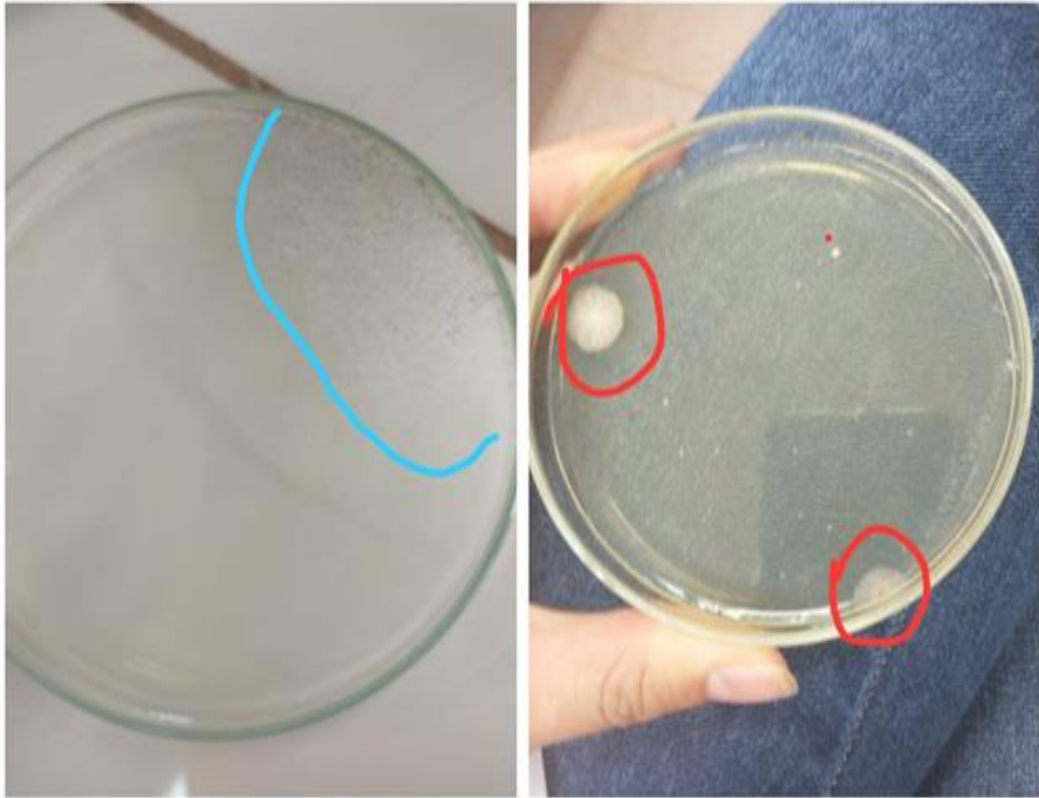
**Fonte: Aatoria própria (2021)**

Posteriormente à estabilização, as placas foram imersas em uma solução vermelho congo, de concentração 1 mg/ml) por 30 minutos e lavadas com uma solução 1 mol/L de cloreto de sódio aquoso ( $\text{NaCl}_{(aq)}$ ). Nessa metodologia, considera-se positivas as colônias que apresentarem um halo transparente após a imersão na solução. Para a obtenção do quantitativo de população, utilizou-se o valor médio das triplicatas (ALVES, 2013; FREITAS, 2017; GUALDI, 2019).

#### **4.7 Fungos Totais**

O meio Martin 's-Bengala Agar com pH corrigido para 5,5 (através de adição de ácido clorídrico 1 mol/L), cuja composição foi de 10,0 g/L de glicose, 5,0 g/L de peptona, 1 g/L de Fosfato monopotássico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 500 mg/L de sulfato de magnésio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 0,3 ml de solução rosa-bengala 1%, 15,0 gramas de ágar e 1 L de água destilada, teve seu conteúdo vertido em placas de Petri. Na sequência, utilizou-se 0,1 ml das soluções de  $1 \times 10^{-4}$  até  $1 \times 10^{-6}$  para inoculação (Figura 8), incubadas por 5 dias em temperatura constante de 27 °C, com contagens realizadas diariamente (ALVES, 2013; FREITAS, 2017; GUALDI, 2019).

**Figura 8 - Imagem das placas formadoras de F.T.**



Fonte: Autoria própria (2021)

#### **4.8 Análise Estatística**

Os resultados obtidos pela técnica *TBI* e a análise microbiológica passaram por análise de variância (Anova) de um critério e posteriormente pelo teste *tukey*, quando houve diferença para comparar a composição das comunidades microbiológicas e da perda de biomassa nas áreas com o canteiro Controle e o canteiro com Biofertilizantes. Assim como a comparação da velocidade com que a biodegradação aconteceu entre o canteiro Controle e canteiro com Biofertilizantes, também passou por estes testes. Foi utilizada a média dos valores de UFC para aplicar o teste. Para a comparação dos chás dentro da mesma área, foi aplicado o teste *t*. A contagem da população de fungos e bactérias foi realizada através da técnica de contagem em placas, calculando-se a média de três repetições por diluição, sendo consideradas ideias (FREITAS, 2017; GUALDI, 2019).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a aplicação dos biofertilizantes foi possível observar uma resposta positiva em relação aos macronutrientes, presentes no solo analisado, assim como em relação a ação dos microrganismos presentes no biofertilizante. A disponibilização desses nutrientes está diretamente ligada a ação desses microrganismos que atuam solubilizando os componentes já existentes nos ambientes de estudo (FREITAS, 2017).

### 5.1 Análise do solo

Quanto ao efeito da aplicação do biofertilizante, podemos observar os elementos encontrados no solo através da tabela 1.

**Tabela 1 – Análise química do solo realizada pelo Laboratório Santa Rita dos macronutrientes do solo coletado no município de Campo Mourão na horta experimental UTFPR.**

	Macronutrientes	Amostra	
		Área Controle	Área Tratada
mg/dm <sup>3</sup>	Fósforo (P)	25,31	122,34
g/dm <sup>3</sup>	Carbono Orgânico Total (COT)	22,99	33,28
	pH em CaCl <sub>2</sub>	5,82	6,58
	Alumínio (Al <sup>3+</sup> )	0	0
	Acidez Potencial (H <sup>+</sup> +Al <sup>3+</sup> )	3,91	2,64
cmolc/dm <sup>3</sup>	Cálcio + Magnésio (Ca <sup>2+</sup> +Mg <sup>2+</sup> )	13,08	19,23
	Cálcio (Ca <sup>2+</sup> )	10,23	13,65
	Magnésio (Mg <sup>2+</sup> )	3,45	5,57
	Potássio (K <sup>+</sup> )	0,52	1,21

	Soma de Bases (SB)	14,6	18,29
	C.T.C	18,43	20,93
	Saturação por bases (V%)	79,21	87,39
%	Saturação por alumínio (m%)	0	0
	Saturação por cálcio (%Ca <sup>2+</sup> )	58,27	64,21
Saturação complexo de troca	Saturação por magnésio (%Mg <sup>2+</sup> )	18,12	17,06
	Saturação por potássio (%K <sup>+</sup> )	2,82	6,12
	Cálcio / Magnésio	3,22	3,76
Relações	Cálcio / Potássio	20,65	10,5
	Magnésio / Potássio	6,42	2,79

**Fonte: Autoria própria (2022)**

É possível observar que o aumento do elemento químico Fósforo, Carbono Orgânico Total (COT), Cálcio, Magnésio e Potássio para área Controle e superior para a área com biofertilizantes (Tabela 1).

## 5.2 Macronutrientes

### 5.1.1 Fósforo (P)

O P presente no solo é considerado insuficiente para as plantas, principalmente em solos com baixas eficiência na adubação fosfatada, assim a grande parte do P adicionado é imobilizado no solo, isso ocorre pelas reações de dissolução/precipitação, adsorção e fixação em colóides minerais (Peluco *et al*, 2015).

O solo presente na região noroeste do Paraná e classificado como Nitossolo, esses solos apresentam uma maior deficiência em P é por causa da alta adsorção do



elemento pelos óxidos de ferro, que são oriundas das rochas basálticas responsáveis por esse tipo de solo (GONÇALVES, 2017).

O teor de P após aplicação do biofertilizante teve valor extremamente elevado na área tratada, comparado à área controle, sendo de 25.31mg/dm<sup>3</sup> e 122.34mg/dm<sup>3</sup>. O biofertilizante aplicado no solo resultou em aumento de aproximadamente cinco vezes os níveis de P, se comparados à área não tratada, o aumento do P no solo é fornecido pelo biofertilizante que contém na sua composição resíduo de mandioca manipueira (FREITAS, 2017).

Os microrganismos presentes no biofertilizante *Trichoderma spp.* e *Bacillus Subtilis*, são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico, pois as plantas não são capazes de usar esse nitrogênio diretamente, assim precisando de uma ajuda externa fornecida por simbioses microbianas, esses microrganismos presentes no biofertilizantes melhora a colonização de rizobactérias simbólicas nativas, os biofertilizante como o *Trichoderma spp.* e *Bacillus Subtilis* são responsáveis por solubilizar o P, através da produção de vários ácidos orgânicos transformando-o em forma solúvel (BLAKE *et al.*, 2012; AVDALOVIC *et al.*, 2015).

#### 5.1.2 Carbono Orgânico Total (COT)

Outro aumento significativo foi do Carbono Orgânico Total (COT), numa variação de 22,99 g/dm<sup>3</sup> e 33.28 g/dm<sup>3</sup>, essa elevação desse elemento químico é muito importante, pois com a ação dos seres humanos que prejudicam o ciclo do carbono, com essas ações estão o desmatamento, queimadas, uso inadequado do solo como substituição da cobertura vegetal, com isso a degradação física, química e biológica causa a diminuição da biomassa produzida e incorporada no solo, causando impactos negativos no acúmulo de carbono no solo (CARVALHO, 2020).

#### 5.1.3 Cálcio (Ca<sup>2+</sup>)

Ainda de acordo com Freitas (2017) e analisando os elementos que tiveram aumento com a aplicação de biofertilizante, o cálcio pode ter sofrido aumento pela

capacidade de solubilização desse nutriente pelos microrganismos presentes no biofertilizante aplicado. Ao analisar os resultados do elemento obtivemos o resultado 10,23 cmolc/dm<sup>3</sup> para 13,65 cmolc/dm<sup>3</sup>, o Cálcio (Ca<sup>2+</sup>) são necessários para papéis estruturais na parede e nas membranas celulares da planta, o Ca<sup>2+</sup> é adsorvido pelas raízes das plantas da solução do solo e entregue a parte área do xilema. A deficiência desse elemento causa necrose nas raízes e folhas jovens, havendo impacto no crescimento da planta contendo uma cor acastanhada nas raízes sendo curta e muito ramificada (AMORIN, 2021).

#### 5.1.4 Magnésio (Mg<sup>2+</sup>)

Já o Mg<sup>2+</sup> tem seu aumento devido aos mecanismos de solubilização de fosfatos, micronutrientes e minerais pelos microrganismos. O Mg<sup>2+</sup> é responsável pela respiração da planta, ou seja, pela fotossíntese, ocupando um centro da estrutura planar formada por um anel tetrapirrólico, sendo encontrado nos caules e raízes da planta, uma característica da sua deficiência na planta é a clorose entre as nervuras foliares, deixando as folhas amarelas ou brancas, isso ocorre nas folhas mais velhas, este padrão de clorose isso acontece porque as clorofilas nos feixes vasculares permanece inalterada por um logo período nas células entre os feixes (AMORIN, 2021).

O aumento desse macronutrientes foi de 3,45 cmolc/dm<sup>3</sup> para 5,57 cmolc/dm<sup>3</sup>, o aumento do Mg<sup>2+</sup> no solo traz a planta um crescimento maior, deixando a planta mais alta e diâmetro no colmo na área foliar, com o aumento do Mg<sup>2+</sup> é possível corrigir a acidez presente no solo, um bom manejo no solo traz o crescimento das plantas mais saudáveis para obter-se esse resultado é preciso tratar o solo corretamente (AMORIN, 2021).

#### 5.1.5 Potássio (K<sup>+</sup>)

O K<sup>+</sup> presente no solo é um elemento estrutural dos minerais do solo é adsorvido de forma trocáveis a minerais de argila e matéria orgânica, sendo o

elemento mais absorvido pelos tecidos vegetais das plantas e principalmente pelas raízes, assim é importante obter-se um solo rico em  $K^+$  (TORRES,2008).

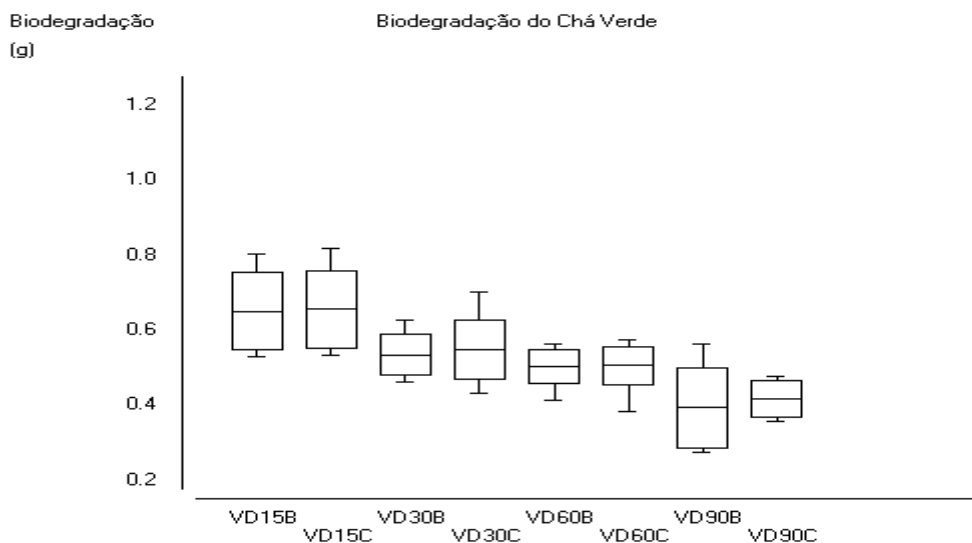
O aumento do nível de  $K^+$  para área tratada foi praticamente duas vezes maior quando comparado a área controle, sendo  $0,52 \text{ cmolc/dm}^3$  para  $1,21 \text{ cmolc/dm}^3$ . Por fim, esse aumento possivelmente está relacionado à incorporação no solo de  $K^+$  pela própria aplicação do biofertilizante.

### 5.3 Biodegradação do Chá Verde e Chá Vermelho

#### 5.2.1 Chá verde

A partir da análise estatística realizada, foi possível observar que houve variação numérica, mas não houve variação estatística entre as unidades (Figura 9), com e sem tratamento de biofertilizante considerando o mesmo tempo de exposição. Há uma aparente perda de biomassa ao longo do tempo, mostrando a degradação ocorrida, assim como o esperado, levando em consideração de que o tempo de exposição do chá verde é diretamente proporcional ao nível de biodegradação.

**Figura 9 - Biodegradação do chá verde**



Fonte: Autoria própria (2022)

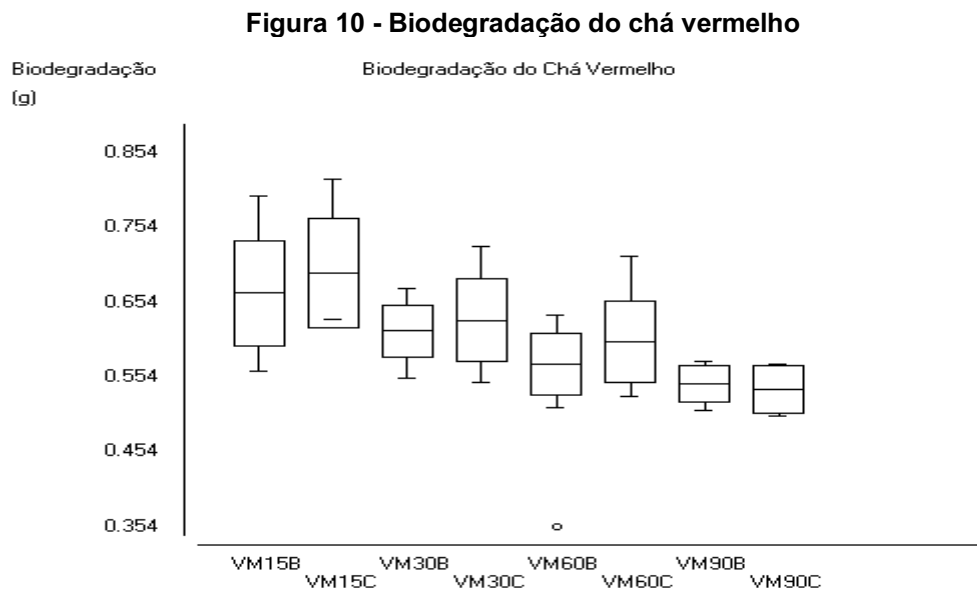
Legenda da Figura:

VD= Verde  
 15, 30, 60 e 90 dias  
 B= com biofertilizante  
 C= controle

A partir do gráfico observamos que a biodegradação do chá verde foi relativamente maior na amostra com biofertilizante do que na amostra controle, iniciando a estabilização da biodegradação por volta de 60 dias.

### 5.3.2 Chá vermelho

A biodegradação do chá vermelho possui comportamento semelhante ao chá verde, sendo que, quanto maior o tempo de exposição, maior será a degradação. Entretanto, o índice de degradação do chá vermelho foi menor, em virtude da natureza do material orgânico presente no chá vermelho, já que o chá vermelho é considerado caulinoso enquanto o chá verde é folhoso, possuindo mais lignina, precisando de mais tempo para degradação.



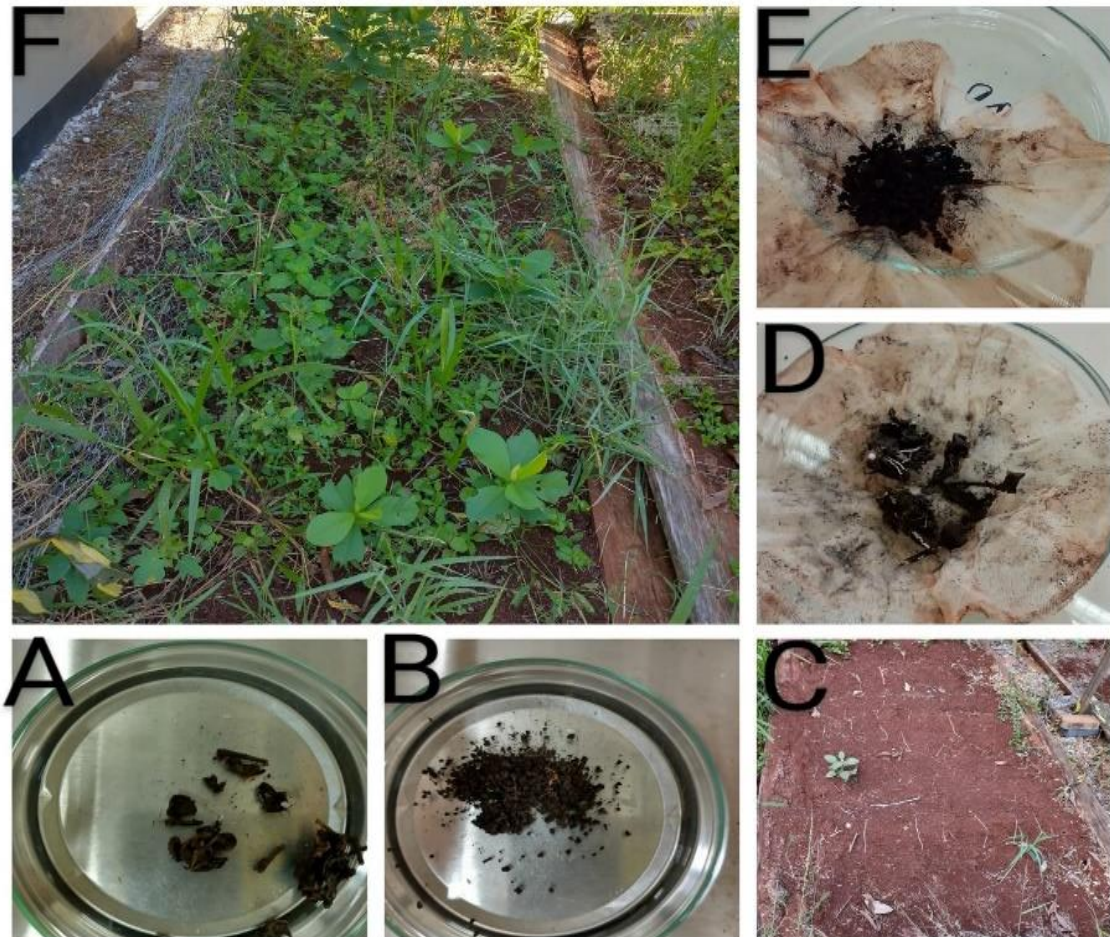
**Fonte: Autoria própria (2022)**

O comportamento geral da biodegradação é semelhante ao chá verde quanto ao tempo de exposição. Quanto maior a exposição, maior a degradação. O que é esperado. Mas o índice de degradação do chá vermelho (Figura 10), é menor que o

do chá verde, em virtude provavelmente à natureza do material orgânico. O verde é folhoso e o vermelho é caulinoso, com mais lignina que demora mais tempo para se degradar.

Na Figura 11 é possível fazer as comparações realizado no monitoramento imagem A e B mostra o aspecto do chá antes da biodegradação. Na imagem C esta os saquinhos já plantados no canteiro, e nas imagens D e E mostra os saquinhos já com a degradação pronto para ser quantificado para as análises, e a imagem F traz o canteiro já aplicado com os biofertilizantes antes da coleta dos saquinhos de chá.

**Figura 11 - Imagem A chá verde sendo pesado na balança analítica para realizar o monitoramento no solo. B chá verde sendo pesado na balança analítica para realizar o monitoramento. C canteiro onde foi plantado os saquinhos de chá vermelho e verde D chá verde sendo retirado do saquinho E solo chá vermelho sendo retirado do saquinho F canteiro antes de ser retirado os saquinhos de chá para a realização dos análises.**

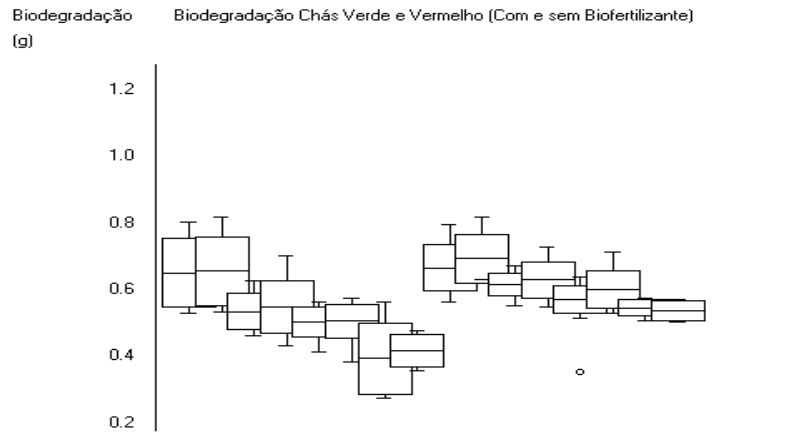


**Fonte: Autoria própria (2021)**

Nas comparações par a par, a degradação do tempo de exposição de 60 dias apresentou diferença entre o tratamento com inoculante biológico e o controle. Reparem que tem um valor puxando a média para baixo (Figura 12), isso pode ser

tendencioso. Mas mostra o efeito do biofertilizante acentuando o nível de degradação nesse tempo de exposição. Nos demais não houve diferença.

**Figura 12 - Biodegradação dos chás verde e vermelho (com e sem Biofertilizante)**



Fonte: Autoria própria (2022)

Chás verdes perdem mais biomassa que chás vermelhos. Consta-se que matéria orgânica mais mole e menos lignificada tem mais ação de biodegradação.

Com a aplicação de biofertilizantes tivemos o resultado alcançado foi com o chá vermelho, conforme o estudo realizado por GUALDI (2019), o chá vermelho não teve a degradação esperada, aplicando o biofertilizante no chá vermelho obtivemos uma boa resposta.

#### 5.4 MICROBIOLOGIA DO SOLO

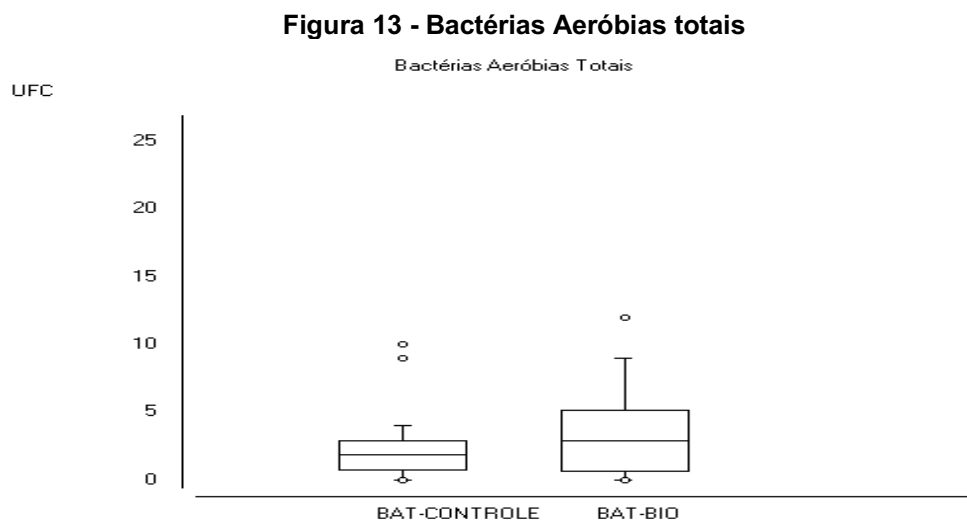
Para a ação microbiana do solo possuímos três indicadores importantes para um bom solo se desenvolver que são os químicos, físicos e biológicos. Os físicos na capacidade do solo em reter a umidade, infiltração e densidade que atuam como armazenamento de nutrientes. Com os indicadores químicos observa-se que o pH e a condutividade elétrica, trazem o benefício de um bom crescimento vegetal. Já quando falamos sobre os indicadores biológicos do solo, tem-se a biomassa microbiana, onde é muito importante ter um solo rico em nutrientes, assim gerando um bom desenvolvimento para a planta (MIRANDA, 2019).

Com a aplicação *Trichoderma spp.* e *Bacillus Subtilis*, no solo do presente estudo realizado na horta experimental, houve um aumento significativo nos

macronutrientes presente no solo, foi realizado análises microbiológicas, com plaqueamento das bactérias aeróbicas totais, bactérias produtoras de celulase e fungos totais, usando diluições de acordo com a metodologia seções, 4.5, 4.6 e 4.7, para comprovar os resultados.

#### 5.4.1 Bactérias Aeróbicas totais

Com a análise UFCg de solo, após as coletas de solo para a realização das análises de microbiologia, com o objetivo de observar o crescimento da microbiota do solo, com relação ao crescimento das bactérias Aeróbicas Totais com a aplicação dos biofertilizantes.



**Fonte: Autoria própria (2022)**

Na Figura 13 podemos observar com o teste estatístico t, com  $p < 0,05$  indicando que a média de UFC de BAT-BIO é significativamente maior que o controle.

Foi realizado a partir do teste de *Dunn*, para confirmar que houve um crescimento significativo comparando com o canteiro Controle (Média=2,15 e DP 5,4) e o canteiro BIO (3,24 e DP 8,41) podemos observar que o aumento dessas bactérias foram mais que duas vezes maior, comparando com o início do tratamento.

A degradação da matéria orgânica dos resíduos sólidos ocorre com a ação de microrganismo, as bactérias por exemplo, agem com a extração de poluentes combinados com o solo e a água, removendo os poluentes que não são fáceis de serem dissolvidos pelo meio ambiente, por isso é importante ter as ações dessas

bactérias no solo. Pois a digestão anaeróbica desses resíduos causa o aumento dos nutrientes como o P, K, N, etc. (ARAUJO, 2014).

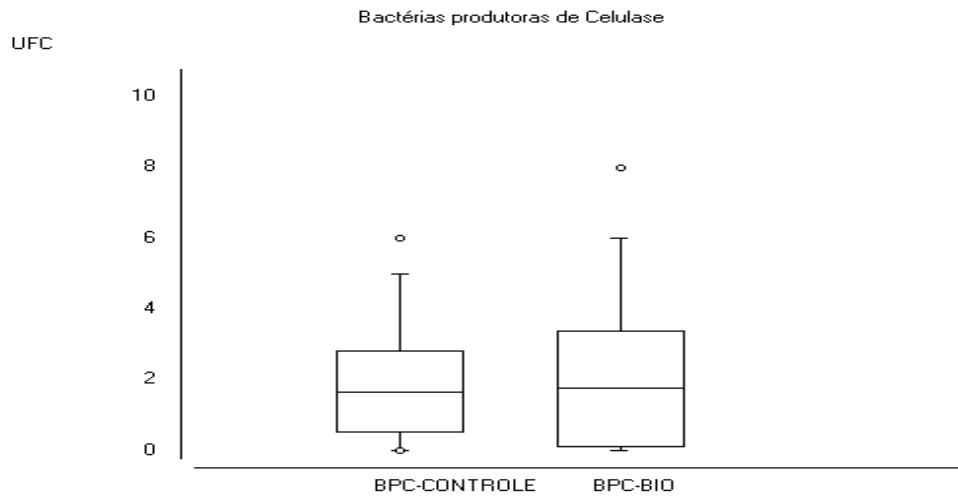
No estudo feito por RIBAS,2008 verificou-se que o uso de *Bacillus subtilis* obteve uma estabilidade dos resultados a partir de 40 dias de aplicação do biofertilizante, em relação dos números de colônias foi bem maior, o que não ocorreu no solo que foi aplicado o efluente, onde observou que o *Bacillus subtilis* são resistentes ao calor e outros fatores, devido a sua característica de formar endósporos.

#### 5.4.2 Bactérias Produtoras de Celulase

As bactérias produtoras de celulase são compostas por enzimas conhecidas como endoglucanase, exoglucanase e  $\beta$ glicosidade, as primeiras agem na parte interna das fibras de celulase, formando os oligossacarídeos. As exoglucanases atuam nas pontas das fibras celulósicas, tendo como produto final unidades de glicose ou celobiose, formados por duas unidades de glicose. Essa bactéria auxilia na decomposição da matéria orgânica, transformando enzimas que são essenciais para as plantas (SCHEFFER, 2018).

Segundo HARGREAVES (2008), uns dos microrganismos produtores de celulases, está no gênero *Trichoderma* spp., que são produzidos de forma livre na natureza. O *Trichoderma* spp., já possuem enzimas comercializáveis, com proporções entre endoglucanase, exoglucanase e  $\beta$ glicosidade distintas, sendo esta última a mais baixa para o *Trichoderma* spp. As celulases são enzimas de ampla utilização industrial, esse fungo contribui para a decomposição de matéria orgânica presente, suas características são de fungos filamentosos sendo organismos pluricelulares, aclorofilados que vivem de forma saprofítica ou parasítica. Esses fungos são transportados pelo ar, água e animais (SOUZA, 2015).



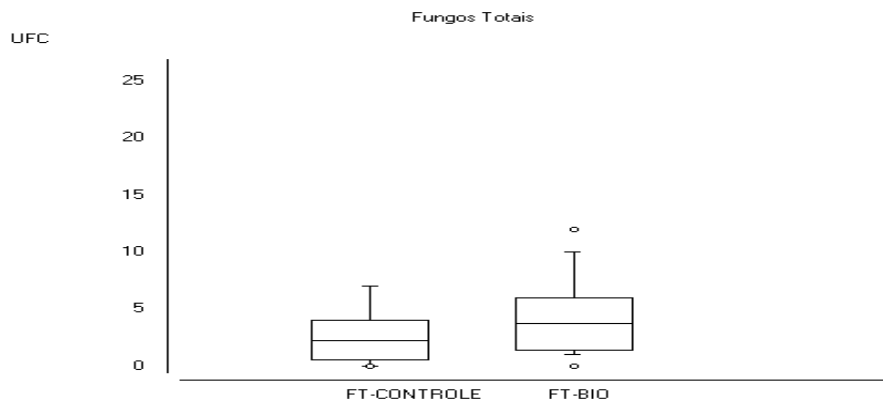
**Figura 14 - Bactérias produtoras de celulase**

**Fonte: Autoria própria (2022)**

O teste estatístico t, com  $p > 0,05$  indicando que a média de UFC de BPC-BIO não é significativamente maior que o controle. Nesse conjunto de bactérias formadoras de celulase não obtivemos um resultado significativo comparada a área de Controle (Média=1,82 e DP 2,11) com a área aplicada por BIO (2,82 e DP 4,2). Esse resultado pode ser pela presença do microrganismo no solo e o tempo necessário para que haja uma proliferação e maior permanência no solo (Figura 14).

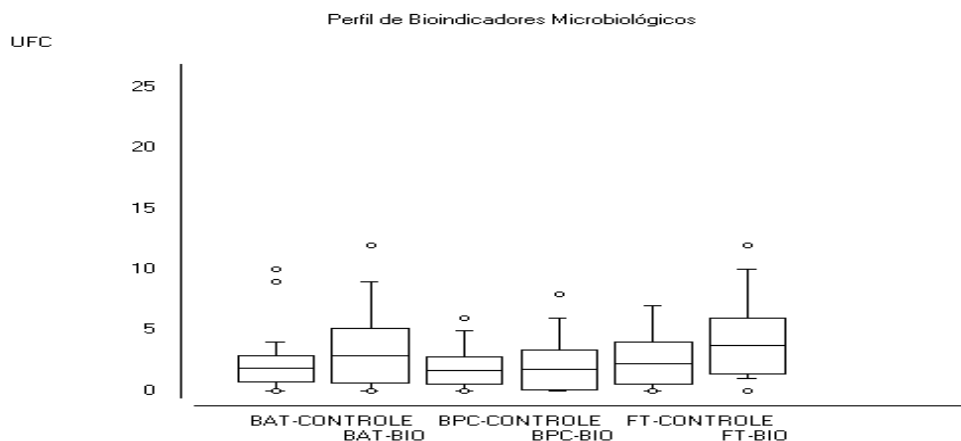
### 5.3.2 Fungos Totais

Ao realizar os testes estatístico t, com  $p > 0,05$  indicando que a média de UFC de BPC-BIO não é significativamente maior que o controle. Podemos analisar que o controle (Média=2,27 e DP 2,22) comparando com a área tratada BIO (4,11 e DP 3,13) não foi possível observar um resultado com grandes diferenças (Figura 15). Em um estudo realizado por FREITAS (2017), comparando os resultados pode concluir que a umidade retirada do solo, para quantificar as análises de fungos totais podem afetar o crescimento dos mesmos, a baixa umidade em que o solo obteve durante o experimento pode ter influenciado no presente estudo.

**Figura 15 - Fungos totais**

Fonte: Autoria própria (2022)

A Figura 16 mostra um perfil geral dos três bioindicadores utilizados no estudo. Bactérias aeróbias totais (BAT), Bactéria produtoras de celulase (BPC) e Fungos totais (FT). Os solos sem tratamento foram chamados de controle e os solos com aplicação de inoculantes a base de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma spp.* foram chamados de BIO. Em todos os casos e concentrações os solos com inoculantes formaram mais unidades formadoras de colônia (UFC) ao longo dos 90 dias de experimento.

**Figura 16 - Perfil de bioindicadores microbiológico**

Fonte: Autoria própria (2022)

Ao compararmos os três bioindicadores microbiológicos utilizado no estudo (Figura 16), observamos que o crescimento das bactérias aeróbicas totais foi significativo, já nos demais crescimento das bactérias produtoras de celulase e de fungos totais não observou o mesmo crescimento, um fator importante que pode ter afetado essas bactérias e a umidade do solo tanto durante a exposição no solo quanto na manipulação do solo para quantificar essas análises microbiológicas.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A área do presente estudo em que foi aplicado os biofertilizantes e utilizado o bioindicador de degradação do solo o Tea Bag Index na horta experimental, ao comparados com a degradação do canteiro onde aplicou-se o biofertilizante houve um aumento significativo, para os macronutrientes Fósforo, Carbono Orgânico Total (COT), Magnésio e Potássio. Já nas análises microbiológicas podemos ressaltar um aumento importante através das colônias formadoras de bactérias aeróbicas totais. Um importante resultado obteve-se no chá vermelho comparando a resultados anteriores feito por GUALDI (2019), podemos concluir que o estudo teve um resultado excelente, pois no decorrer do experimento houve uma das maiores secas já considerado pela categoria onde passando de “severa” a “excepcional”.

## REFERÊNCIAS

- ADUAN, R. A.; VILELA, M. DE F.; REIS, F. B. DOS J. **Os Grandes Ciclos Biogeoquímicos Do Planeta**. Embrapa, p. 1–25, 2004. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/569371> .Acesso em: 04 set. 2020.
- ALVES, M. S. **Diversidade microbológica cultivável de solos e seu potencial para avaliação da qualidade do solo**. Trabalho de conclusão de curso —Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2013. Disponível em: [http://www2.ufpel.edu.br/prg/sisbi/bibct/acervo/biologia/2012/marina\\_alves\\_2012.pdf](http://www2.ufpel.edu.br/prg/sisbi/bibct/acervo/biologia/2012/marina_alves_2012.pdf) . Acesso em: 14 nov. 2022.
- AMORIN, N, Í C D. **Influência de humina enriquecida com cálcio e magnésio e lâminas de água em dois tipos de solo cultivados com alface** . Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente (PPGAA) da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestra em Agricultura e ambiente.2021. PG 24,25. Disponível em: <https://ud10.arapiraca.ufal.br/repositorio/publicacoes/3549> . Acesso em: 26 out .2022.
- ANDRADE, C.F.F.D. **Uma Introdução à Bioinorgânica. Instituto de Química e Geociências**, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2003. 46 p. Disponível em: <https://bv.fapesp.br/pt/auxilios/17058/estudos-inorganicos-de-especies-metalicas-com-potencial-aplicacao-em-catalise-farmacologica-e-bioino/> . Acesso em: 07 set .2020.
- ANDRIGHETTI, M. S. et al. Biodegradação de glifosato pela microbiota de solos cultivados com macieira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. **38**, n. **5**, p. **1643–1653**, out. **2014**. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcs/a/twqss8fRfgDWVvSBXjKwfVM/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 03 set .2021.
- ARAÚJO, E, P. *et al.* **Estudo Sobre o Comportamento de Bactérias Aeróbias Totais em Biorreatores de Bancada Preenchidos com Resíduos Orgânicos-V** Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental Belo Horizonte/MG – 24 a 27/11/2014. Disponível em: <https://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2014/III-105.pdf> . Acesso em: 06 nov .2022.
- AVDALOVIC J. *et al.* **Solubilização microbiana de fósforo de rocha fosfática por *Acidithiobacillus sp. B2***, Engenharia de Minerais, Volume 72, 2015, Páginas 17-22, ISSN 0892-6875, <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2014.12.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0892687514004063>. Acesso em: 06 set .2021.
- BLAKE, Christopher. CHRISTENSEN, Mathilde Nordgaard e KOV, Akos T. **Aspectos Moleculares da Promoção e Proteção do Crescimento Vegetal por *Bacillus subtilis*** .acst† Interações Bacterianas e Evolution Group, DTU Bioengenharia, Universidade Técnica da Dinamarca, Kgs. Lyngby, Dinamarca Aceito em 27 de setembro de 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0225-CR>. Acesso em: 28 out .2022.

BERTOLI, A. C. **Efeitos do Cádmio e do Chumbo no Crescimento, Translocação e Teor de Nutrientes Tomateiro** (*Lycopersicon esculentum*) Cultivado em Solução Nutritiva. Dissertação de mestrado—Lavras : Universidade Federal de Lavras , 2011. Disponível em:

[http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/1835/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O\\_Efeitos%20do%20c%C3%A1dmio%20e%20do%20chumbo%20no%20crescimento%20%20transloca%C3%A7%C3%A3o%20e%20teor%20de%20nutrientes%20tomateiro%20%28Lycopersicon%20esculentum%29%20cultivado%20em%20solu%C3%A7%C3%A3o%20nutritiva.pdf](http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/1835/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Efeitos%20do%20c%C3%A1dmio%20e%20do%20chumbo%20no%20crescimento%20%20transloca%C3%A7%C3%A3o%20e%20teor%20de%20nutrientes%20tomateiro%20%28Lycopersicon%20esculentum%29%20cultivado%20em%20solu%C3%A7%C3%A3o%20nutritiva.pdf). Acesso em: 11 set .2022.

BOMFIM, C. A. **Biofertilizante Hortbio®: características microbiológicas e efeito na qualidade da alface**. 2016. xi, [147] f., il. Dissertação (Mestrado em Biologia Microbiana) —Universidade de Brasília, Brasília, 2016. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/21826> Acesso em: 05 nov .2022.

CARDOSO, E.J.B.N.; ANDREOTE, F.D. **Microbiologia do solo/Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso e Fernando Dini Andreote**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Daniel-Bini/publication/311788702\\_Metabolismo\\_Microbiano/links/585a809908ae64cb3d4ac507/Metabolismo-Microbiano.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Daniel-Bini/publication/311788702_Metabolismo_Microbiano/links/585a809908ae64cb3d4ac507/Metabolismo-Microbiano.pdf). Acesso em: 25 nov 2022.

CARVALHO, A. M.DE. **Carbono no solo e emissões de gases de efeito estufa**. Agrolink, 21 dez. 2010. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/875102>. Acesso em: 15 set .2021.

CASARTELLI, E. A.; MIEKELEY, N. Determination of thorium and light rare-earth elements in soil water and its high molecular mass organic fractions by inductively coupled plasma mass spectrometry and on-line-coupled size-exclusion chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 377, n. 1, p. 58–64, 01 set. 2003. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-003-2069-9> Acesso em: 19 out .2022.

CEMADEN. Centro Nacional de Monitoramento e Alertas de Desastres Naturais. **Situação atual e previsão hidrometeorológica para a bacia do rio Paraná**. Nota técnica 31/Maio/2021. Disponível em: [http://www2.cemaden.gov.br/wp-content/uploads/2021/06/NotaTecnica\\_BaciaParana\\_2021\\_Maio31.pdf](http://www2.cemaden.gov.br/wp-content/uploads/2021/06/NotaTecnica_BaciaParana_2021_Maio31.pdf). Acesso em: 25 Nov. 2022.

CHAGAS, A. *et al.* Eficiência da inoculação combinada de rizóbio e *Trichoderma* spp. em diferentes cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no cerrado (Savana Brasileira). **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 20–28, 20 jan. 2014. Disponível em: <https://revistas.rcaap.pt/rca/article/view/16795>. Acesso em: 01 set .2022.

COTRUFO, M.F.; WALLENSTEIN, M.D.; BOOT, C.M.; DENEFF, K.; PAUL, E. **Para restaurar nossos solos, alimente os micróbios**. THE CONVERSATION, 27 jul. 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/gcb.12113>. Acesso em: 15 set. 2020.

CUNHA, T. J. F. C.; MENDES, A. M. S.; GIONGO, V. **Matéria orgânica do solo. Em: Recurso solo: propriedades e usos**. São Carlos: Cubo, 2015. p. 273–293.

Disponível em:

<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1034986/1/Tony2015.pdf>. Acesso em: 05 set .2021.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. **Defining and Assessing Soil Quality**. Em: SSSA Special Publications. [s.l: s.n.]. v. 35p. 3–22. Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub35.c1> . Acesso em: 17 set .2021

FIGUEIREDO, T. DE; FONSECA, F.; NUNES, L. **Proteção do solo e combate à desertificação: oportunidade para as regiões transfronteiriças**. 1. ed. [s.l.] Instituto Politécnico de Bragança, 2015. v. 1. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10198/12212>. Acesso em: 15 set .2021.

FREITAS, C. E. S. D. **Efeito de biofertilizante inoculante de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma spp.* em áreas de cultivo agrícola no município de Nova Tebas - Paraná**. Trabalho de Conclusão de Curso—Campo Mourão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/6907>. Acesso em: 18 set .2020.

GONCALVES G. K. *et al.* **Resposta de Cultivares de Trigo a Adubação Fosfatada em um Nitossolo no Rio Grande do Sul**. Disponível revista científica rural, v. 19, n. 1 (2017). Disponível em: <http://revista.urcamp.tche.br/index.php/RCR/article/view/119> Acesso em: 19 out .2022.

GUALDI, B. L. **Utilização do método Tea Bag Index na biodegradação em solos submetidos a diferentes tipos de uso em Campo Mourão, Paraná**. Trabalho de Conclusão de Curso—Campo Mourão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2019. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/7080>. Acesso em: 10 set .2020.

GUAZZELLI, M. J; RUPP, L. C. D; VENTURINI, L. **Programa de Fortalecimento da Viticultura Familiar da Serra Gaúcha Biofertilizantes. Produção Tecnical**, agosto 2012. Disponível em: [http://www.centroecologico.org.br/cartilhas/Produ%C3%A7%C3%A3o\\_de\\_Uvas\\_Org%C3%A2nicas.pdf](http://www.centroecologico.org.br/cartilhas/Produ%C3%A7%C3%A3o_de_Uvas_Org%C3%A2nicas.pdf). Acesso em: 18 nov .2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Território e Ambiente 2010**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/campo-mourao/panorama>. Acesso em: 15 abr .2022.

KEHRIG, H. A. *et al.* **Bioconcentração e biomagnificação de metilmercúrio na baía de Guanabara, Rio de Janeiro. Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 377–384, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jqn/a/LhbmJbGTGNWLhwrGFNJG4hR/?lang=pt> Acesso em: 18 set .2020.

KEUSKAMP, J. A. *et al.* **Tea Bag Index: a novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems**. *Methods in Ecology and Evolution*, v. 4, n. 11, p. 1070–1075, nov. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12097>. Acesso em: 23 set .2020.

LEPSCH, I. F. **Formação e Conservação dos Solos**. Google Books, 2010. Disponível em:

books.google.com.br/books?id=NH8LDAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-BR#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 05 ago .2022.

MARTINS, C.; FERNANDES, R. **Processos de degradação do solo – medidas de prevenção**. Vida Rural, p. 34–36, 2017. Disponível em: <https://www.vidarural.pt/wp-content/uploads/sites/5/2017/07/aqui-1.pdf>. Acesso em: 30 nov .2020.

MAZZUCHELLI, R. D. C. *et al.* **Formas de aplicação de *Bacillus subtilis* no desenvolvimento inicial da soja.** XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Costão do Santinho Resort. Florianópolis SC. 28 Jul 2 Ago. 2013. Disponível em: <http://bdtd.unoeste.br:8080/jspui/handle/tede/589> . Acesso em: 19 set .2020.

MIRANDA, P. H. C. D. **Atributos biológicos como indicadores de qualidade do solo em diferentes coberturas do solo na agricultura familiar**. Orientador: Vânia Silva de Melo. 2019. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Belém, PA, 2019. Disponível em: <http://bdta.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/1029>. Acesso em: 09 nov .2022.

PELUCO, R. G. *et al.* Mapeamento do fósforo adsorvido por meio da cor e da suscetibilidade magnética do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira [online]. 2015, v. 50, n. 03 pp. 259-266**. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2015000300010>. ISSN 1678-3921 Acesso em: 09 nov .2022.

PRIMO, D. C.; MENEZES, R. C.; SILVA, T. O. Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. **Scientia Plena, [S. l.], v. 7, n. 5, 2011**. Disponível em: <https://www.scientiaplenu.org.br/sp/article/view/342>. Acesso em: 14 nov. 2022.

POGGIANI, Fábio. Florestas para fins energéticos e ciclagem de nutrientes. **Série Técnica IPEF**, v. 1, n. 2, p. D1-D11, 1980. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/stecnica/nr02/cap04.pdf>. Acesso 25 nov. 2022.

RIBAS, T. B. C. **Disposição No Solo De Efluentes De Esgoto Tratado Visando a Redução De Coliformes Termotolerantes**. Dissertação Título de Mestre pelo Curso de Pós graduação em Ciências Ambientais do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade de Taubaté. Área de Concentração: Gestão Integrada de Resíduos 2008. Disponível em: <http://repositorio.unitau.br/jspui/handle/20.500.11874/942>. Acesso 09 nov.2022.

SANTANA, G.P. **Elemento-traço ou metal pesado**. Disponível em: [http://www.cq.ufam.edu.br/Artigos/Elemento\\_metal\\_pesado/Elemento\\_metal\\_pesado.html](http://www.cq.ufam.edu.br/Artigos/Elemento_metal_pesado/Elemento_metal_pesado.html). Acesso em: 06 set. 2020.

SCHEFFER, Mayara. **Isolamento de fungos filamentosos produtores de celulasas a partir de tocos de *Pinus spp.*** XXIV Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/16461> . Acesso em: 29 set .2022.

SILVA, J.A.L., SILVA, J.J.F. (2011). Os elementos químicos e a vida. **41ª Edição. Lisboa, Instituto Superior Técnico, p. 52-57**. Disponível em: [https://www.uc.pt/iii/romuloccv/atividades/cafe\\_livros\\_ciencia/os\\_elementos\\_quimicos\\_e\\_a\\_vida](https://www.uc.pt/iii/romuloccv/atividades/cafe_livros_ciencia/os_elementos_quimicos_e_a_vida) Acesso em: 10 set. 2020.

SOUZA, J.B. *et al.* **Produção de Enzimas Celulolíticas de Fungos Coletados em Sergipe, Utilizando CMC Como Indutor Sob Diferentes Tipos de Cultivo Submerso.** **Anais** do VII Simpósio de Engenharia de Produção de Sergipe (2015) 934 ISSN 2447-0635 | Disponível em: <https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/8322/2/EnzimasCelulolitasFungosCultivo.pdf>. Acesso em: 06 out. 2022.

TISCHER, Juliana Carange; NETO, Marcos Siqueira. **Avaliação da deficiência de macronutrientes em alface crespa. Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 16, n. 2, 2012. <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2012v16n2p%25p>. Acesso em: 04 out .2020.

TORRES, J. L. R ; PEREIRA, M. G. Fertilidade do solo e nutrição de plantas • **Rev. Bras. Ciênc. Solo** **32 (4) • Ago 2008** • Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000400025> pg 1610. Acesso em: 06 out. 2020.

VILLWOCK, F. H.; COLAVITE, A. P. ANALISE COMPARATIVA DOS FRAGMENTOS DE CERRADO NOS MUNICÍPIOS DE CAMPO MOURÃO E JAGUARIAÍVA, PARANÁ, BRASIL. **Colloquium Exactarum. ISSN: 2178-8332**, 12(3), 1–13. (2021). Disponível em: <https://revistas.unoeste.br/index.php/ce/article/view/38201>. Acesso em: 14 set. 2022.

ZILLI, J. É. *et al.* Diversidade Microbiana Como Indicador De Qualidade Do Solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 391-411, set./dez. 2003. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/338214>. Acesso em: 27 set. 2020.