



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



Desenvolvimento de biofertilizante líquido produzido a partir de esterco bovino e cama de frango

EDUARDO RODRIGO DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

Orientação e coorientação:

Prof Dr. Paulino Ribeiro Villas Boas
Prof.^a Dr.^a Maria Olímpia de Oliveira Rezende

bolsista CAPES -88882.426517/2019-01

**São Carlos - SP
2020**

EDUARDO RODRIGO DE OLIVEIRA

Desenvolvimento de biofertilizante líquido produzido a partir de esterco bovino e cama de frango

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

Orientador: Prof Dr. Paulino Ribeiro Villas Boas
Coorientação: Prof.^a Dr.^a Maria Olímpia de Oliveira Rezende

BANCA EXAMINADORA

Prof Dr. Paulino Ribeiro Villas Boas

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Instrumentação São Carlos

Prof.^a. Dr.^a. Cristiane Sanchez Farinas

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Instrumentação São Carlos

Prof.^a. Dr.^a. Denise Celeste Godoy de Andrade Rodrigues

Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

**São Carlos-SP
2020**

Oliveira, Eduardo Rodrigo de

Desenvolvimento de biofertilizante líquido produzido a partir de esterco bovino e cama de frango / Eduardo Rodrigo de Oliveira -- 2020.
52f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos
Orientador (a): Paulino Ribeiro Villas Boas
Banca Examinadora: Cristiane Sanchez Farinas, Denise Celeste Godoy de Andrade Rodrigues
Bibliografia

1. Desenvolvimento de biofertilizante. 2. Resíduos agrícolas. 3. Biotecnologia. I. Oliveira, Eduardo Rodrigo de. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Ronildo Santos Prado - CRB/8 7325



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Eduardo Rodrigo de Oliveira, realizada em 26/10/2020.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Paulino Ribeiro Villas Boas (EMBRAPA)

Profa. Dra. Cristiane Sanchez Farinas (EMBRAPA)

Profa. Dra. Denise Celeste Godoy de Andrade Rodrigues (UERJ)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof Dr. Paulino Ribeiro Villas Boas e a Prof.^a Dr.^a Maria Olímpia de Oliveira Rezende pela orientação e coorientação, pelo tempo dedicado e disposição em fazer parte deste trabalho.

Agradeço profundamente ao Laboratório de Química Ambiental da USP (LQA-USP) e ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo (IQSC-USP) em especial à Dr.^a Maria Diva Landgraf e à Giovanna Jundurian Ribeiro , por todo apoio e ajuda dedicados a este trabalho e a mim.

Agradeço também à coordenação, à secretaria e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFSCar (PPGBiotec), pela assistência, oportunidade e formação concedidas.

A Embrapa Instrumentação-São Carlos e a Milene Corso Mitsuyuki, aos professores Dr. Eduardo Bessa Azevedo e Dr. Igor Renato Bertoni Olivares. E também a equipe do Laboratório de Processos Biológicos (LPB), muito obrigado por toda a ajuda oferecida.

Também agradeço à minha família e amigos por todo o apoio durante o projeto. A todos que de alguma forma fizeram parte dessa etapa.

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001".

Oliveira, Eduardo Rodrigo. **Desenvolvimento de biofertilizante líquido produzido a partir de esterco bovino e cama de frango**. 2020. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia) – UFSCar, São Carlos, 2020

RESUMO

O apelo da agricultura orgânica e da sustentabilidade no setor agrícola guiam esforços ao desenvolvimento e implementação de técnicas alternativas para uso de insumos sintéticos na fertilização de solos e cultivares. Desta forma, pesquisadores e produtores rurais têm sido incentivados a experimentar biofertilizantes preparados a partir da digestão de materiais orgânicos em substituição aos fertilizantes minerais. A dificuldade se encontra em apresentar alternativas competitivas quanto a eficiência produtiva somadas aos custos de produção e a gama de atributos gerados pela adição de insumos sintéticos aos fertilizantes oferecidos comercialmente, como reguladores hormonais de crescimento vegetal. Neste trabalho, desenvolvemos um modo de produção facilitado de biofertilizante líquido a partir da digestão aeróbia ou anaeróbia de rejeitos da produção de avicultura e pecuária e avaliamos seus nutrientes e seu potencial de fertilização de plantas. O biofertilizante líquido desenvolvido apresentou teores de 450-600 mg L⁻¹ de Nitrogênio, 4-5 mg L⁻¹ de Fósforo, 560-650 mg L⁻¹ de Potássio, além da presença de Magnésio, Cálcio, Boro, Ferro, Zinco E Cobre. Demonstrou ainda condições favoráveis à aplicação direta sem correções de pH e salinidade. Em testes de germinação com sementes de alface, não se mostrou tóxico para diluições de 5% até 50% e dificultou a proliferação de bactérias e de fungos. Na análise de espectroscopia de fluorescência, o biofertilizante apresentou concentrações estimadas de 11-26 µmol L⁻¹ de ácido indolacético (AIA), importante fitormônio responsável pela indução de crescimento de raízes de plantas. Como o período ótimo do processo de biodigestão foi de 30 a 45 dias, a produção e utilização do biofertilizante é uma alternativa promissora para substituir fertilizantes minerais, principalmente aqueles destinados às culturas de olerícolas.

Palavras chave: bioproduto, resíduos orgânicos, fertilidade agrícola, sustentabilidade, hormônio de crescimento.

Oliveira, Eduardo Rodrigo. **Development of liquid biofertilizer produced from cattle manure and poultry litter**. 2020. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia) – UFSCar, São Carlos, 2020

ABSTRACT

The organic agriculture appeal for sustainability guides efforts towards the development and implementation of alternative techniques for the use of synthetic inputs in the fertilization of soils and crops. In this way, researchers and agricultural producers have been encouraged to experiment with biofertilizers made from the digestion of organic materials to replace mineral fertilizers. The difficulty lies in developing competitive alternatives in terms of production efficiency, besides the production costs and the range of attributes gained by the addition of synthetic inputs to fertilizers, such as plant growth hormone regulators. In this work, we developed an easy production method for a liquid biofertilizer made from the aerobic or anaerobic digestion of poultry litter and cattle manure and evaluated its nutrients composition and its fertilizer potential for plants. The developed liquid biofertilizer has contents of 450-600 mg L⁻¹ Nitrogen, 4-5 mg L⁻¹ Phosphorus, 560-650 mg L⁻¹ Potassium, in addition to the presence of Magnesium, Calcium, Boron, Iron, Zinc and Copper. It also demonstrate advantageous conditions for direct application without need of pH or salinity adjustment. In germination assessment with lettuce seeds of *L. sativa*, it was not toxic for dilutions of 5% to 50% and hindered the proliferation of bacteria and fungi. In the fluorescence spectroscopy analysis, the biofertilizer showed estimated concentrations of 11-26 µmol L⁻¹ of indolacetic acid (IAA), an important phytohormone responsible for plants root development. The optimum period of the biodigestion process was 30 to 45 days, the production and use of the biofertilizer is a promising alternative to replace mineral fertilizers, mainly those destined for vegetable crops.

keywords: bioproduct, organic waste, agricultural fertility, sustainability, growth hormone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Auxinas naturais e sintéticas, suas estruturas e nomenclaturas (MARCHIORO, 2005).....	10
Figura 1.2 Biosíntese de AIA a partir do triptofano. A) Rota do ácido indolpirúvico; B) Rota da triptamina; C) Rota do indolacetaldoximina.(R = anel indólico) (AZCÓN-BIETO; TALÓN, 2003).....	12
Figura 3.1 Configuração energética de uma molécula orgânica e suas transições eletrônicas.....	20
Figura 4.1- Valores de temperatura do biofertilizante ao longo do processo fermentativo.....	24
Figura 4.2- Valores de pH determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação	24
Figura 4.3-Valores médios para concentração de ácido láctico, em mg L ⁻¹ , determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERTT45, BIOFERTT60)	25
Figura 4.4- Valores para condutividade elétrica em mS cm ⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERTT45, BIOFERTT60).....	26
Figura 4.5-Valores para índice salino, em porcentagem, determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERTT45, BIOFERTT60)	27
Figura 4.6-Valores médios da concentração de carbono orgânico total (COT) em mg L ⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERTT45, BIOFERTT60)	28
Figura 4.7- Concentração de Nitrogênio (NKT), Potássio (K ₂ O), Fósforo (PO ₄ ⁻³), Cálcio (CaCO ₃) e Magnésio (Mg ²⁺) em mg L ⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias ao longo do processo de fermentação	29
Figura 4.8- Concentração de Ferro (Fe), Cobre (Cu), Boro (B) e Zinco (Zn) em mg L ⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias ao longo do processo de fermentação	30
Figura 4.9. Perfis do espectro de emissão-excitação de fluorescência da análise de AIA em: A) Amostra padrão AIA concentração de 50 µmol L ⁻¹ ; B) Amostra de biofertilizante B25% em diluição de 20x; C) Amostra de biofertilizante B50% em diluição de 20x; D) Amostra de biofertilizante B75% em diluição de 20x	35

Figura 4.10-Valores para índice de germinação de sementes de <i>L. sativa</i> dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% determinados em cinco diferentes níveis de concentração (5%, 25%, 50%, 75%, 100%) e amostra controle	37
Figura 4.11 Valores para índice de germinação de sementes de <i>L. sativa</i> dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% determinados em 3 diferentes níveis de concentração (5%, 22,5%, 50%), amostra controle (testemunha), controle negativo e controle positivo	38
Figura 4.12-Placas Petri com amostras controle indicando o desenvolvimento de colônias fúngicas durante teste de germinação e toxicidade	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1-Resumo da metodologia aplicada e sua periodicidade	16
Tabela 4.1- Valores dos atributos dos resíduos <i>in natura</i> antes do preparo do biofertilizante	23
Tabela 4.2-Valores das médias e dos desvios padrão para potencial hidrogeniônico	25
Tabela 4.3- Valores das médias e dos desvios padrão para concentração de ácido láctico, em mg L ⁻¹ , determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERT T45, BIOFERT T60)	26
Tabela 4.4- Valores das médias e dos desvios padrão para condutividade elétrica em mS cm ⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERT T45, BIOFERT T60).....	27
Tabela 4.5-Valores em porcentagem (%) para índice salino. Obtidos em medição única determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERT T45, BIOFERT T60).....	27
Tabela 4.6-Valores das médias e dos desvios padrão da concentração de carbono orgânico total (COT) em mg L ⁻¹ . Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)	28
Tabela 4.7- Tempo ótimo para cada macronutriente avaliado Nitrogênio (NKT), Potássio (K ₂ O), Fósforo (PO ₄ ⁻³), Cálcio (CaCO ₃) e Magnésio (Mg ²⁺).....	29
Tabela 4.8- Tempo ótimo para cada micronutriente avaliado Ferro (Fe), Cobre (Cu), Boro (B) e Zinco (Zn).....	30
Tabela 4.9-Valores dos atributos dos biofertilizantes preparados com diferentes proporções de resíduos agrícolas (esterco bovino e cama de frango)	31
Tabela 4.10-Valores das médias e dos desvios padrão de cada macronutriente, Nitrogênio (NKT), Potássio (K ₂ O), Fósforo (PO ₄ ⁻³), Cálcio (CaCO ₃) e Magnésio (Mg ²⁺) em mg L ⁻¹ . Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).	31
Tabela 4.11-Valores das médias e dos desvios padrão de cada micronutriente, Cobre (Cu), Ferro (Fe) e Zinco (Zn) em mg L ⁻¹	32
Tabela 4.12 Concentração de fitormônio AIA em amostra dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% em μmol L ⁻¹ estimadas pela espectroscopia de fluorescência	36
Tabela 4.13-Índice de germinação para sementes de alface <i>L. sativa</i> na presença dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% determinados em cinco diferentes níveis de	

concentração (5%, 25%, 50%, 75%, 100%) e amostra controle. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)..37

Tabela 4.14 Índice de germinação para sementes de alface *L. sativa* na presença dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% determinados em três diferentes níveis de concentração (5%, 22,5% e 50%), amostra controle e controles positivo e negativo. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).....38

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

AIA – Ácido-3-Indolacético

AIB – Ácido-3-Indolbutírico

AL – Ácido Láctico

B25% - Amostra de biofertilizante obtida da 2ª batelada composta de 25% de cama de frango e 75% de esterco bovino

B50% - Amostra de biofertilizante obtida da 2ª batelada composta de 50% de cama de frango e 50% de esterco bovino

B75% - Amostra de biofertilizante obtida da 2ª batelada composta de 75% de cama de frango e 25% de esterco bovino

BIOFERT T15 – Amostra de biofertilizante obtida da 1ª batelada aos 15 dias do processo de fermentação

BIOFERT T30 – Amostra de biofertilizante obtida da 1ª batelada aos 30 dias do processo de fermentação

BIOFERT T45 – Amostra de biofertilizante obtida da 1ª batelada aos 45 dias do processo de fermentação

BIOFERT T60 – Amostra de biofertilizante obtida da 1ª batelada aos 60 dias do processo de fermentação

CE – Condutividade Elétrica

COT – Carbono Orgânico Total

CTC – Capacidade De Troca Catiônica

IAC – Instituto Agronômico De Campinas

IN – Instrução Normativa

IS – Índice Salino

LQA – Laboratório De Química Ambiental

MAPA – Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento

MPCV – Microorganismos Promotores Do Crescimento Vegetal

NKT – Nitrogênio Kjeldahl Total

SUMÁRIO	
AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES	xi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Fertilização	1
1.2. Biofertilizantes	2
1.3. Resíduos da Produção Aviária	5
1.4. Resíduo da produção Pecuária	6
1.5. Fitormônios.....	8
1.5.1. Auxinas e o Ácido 3-Indolacético	8
1.5.2. Via metabólica da produção de Ácido 3-Indolacético	11
1.6. Produção de ácido 3 indolacético por microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV).....	13
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos	15
3. METODOLOGIA	16
3.1. Análise estatística dos resultados	16
3.2. Materiais e métodos	17
3.2.1. Obtenção dos resíduos.....	17
3.2.2. Preparo da fermentação	17
3.2.3. Determinações Químicas.....	19
3.2.4. Determinação de ácido-3-Indolacético (AIA) por espectroscopia de fluorescência	20

	xv
3.2.5. Índice de germinação e toxicidade.....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1. Caracterização da matéria-prima	23
4.1.1. 1ª Batelada	24
4.1.2. Ácido Lático	25
4.1.3. Condutividade elétrica e índice salino.....	26
4.1.4. Carbono Orgânico Total (COT).....	27
4.1.5. Macronutrientes	28
4.1.6. Micronutrientes	30
4.2. 2ª Batelada.....	31
4.2.1. Macronutrientes	31
4.2.2. Micronutrientes	32
4.3. Determinação de ácido-3-Indolacético (AIA) por espectroscopia de fluorescência.....	33
4.4. Índice de germinação e toxicidade	36
5. CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

1.1. Fertilização

Formulações químicas minerais ou sintéticas e defensivos químicos, categorizados como insumos agroquímicos, são utilizados na fertilização de cultivos vegetais e no controle de pragas e tem aumentado com sucesso a capacidade produtiva dos sistemas agrícolas. Contudo, o intenso e contínuo uso destes insumos agroquímicos têm afetado negativamente o meio ambiente (qualidade do solo, biodiversidade, vida marítima) e a saúde pública. Dessa forma desafios multidirecionais são apontados como chaves para o futuro e desenvolvimento sustentável das atividades no campo, dentre eles está a produtividade agrícola e o uso de insumos para o cultivo vegetal (HAZELL; WOOD, 2008; VASSILEV et al., 2017).

Fertilizantes químicos são substâncias de preparo industrial cujo a utilização têm sido extensivamente explorada para a obtenção de melhores rendimentos agrícolas, uma vez que fornecem nutrientes prontamente assimiláveis às plantas, como nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) (SAHOO; BHARDWAJ; TUTEJA, 2013). O uso intensivo dessa classe de fertilizantes levanta preocupações em torno da poluição gerada e os impactos ambientais provocados, como a eutrofização, acidificação e alteração da estrutura dos solos, contaminação dos lençóis freáticos e possíveis problemas de saúde acarretados aos consumidores (ASGHAR et al., 2006; VESSEY, 2003). No mais, o uso de insumos agrícolas sintéticos também alteram a microbiota do solo, e a redução da diversidade microbiana compromete importantes processos biológicos favoráveis a saúde e desenvolvimento das plantas (NAGANANDA et al., 2010; VASSILEV et al., 2015).

Muitos fertilizantes são produzidos utilizando-se combustíveis fósseis e o aumento do custo do petróleo ocasiona um aumento no custo do produto, tornando a prática agrícola financeiramente mais alta ao produtor, além de mais poluente (BOMFIM, 2016; PINDI, 2012). Um exemplo dos impactos da produção de fertilizantes minerais é o dos fertilizantes fosfatados, que por sua vez são produzidos quase que majoritariamente do fósforo depositado em rochas, utilizando-se para sua obtenção tratamentos com ácidos a elevadas temperaturas e ocasionando na geração de resíduos de difícil descarte. Além disso, as reservas de fósforo nesses ambientes é

limitada, o que futuramente será um problema para sua exploração (OWEN et al., 2014).

Devido ao grande consumo e disponibilidade mercadológica de fertilizantes e defensivos químicos, existe também uma crescente dependência desses produtos. Assim o uso de fertilizantes alternativos com o objetivo de aumentar a produtividade de colheitas sem futuros impactos negativos para o ambiente é necessário. A produção orgânica é uma alternativa ao cultivo convencional e se baseia na incorporação de matéria orgânica e resíduos vegetais no solo, como fonte de macro e micronutrientes. Dessa forma, a visão inovadora da produção sustentável atrai a crescente demanda de fertilizantes orgânicos como uma alternativa aos agroquímicos e a necessidade de criar alternativas que auxiliem o produtor a obter elevada produtividade utilizando esse tipo de prática agrícola, tornando economicamente viável a substituição dos fertilizantes e defensivos químicos (BHARDWAJ et al., 2014; MACHADO et al., 2006; XIANG, 2012).

Os resíduos orgânicos provenientes de atividades rurais, agroindustriais e urbanas têm um grande valor como matéria-prima reciclável na fertilidade do solo, proporcionando retorno financeiro e preservação do meio ambiente podendo contribuir com a queda do uso de fertilizantes químicos (NUNES et al., 2018; TEDESCO et al., 1999).

1.2. Biofertilizantes

Entre as fontes de matéria orgânica aplicáveis na agricultura, o uso do composto tem sido visto como uma alternativa de grande sustentabilidade, pois é um material rico em nutrientes e potencial condicionador das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (GARG; GUPTA; SATY, 2006; LANDGRAF; MESSIAS; REZENDE, 2005).

Prática útil e de baixo custo é o emprego de biofertilizantes, principalmente pelo fato da crescente procura por novas tecnologias de produção que apresentem redução de custos e preocupação com a qualidade de vida humana (MENDES, 2017). Tais fatos, contudo, têm incentivado pesquisadores e produtores rurais a experimentarem biofertilizantes preparados a partir da digestão aeróbia ou anaeróbia de materiais orgânicos em substituição aos fertilizantes minerais (ARAÚJO et al.,

2007). Além disso, esses produtos podem ser produzidos pelo próprio agricultor, gerando economia de insumos importados além de promover melhorias no saneamento ambiental (MEDEIROS et al., 2007).

Segundo o decreto N°4.954, de 14 de Janeiro de 2004 da Presidência da República, que diz respeito à inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura, um fertilizante orgânico composto é um “produto obtido por processo físico, químico, físico-químico ou bioquímico, natural ou controlado, a partir da matéria-prima de origem industrial, urbana ou rural, animal ou vegetal, isoladas ou misturadas, podendo ser enriquecido de nutrientes minerais, princípio ativo ou agente capaz de melhorar suas características físicas, químicas ou biológicas”; e biofertilizante é um “produto que contém princípio ativo ou agente orgânico, isento de substâncias agrotóxicas, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade, sem ter em conta o seu valor hormonal ou estimulante”.

Diversas definições para os biofertilizantes são cunhadas na literatura. Para Santos (2001), biofertilizante é o efluente líquido obtido da fermentação aeróbia ou anaeróbia da matéria orgânica e água. Para Alfa et al. (2014), Nagananda et al. (2010), e Sevilla-Perea e Mingorance (2015) são formulações que utilizam micro-organismos capazes de promoverem o crescimento vegetal pelo suprimento de nutrientes, por meio da capacidade de tornar disponível formas não assimiláveis de elementos por meio de processos biológicos. Medeiros e Lopes (2006) os definem como resíduo final da fermentação de compostos orgânicos que contém células vivas ou latentes de microrganismos (bactérias, leveduras, algas e fungos filamentosos) e de seus metabólicos. Levando em consideração essas definições, tomamos a liberdade de denominar o composto produzido no presente trabalho de biofertilizante líquido.

Na literatura também há trabalhos que reportam que a fertilização com biofertilizante associado ao esterco bovino proporciona maiores produções comerciais em hortaliças das espécies de pepino, berinjela, tomate, alface e pimentão (PINHEIRO; BARRETO, 2000; TANAKA et al., 2003). E onde o uso de micro-organismos benéficos são utilizados para atuar na disponibilidade de nutrientes às plantas, o que tem sido realizado para superar os problemas associados com o uso excessivo de fertilizantes químicos e pesticidas (VASSILEV et al., 2015).

Em doses adequadas, o uso de biofertilizantes via foliar nos cultivos de olerícolas pode ser uma alternativa para o fornecimento de nutrientes, especialmente para as culturas de ciclo relativamente curto, como a alface. Além de ricos em nutrientes, os biofertilizantes possuem compostos bioativos como aminoácidos e fitormônios (MEDEIROS; LOPES, 2006; SILVA et al., 2007). No entanto, biofertilizantes em concentrações muito elevadas afetam o crescimento vegetal, pois alteram processos metabólicos que estão ligados à produção de substâncias de defesa, retardando, principalmente, o crescimento, a floração ou a frutificação (SANTOS; AKIBA, 1996).

O preparo de biofertilizantes não exige uma fórmula padrão, sendo que diversas formulações são propostas e testadas utilizando-se componentes minerais para o enriquecimento do meio de cultivo (MEDEIROS; LOPES, 2006) e sua composição química final varia de acordo com o método de preparo, tempo de decomposição, população microbiológica, temperatura, pH do composto e o material que o origina (BOMFIM, 2016). Os produtos finais vêm sendo usados para fins nutricionais, além de transformarem-se em uma complexa mistura de vitaminas, hormônios de crescimento e antibióticos sem conhecimento científico do efeito ou modo de ação no controle de doenças e pragas (FERNANDES, 2000). E o reaproveitamento de nutrientes após a fermentação de resíduos orgânicos é uma alternativa para reduzir custos na agricultura, além de contribuir para a manutenção do ciclo do carbono.

Quanto à utilização dos biofertilizantes, justifica-se com o exemplo do cultivo de hortaliças com adubos orgânicos que tem aumentado nos últimos anos, devido aos custos dos adubos minerais e aos efeitos benéficos que a matéria orgânica proporciona aos solos e ao ambiente, intensamente cultivados com métodos convencionais (VERONKA et al., 2008), além da demanda por alimentos orgânicos (MENDES, 2017). A adubação foliar na cultura da alface é recomendada como complementação das adubações efetuadas via solo e quando se pretende resposta rápida da cultura, em caso de carências de nutrientes. Nesse sentido, os principais nutrientes aplicados via foliar na alface são N, P, K, Ca e Mg (PEREIRA et al., 2010).

1.3. Resíduos da Produção Aviária

A avicultura de corte, incluindo desde a criação das aves até abatedouros e frigoríficos, origina enormes quantidades de resíduos sólidos e líquidos que necessitam de manejo adequado. Esta problemática é de particular importância para países em desenvolvimento, como o Brasil, onde a indústria avícola atende tanto ao mercado interno quanto externo (KIST; MOUTAQI; MACHADO, 2009).

Estimativas indicam que aproximadamente 6,8 milhões de m³ de cama de aviário sejam gerados anualmente a partir da criação de frangos de corte, representando 238 mil toneladas de N, 273 mil toneladas de P₂O₅ e 204 mil toneladas de K₂O (CORRÊA; MIELE, 2011). A reutilização da cama de aviário pode ocorrer através do seu uso em outros lotes/criadas de aves ou na adubação de culturas. A composição aproximada apresenta 3% de N, 3% de P₂O₅ e 2% de K₂O na sua composição, considerando cama de aviário utilizada em um ciclo produtivo (AVILA; MAZZUCO; FIGUEIREDO, 1992).

Diversos métodos físico-químicos e microbianos vêm sendo desenvolvidos para a conversão destes materiais ricos em proteína a formas de maior degradabilidade/digestibilidade, no intuito de manejar e agregar valor comercial às penas (BOSE et al., 2014). Microrganismos queratinolíticos são capazes de degradar penas de frango, utilizando-as como fonte de carbono, nitrogênio e enxofre. O bioprocessamento microbiano da cama de frango apresenta-se como uma tecnologia econômica e ecologicamente correta para a destinação das penas e demais rejeitos produzidos pela indústria avícola. Dentre os produtos desta bioconversão estão hidrolisados proteicos, ou seja, misturas de aminoácidos e peptídeos, além de formas inorgânicas de N, que apresentam potencialidade quanto ao uso agrícola (BRANDELLI; DAROIT; RIFFEL, 2010).

Embora bactérias e fungos sejam explorados para a degradação de rejeitos avícolas, a investigação de aplicações agronômicas/agrícolas dos hidrolisados obtidos vem recebendo crescente atenção somente recentemente. Paul et al. (2014) destacam que os hidrolisados de penas obtidos a partir de *Paenibacillus woosongensis* TKB2 apresentam oligopeptídeos e aminoácidos derivados da degradação bacteriana de penas de frango, sendo, por isso, promissor para utilização em formulação de rações para animais e biofertilizantes.

1.4. Resíduo da produção Pecuária

Nos últimos anos, o segmento pecuário brasileiro implementou alterações significativas na criação de animais domésticos que ampliaram a capacidade de produzir produtos de origem animal, atendendo demanda crescente da população mundial.

Com isso, em curto espaço de tempo montantes significativos de resíduos passaram a ser gerados com a intensificação e concentração da produção por parte dessas cadeias, impondo o desafio de encontrar um manejo adequado para mitigar os riscos que representam ao meio ambiente e ao status sanitário dessas cadeias.

A região administrativa central do estado de São Paulo, na qual se encontra o município de São Carlos, caracteriza-se por intensa atividade agropastoril, em que a pecuária de confinamento e extensiva bovina tem papel destacado. (MENDES, 2017).

A fim de atender tais demandas produtivas, práticas até então rotineiramente utilizadas no interior das propriedades como o enterro, a incineração e a compostagem passam a ser insuficientes para equacionar esta questão, ocasionando adversidades aos produtores e ao meio ambiente.

A adubação orgânica com esterco bovino é uma prática milenar, havendo a queda do seu prestígio com a introdução da adubação mineral em meados do século XIX, mas tem retomado relevância nas discussões das últimas décadas, com o crescimento da preocupação com as políticas ambientais, com a alimentação saudável e com a necessidade de destinação apropriada para grandes quantidades de rejeitos produzidas em alguns países (BLAISE et al., 2005; HOLANDA, 1990; SALAZAR et al., 2005).

De acordo com Raij et al. (1996), a composição química média do esterco bovino fresco é a seguinte: 5 g Kg⁻¹ de N; 2,6 g Kg⁻¹ de P; 6 g Kg⁻¹ de K; 2 g Kg⁻¹ de Ca; 1 g Kg⁻¹ de Mg; 1 g Kg⁻¹ de S; 33 mg Kg⁻¹ de Zn; 6 mg Kg⁻¹ de Cu e 2 mg Kg⁻¹ de Ni. Já para o esterco de aves fresco a composição média é: 14 g Kg⁻¹ de N; 8 g Kg⁻¹ de P; 7 g Kg⁻¹ de K; 23 g Kg⁻¹ de Ca; 5 g Kg⁻¹ de Mg; 2 g Kg⁻¹ de S; 138 mg Kg⁻¹ de Zn; 14 mg Kg⁻¹ de Cu e 2 mg Kg⁻¹ de Ni.

Para Baldissera e Scherer (1992), a incorporação de esterco bovino tem se revelado uma prática viável no incremento da produtividade dos solos, devido à sua atuação sobre as características químicas do solo e, via de regra, estimularem a atividade biológica e favorecerem o condicionamento físico do solo. Julgava-se, inicialmente, que esse estímulo à atividade biológica era devido aos microrganismos existentes no esterco, porém, mais tarde foi demonstrado que mesmo adicionando ao solo esterco esterilizado obtinha-se aumento considerável da população microbiana (DEMÉTRIO, 1988; KIEHL, 1985; PRIMAVESI, 1990).

O esterco bovino apresenta significativa carga de N mesmo quando submetido ao processo de curtição, onde há ocorrência de perda de N por volatilização. Apresenta também efeito regulador do pH do solo e neutralizador de íons trocáveis, como por exemplo, de íons de Al. Além de promover o aumento do teor de nutrientes como P, K e Ca (ARAÚJO, 2005; ERNANI; GIANELLO, 1983; FRY; BARBARA, 1973).

Contudo, boa produtividade agrícola está associada a quantidade adequada dos nutrientes existentes no perfil do solo, e o teor desses nutrientes depende da qualidade e quantidade dos adubos orgânicos utilizados, bem como do tipo de solo onde é aplicado. Dessa forma, o esterco bovino é forte aliado na fertilidade do solo, pois tem em sua fração solúvel a característica de manter P e outros nutrientes essenciais de forma disponível e absorvível pelas plantas (KONZEN et al., 1997; LUND; DOSS, 1980; TIBAU, 1983).

Quantidades adequadas de esterco bovino de boa qualidade podem suprir as necessidades das plantas em macronutrientes, sendo o potássio, o elemento cujo teor atinge valores mais elevados no solo pelo seu uso contínuo (CAMARGO, 1992; RAIJ et al., 1996). Porém, sua adição em quantidade excessiva pode trazer prejuízos às plantas em solos muito ácidos e argilosos, onde os benefícios da adubação orgânica não são muito evidentes. Neste caso, a aplicação de altas doses de esterco bovino pode aumentar os teores de nitrogênio no tecido vegetal e água, salinização do solo pela possibilidade de elevação da condutividade elétrica, desbalanço nutricional e conseqüentemente, redução da produtividade das culturas (BRADY, 1983; SILVA; MAIA; OLIVEIRA, 2000).

1.5. Fitormônios

Fitormônios ou hormônios vegetais são compostos orgânicos (substâncias naturais de crescimento) ou sintéticos (hormônios sintéticos e reguladores sintéticos) que atuam como reguladores de processos metabólicos vegetais atuando no crescimento ou modulando mecanismos fisiológicos das plantas (AZEVEDO et al., 2018).

Auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno são fitormônios amplamente conhecidos e explorados cientificamente quanto às suas funcionalidades, interações e aplicações. Além da participação nos processos fisiológicos das plantas, os fitormônios podem interagir entre si e muitos modulam ou são modulados pelos níveis de auxina (DEMASON, 2005). Auxinas e citocininas proporcionam controle e dominância apical. Citocinina retarda o envelhecimento vegetal e sua aplicação combinada com auxina é utilizada para o desenvolvimento de raiz *in vitro* (SKOOG; MILLER, 1957). Níveis de auxinas e citocininas são correlacionados inversamente *in vivo* (EKLÖF et al., 2000), e o uso de auxina pode exercer efeito inibidor rápido sobre a biossíntese de citocinina (NORDSTRÖM et al., 2004). Também são descritas as interações dos hormônios vegetais auxina e giberelina no desenvolvimento e amadurecimento de frutos e na produção do ácido giberélico modulada pela presença de auxina (ROSS et al., 2000).

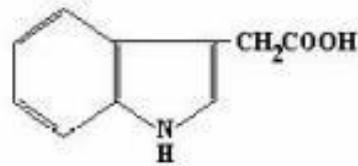
Auxina e etileno combinados atuam sobre o processo de abscisão das folhas. A produção endógena de auxina promove a indução de gene que codifica para enzima de biossíntese de etileno (ABEL; OELLER; THEOLOGIS, 1994; MORGAN; HALL, 1962) e de maneira contrária, a exposição exógena ao etileno inibe o transporte lateral e longitudinal de auxina em plantas (BURG; BURG, 1966; SUTTLE, 1988).

1.5.1. Auxinas e o Ácido 3-Indolacético

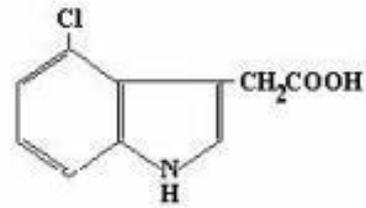
Termo cunhado por pesquisadores que investigavam substâncias responsáveis por promover crescimento vegetal presentes na urina humana, sendo primariamente chamadas de auxinas A e B (ARTECA, 1996; KÖGL; HAAGEN-SMIT, 1931). Tiveram suas nomenclaturas alteradas para heteroauxina bioativa e posteriormente para ácido 3-indolacético (AIA), após ser isolado de fungos um

composto com atividade similar à auxina porém com estrutura distinta (THIMANN; KAUFMAN, 1977), passando esta a ser denominada heteroauxina.

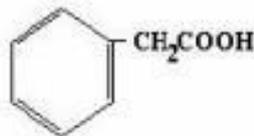
Auxina é o termo oriundo da palavra grega *auxien* que significa “crescer”, “aumentar”, e foi mencionada pela primeira vez no trabalho de WENT (1926) no qual ele descreve o papel dessa categoria de moléculas como reguladoras e/ou coordenadoras dos processos fisiológicos vegetais. (THIMANN; KAUFMAN, 1977). Produzidas pelas plantas, as auxinas são hormônios presentes em diferentes tecidos vegetais e que atuam no alongamento e divisão celular (TAIZ; ZEIGER, 2004). São auxinas naturais (Figura 1.1) o ácido-3-indolacético (AIA), o ácido-3-indolbutírico (AIB), o 3-ácido-4-cloroindolacético e o ácido fenilacético; são auxinas sintéticas o ácido naftaleno acético, o ácido 2-metoxi 3,6-diclorobenzóico, o 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e o ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T).

Auxinas naturais

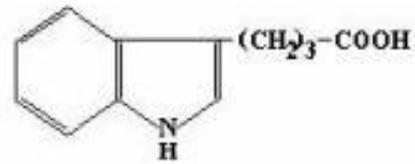
ácido 3- indol acético
(AIA)



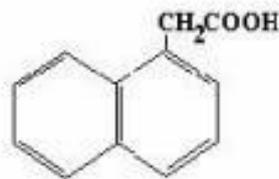
3 ácido 4-cloroindol acético



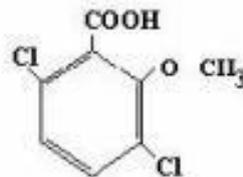
ácido fenilacético



ácido 3-indol butirico
(AIB)

Auxinas sintética

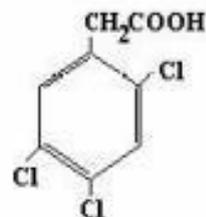
ácido naftaleno acético



ácido 2-metoxi
3,6-dicloro benzóico



2,4-diclorofenoxiacético
(2,4-D)



ácido 2,4,5triclorofenoxi acético
(2,4,5- T)

Figura 1.1 Auxinas naturais e sintéticas, suas estruturas e nomenclaturas (MARCHIORO, 2005)

Além do AIA e das demais auxinas, outros compostos sintéticos também favorecem o crescimento das células vegetais, por exemplo o ácido indenoacético, o ácido 2-benzofuranacético e o ácido 3-benzofuranacético. Observou-se que compostos que possuem anel indólico também agem como reguladores de crescimento celular vegetal, como o ácido-3-indolpirúvico, o ácido indolbutírico,

derivados do naftaleno como o ácido naftil-1-acético e o ácido naftoxi-2-acético. Por último, alguns ácidos fenoxiacéticos com atividade auxínica levaram à descoberta do 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) molécula que apresenta grande atividade auxínica. Sendo ponto de partida para descoberta de uma gama de moléculas com atividade auxínica, como o ácido 2-metil, 4-cloro fenoxiacético (AMCP) e o ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), ambos com propriedades herbicidas quando empregados em concentrações elevadas (MARCHIORO, 2005).

O ácido 3-indolacético é a forma mais predominante dentre as auxinas. Evidências sugerem a presença de outras auxinas indólicas naturais nas plantas e seu estímulo ao desenvolvimento celular é dependente da sua concentração nos tecidos. Segundo Taiz e Zeiger (2004), concentrações que tangem entre 10^{-3} mol L⁻¹ (1mM) a 10^{-6} mol L⁻¹ (1µM) de auxina exibem efeitos positivos no crescimento de plantas. A concentração ótima de auxina para estimulação do crescimento vegetal é em torno de 10^{-6} a 10^{-5} mol L⁻¹. Em concentrações muito elevadas, acima de 10^{-4} mol L⁻¹, a auxina se torna inibitória ao crescimento radicular. Em concentrações mais baixas, menores do que 10^{-6} mol L⁻¹, passa a ser menos eficaz sobre o crescimento vegetal, entretanto, influencia o crescimento radicular.

Tecnologias de cultivo de tecidos vegetais foram desenvolvidas a partir do uso e dos efeitos do AIA. O AIA é produzido principalmente no meristema apical do caule (gema) e é transportado pelo caule até as raízes pelas células parenquimais. Seu transporte se dá de maneira ativa e unidirecional promovendo alongamento e divisão celular de novas células nas raízes e caule. (ALBERTINI, 2007).

1.5.2. Via metabólica da produção de Ácido 3-Indolacético

O aminoácido triptofano (TRP) tem sido considerado o principal precursor metabólico na rota de síntese endógena de AIA. No entanto, dados experimentais demonstram a síntese de AIA de forma independente da presença de TRP, tendo como precursor dessa rota alternativa de AIA o indolglicerolfosfato que, por sua vez, é um precursor do aminoácido triptofano. A Figura 1.2 ilustra as três principais rotas de formação endógena de AIA a partir do triptofano como precursor.

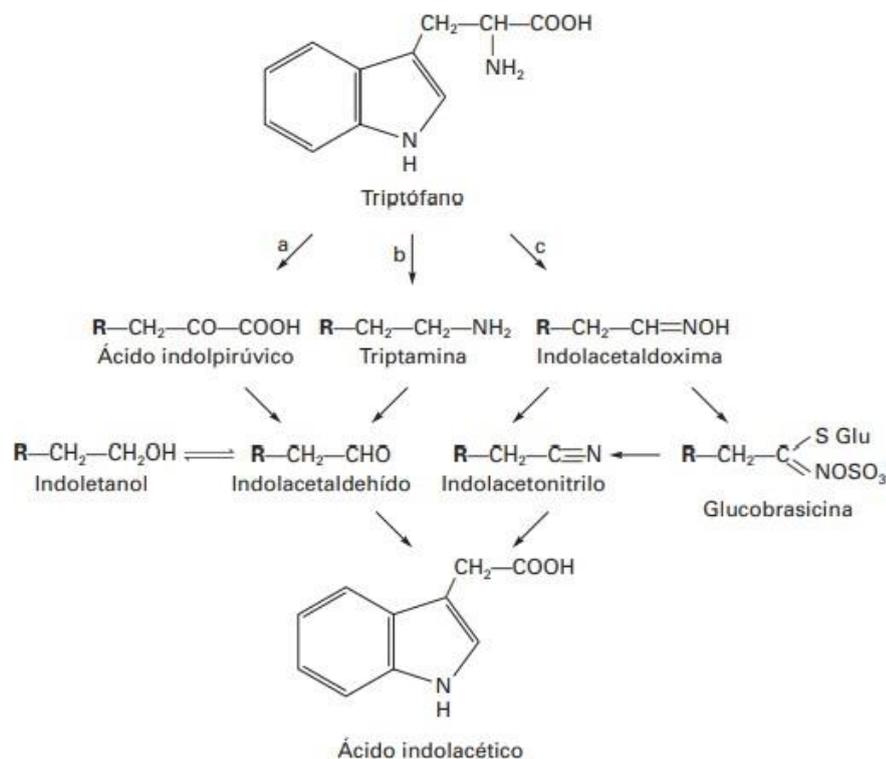


Figura 1.2 Biosíntese de AIA a partir do triptofano. A) Rota do ácido indolpirúvico; B) Rota da triptamina; C) Rota do indolacetaldoxima. (R = anel indólico) (AZCÓN-BIETO; TALÓN, 2003)

A) Rota ácido indolpirúvico: A transaminação do triptofano produz ácido indolpirúvico, que é descarboxilado para gerar indolacetaldeído; a oxidação do aldeído ao ácido produz AIA. Alternativamente, algumas plantas podem reduzir indolacetaldeído a indol-etanol, o que pode influenciar a regulação da biossíntese de AIA.

B) Rota triptamina: A descarboxilação do triptofano produz triptamina que, depois de uma desaminação oxidativa, se transforma em indolacetaldeído. Este composto é, portanto, um intermediário em comum com a rota acima.

C) Rota indolacetaldoxima: A descarboxilação oxidativa do triptofano produz indolacetaldoxima que, por perda de água, gera indolacetonitrilo. Esta transformação também pode ocorrer através da formação de glucobrassicina, um metabolito característico da família *Brassicaceae*. A hidrólise de indolacetonitrilo produz AIA.

É comprovada também a formação de AIA a partir do ácido 3-indolbutírico (AIB), a molécula sofre beta-oxidação quando dentro do peroxissomo. Há também o processo reverso, ou seja, a formação de AIB a partir de AIA por meio da ação enzimática de uma AIB-sintase (AZCÓN-BIETO; TALÓN, 2003; MARCHIORO, 2005).

1.6. Produção de ácido 3 indolacético por microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV)

Muitas relações simbióticas entre plantas e microrganismos do meio ambiente são benéficas para o desenvolvimento vegetal, seja de forma direta, como na fixação de nitrogênio e/ou produção de fitormônios, ou indireta como no antagonismo frente a patógenos e resistência a drogas e ao estresse ambiental. Assim, aproveitam-se essas relações benéficas entre microrganismos endofíticos e plantas como ações alternativas para o combate de pragas e doenças nas lavouras e aplicação excessiva de insumos agroquímicos. (MARCHIORO, 2005; SOUZA, 2001). A associação de bactérias e plantas ocorrem em dois níveis agrobiológicos: os níveis endofítico e rizosférico. Endofítico onde os microrganismos residem no interior da planta e no segundo nível, rizosférico, onde os microrganismos se encontram colonizando a rizosfera, zona de solo ao redor das raízes sob influência do sistema radicular (AZEVEDO et al., 2018).

Os microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV) são considerados como promotores diretos ou indiretos do crescimento das plantas, podem exibir uma variedade de espécies responsáveis por influenciar o crescimento vegetal e os traços mais comuns dessas espécies incluem a produção de reguladores de crescimento vegetal (auxina, giberelinas e etileno), sideróforos, HCN e produção de antibióticos. Seu principal representante de ocorrência natural nas plantas é o ácido indolacético (AIA), que além de ser produzido por plantas, também é produzido por bactérias e fungos (AHMAD; AHMAD; KHAN, 2005; BAREA; NAVARRO; MONTOYA, 1976; DVORNIKOVA; SKRIABIN; SUVOROV, 1970; TSAVKELOVA et al., 2006). O AIA serve como um agente de regulação de diferenciação de células microbianas, por exemplo, ele estimula a germinação de esporos e alongamento de micélio em isolados de actinomicetos, e induz a filamentação (crescimento invasivo) e a adesão ao substrato em *Saccharomyces cerevisiae* (MATSUKAWA et al., 2007; PRUSTY; GRISAFI; FINK, 2004).

Loper e Schroth (1986) e Sarwar e Kremer (1995) observaram a inibição do crescimento radicular de beterrabas e de ervas daninhas e outras plantas quando cultivadas na presença de bactérias deletérias da rizosfera que produzem grandes quantidades de AIA, ou quando essa produção de AIA é estimulada pela presença de triptofano.

Duca et al. (2014) descrevem a síntese de AIA em bactérias associadas à plantas por meio da rota do ácido indolpirúvico e discorrem que ainda há muito a ser elucidado sobre as interações existentes entre as plantas e seus genótipos frente à interação com comunidades microbianas endofíticas, epifíticas e da rizosfera com as quais interage durante seus ciclos de desenvolvimento. Neste aspecto, bactérias endofíticas dos gêneros *Gluconacetobacter spp*, *Acinetobacter spp*, *Actinomyces spp*, *Agrobacterium spp*, *Azospirillum spp*, *Bacillus spp*, *Burkholderia spp*, *Curtobacterium spp*, *Pantoea spp*, *Pseudomonas spp* e *Xanthomonas spp* são apontadas como promotoras do crescimento vegetal e são objetos de estudo de pesquisas que investigam esse potencial.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Propor método simples quanto à composição e preparo de um biofertilizante líquido produzido a partir de esterco bovino e cama de frango e avaliação de bioatividade associada a presença de fitormônio ácido-3-indolacético (AIA).

2.2. Objetivos específicos

Caracterizar quanto a parâmetros físico-químicos as matérias-primas *in natura*;

Avaliar o potencial fertilizante da mistura de rejeitos da produção pecuária e avícola no preparo de biofertilizantes líquidos quanto ao modo e o tempo de preparo;

Caracterizar os biofertilizantes líquidos produzidos ao longo do processo de fermentação quanto a temperatura, o pH e a acidez, condutividade elétrica, concentração de macro e micronutrientes, teor de matéria orgânica;

Determinar e avaliar a presença do fitormônio ácido-3-indolacético (AIA);

Avaliar o efeito dos biofertilizantes, através de aplicações em teste de germinação em sementes de alface (*L. sativa*) com diferentes dosagens levando-se em consideração a análise dos parâmetros de desenvolvimento das sementes.

3. METODOLOGIA

As metodologias aplicadas às caracterizações da matéria-prima e dos biofertilizantes, assim como da periodicidade dessas caracterizações, estão apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1-Resumo da metodologia aplicada e sua periodicidade

Matriz	Atributo	Periodicidade	Metodologia
Esterco bovino e cama de frango <i>in natura</i>	Macro e micronutrientes	Início	IN 28 do MAPA*, adaptado; EPA3051
	Carbono orgânico total	Início	IN 28 do MAPA; ZOZOLOTTO et al., 2012
	Umidade a 65°C	Início	IN 28 do MAPA
	pH	Início	IN 28 do MAPA
	% de matéria orgânica	Início	IN 28 do MAPA
	Índice salino de fertilizante	Início	IN 28 do MAPA
	Condutividade elétrica em fertilizantes a 25°C	Início	IN 28 do MAPA
Biofertilizantes	Macro e micronutrientes	15 ^o , 30 ^o , 45 ^o , 60 ^o dia	IN 28 do MAPA
	Carbono orgânico total	15 ^o , 30 ^o , 45 ^o , 60 ^o dia	IN 28 do MAPA
	pH	15 ^o , 30 ^o , 45 ^o , 60 ^o dia	IN 28 do MAPA
	Índice salino de fertilizante	15 ^o , 30 ^o , 45 ^o , 60 ^o dia	IN 28 do MAPA
	Condutividade elétrica	15 ^o , 30 ^o , 45 ^o , 60 ^o dia	IN 28 do MAPA
	Relação C/N	Final	IN 28 do MAPA
	Determinação ácido 3-indolacético	Final	LI et al., 2009
	Índice de germinação e toxicidade	Final	BRASIL, 2009; ARAÚJO et al., 2015

3.1. Análise estatística dos resultados

Determinações, testes e ensaios realizados em bancadas foram feitos em triplicata. As determinações espectroscópicas foram feitas com a quantidade de replicatas necessárias para obtenção de uma boa resolução espectral.

Para a modelagem do teor dos elementos em função do número de dias foram ajustados modelos quadráticos e lineares. O nível de significância adotado foi de 5% e o software utilizado nas análises foi o R versão 3.6.1.

Para a comparação das médias dos teores dos elementos nos diferentes percentuais de cama de frango foi utilizada anova e teste de comparações múltiplas de Duncan. Nos casos de heterogeneidade de variância utilizou-se anova não paramétrica e teste de comparações múltiplas de Kruskal-Wallis. O nível de significância adotado foi de 5% e o software utilizado nas análises foi o R versão 3.6.1.

3.2. Materiais e métodos

Para a avaliação dos biofertilizantes foram planejadas duas bateladas com finalidades distintas. Uma primeira batelada utilizando proporções iguais de resíduos (esterco bovino e cama de frango) mais a adição de água e período de fermentação de 60 dias com o objetivo de determinar um tempo ótimo de concentração dos principais parâmetros de fertilidade para um biofertilizante líquido. Consecutivamente a primeira produziu-se uma segunda batelada, desta vez variando as proporções dos resíduos e tendo como período de fermentação o tempo ótimo determinado na primeira fase experimental. O objetivo nesse experimento foi de avaliar o efeito da variação de proporção dos resíduos na composição do biofertilizante líquido.

3.2.1. Obtenção dos Resíduos

Para realização dos experimentos os resíduos foram obtidos com produtores agrícolas locais e da região de São Carlos-SP. O esterco bovino foi obtido da Fazenda Santo Antônio da Invernada, proveniente de gado de confinamento e a cama de frango coletada da granja Sítio Santo Antônio – Dourado-SP

Os experimentos foram conduzidos em bombonas plásticas fechadas e em ambiente protegido em casa de vegetação localizada na área II do campus da USP e também no laboratório de química ambiental (LQA- área I) da universidade de São Paulo, em São Carlos- SP.

3.2.2. Preparo da Fermentação

O preparo das misturas seguiu uma proporção de 20% de resíduo agrícola (esterco bovino e cama de frango) e 80% água. Valores definidos a partir de uma

adaptação do biofertilizante proposto por Pinheiro e Barreto (1996) e previamente avaliado por Mendes (2017).

1ª batelada

O experimento foi produzido utilizando uma bombona plástica de 100L onde foram adicionados 4L de esterco bovino mais 4L de cama de frango e 32L de água, volumes medidos em béquer, para um total de 40L. O barril foi mantido fechado durante os 60 dias de fermentação sendo aberto apenas para agitação uma vez ao dia.

2ª batelada

Nesse experimento foram preparadas três misturas variando a proporção de cada resíduo utilizado. Na primeira bombona, respeitando a proporção de 20% da composição de resíduo, foram adicionados 2L de cama de frango e 6L de esterco bovino, também medidos em béquer, e foram adicionados 32L de água. Essa bombona foi denominada B25%, tendo como referência a porcentagem do resíduo cama de frango na composição. Na segunda bombona foram adicionados 4L de esterco bovino e 4L de cama de frango juntamente com 32L de água. A segunda bombona foi denominada B50% e tem composição igual ao biofertilizante produzido na primeira batelada. E a terceira bombona foram adicionados 6L de cama de frango e 2L de esterco bovino e também 32L de água, sendo essa denominada B75%. Assim como na primeira batelada as bombonas foram mantidas fechadas sendo abertas apenas para agitação uma vez ao dia.

Intencionalmente, nenhum método de pré-tratamento foi utilizado nos resíduos e nem na água utilizada, também não se utilizou de nenhum meio para controle de temperatura, pH ou de qualquer interferência interna ou externa. Intencionou-se avaliar a produção de um biofertilizante líquido produzido a partir da biodigestão dos resíduos agrícolas a fim de se obter um bioproduto de boa qualidade e de fácil replicação.

3.2.3. Determinações Químicas

As análises químicas dos biofertilizantes foram conduzidas no Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química de São Carlos da USP. As alíquotas foram coletadas e avaliadas a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação, sendo esses tempos denominados: T15, T30, T45 e T60. As avaliações realizadas para a amostra obtida na segunda batelada foram coletadas aos 45 dias do processo fermentativo da produção dos biofertilizantes

Os atributos que foram determinados nas amostras dos biofertilizantes produzidos são aqueles preconizados pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC) seguindo a Instrução Normativa 28 (IN 28) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de 27 de Julho de 2007.

A IN 28 sugere fazer a digestão utilizando o método do ácido cítrico em chapa aquecedora. Essa digestão além de demorada, requer a utilização de reagentes em grande volume, e pode levar a perdas por volatilização. O Laboratório de Química Ambiental (LQA) possui um forno de micro-ondas (*SpeedWave four – microwave digestion system with Built-in, non-contact temperature and pressure measurement*) em sistema fechado que apresenta algumas vantagens em relação ao método do bloco digestor (alta velocidade de decomposição, elevadas temperaturas e pressão, o que minimiza perdas de analitos voláteis); assim, as amostras foram digeridas utilizando o forno de micro-ondas ao invés do bloco digestor. Depois das digestões, as alíquotas foram determinadas por espectrometria de absorção atômica (IN 28 – MAPA, adaptado; EPA3051).

Adaptação também sofreu a metodologia de determinação do carbono orgânico total (COT). A metodologia sugerida pelo MAPA utiliza o método da dicromatometria. Nesse método, utiliza-se um composto altamente tóxico que é o Cr (VI) na forma de íon dicromato, com grande geração de resíduos. Considerando que no LQA se dispõe de um analisador elementar de carbono (COT-V_{CPH}) acoplado ao módulo de amostras sólidas, SSM-5000A, da marca SHIMADZU (com detector de combustão), a determinação de COT foi via instrumental (ZOZOLOTTO et al., 2012).

Outras determinações foram: pH, carbono orgânico total (COT), capacidade de troca catiônica (CTC), condutividade elétrica em fertilizantes a 25°C, índice salino de fertilizantes e ácido láctico.

3.2.4. Determinação de ácido-3-Indolacético (AIA) por espectroscopia de fluorescência

Para determinação do teor do fitormônio AIA, ácido-3-indolacético, nas amostras de biofertilizantes, foram utilizadas amostras dos biofertilizantes produzidas na segunda batelada (B25%, B50% e B75%).

A fluorescência ocorre quando há excitação do elétron para um estado de maior energia e preservação da sua orientação original de spin (singleto), já na fosforescência o processo de excitação do elétron para um estado de maior energia promove também a alteração/inversão do spin (estado excitado tripleto). Dessa maneira, quando se dá o retorno do elétron ao seu estado fundamental, que é de caráter singleto, a fluorescência ocorre de forma mais rápida (velocidade de transição na ordem de 10^{-9} segundos) que a fosforescência, o que permite que a fluorescência seja um processo mais comum e possível de ser observado com mais facilidade em temperatura ambiente e visível diretamente em solução. Também é uma técnica bastante seletiva uma vez que ambos os comprimentos de onda de excitação e emissão dependem da estrutura molecular de interesse (CHIMENEZ, 2011).

A Figura 3.1 mostra a configuração dos níveis de energia de uma molécula orgânica, em que se observa processos de absorção de energia, entre o estado fundamental S_0 e os estados singletos S_1 , S_2 , S_3 , etc. e os consequentes mecanismos de dissipação da mesma. Os processos de volta dos elétrons ao nível de menor energia podem ocorrer de forma radioativa ou não.

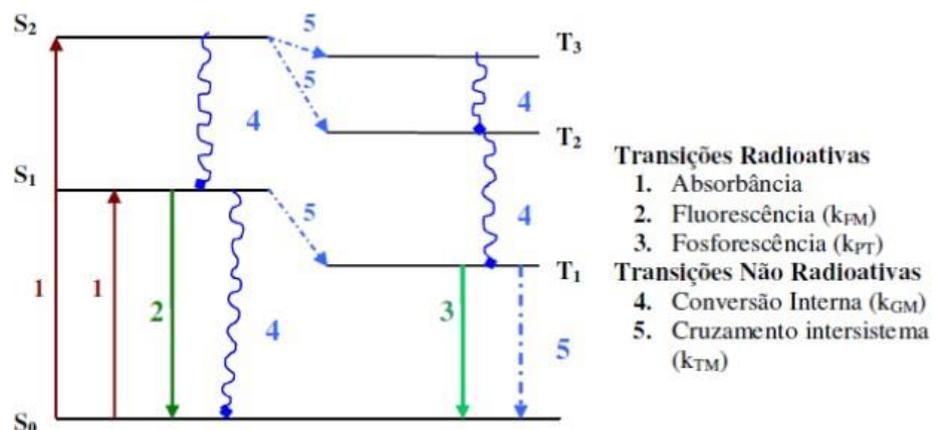


Figura 3.1 Configuração energética de uma molécula orgânica e suas transições eletrônicas

As medições de fluorescência foram realizadas em um espectrofotômetro de fluorescência equipado com uma lâmpada de xenônio de 150 W, e célula de quartzo de 1cm. Matrizes de emissão e excitação foram registrados a cada 5 nm ao longo do intervalo $\lambda_{\text{emissão}} = 310-470$ nm e a cada 2 nm ao longo do intervalo $\lambda_{\text{excitação}} = 240 - 300$ nm

As amostras foram preparadas por meio de centrifugação a 4000 rpm por 20 minutos seguidas de filtração em papel filtro gramatura de 80g/m² e porosidade de 3 micras. Posteriormente, em balões de 100ml adicionou-se 1ml do volume filtrado das amostras juntamente com 1ml de solução tampão fosfato pH 9 e completou-se os volumes dos balões com água destilada ultrapura. Como padrão preparou-se uma solução de ácido-3-indolacético da Sigma-Aldrich® na concentração de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

As determinações das concentrações de AIA nas amostras de biofertilizantes B25%, B50% e B75% se deram pela correlação matemática realizada a partir do perfil de espectro emissão-excitação de fluorescência obtidos para a amostra padrão na concentração de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIA. Para ajustes e construção de gráficos utilizou-se o software *python* versão 3.5 com a biblioteca *lmfit*.

3.2.5. Índice de germinação e toxicidade

Para o teste utilizou-se amostras dos três biofertilizantes produzidos na 2ª batelada tendo como parâmetro os biofertilizantes (B25%, B50% e B75%) e para cada fator cinco níveis de concentração avaliados (5%, 25%, 50%, 75% e 100%) mais um controle irrigado com água de abastecimento comum. O experimento foi conduzido em placas de Petri de vidro com papel filtro gramatura de 80 g/m² e porosidade de 3 micras, sobre cada placa foram distribuídas aleatoriamente 20 sementes de alface manteiga (*L. sativa*) e posteriormente um volume de 5ml de biofertilizante foi adicionado em cada placa. As placas foram cobertas com papel filme pvc e condicionadas em câmara de germinação (câmara de germinação com fotoperíodo Tecnal – modelo TE-401) com temperatura e luz controladas à 20°C e ciclos luminosos alternados à cada 8h e mantidas nestas condições por um período de sete dias (BRASIL, 2009).

Um segundo teste de germinação foi realizado em triplicata com delineamento experimental totalmente casualizado, com a adição de um grupo controle positivo e um grupo controle negativo, além de um grupo testemunha. Como controle positivo utilizou-se o fertilizante misto líquido comercial HydroFert®, seguindo as recomendações de aplicação do fabricante e para controle negativo foi utilizado solução salina de cloreto de sódio (NaCl) na concentração de 60 mmol L⁻¹ (SANTOS et al., 2009). Por fim, como grupo testemunha adicionou-se um grupo onde foi aplicado nas sementes apenas água destilada. Para esse experimento aplicou-se diluições das amostras de biofertilizantes nos valores de 5%, 22,5% e 50% nas demais sementes.

O experimento decorreu exatamente nas mesmas condições supracitadas. Após o período de germinação as aferições da longitude média das raízes foram realizadas com auxílio de régua e lupa e o índice de germinação determinado segundo a equação:

$$IG = \frac{\%G \times Lm}{Lc}$$

Equação 1- IG é o índice de germinação; %G é a porcentagem de germinação em relação ao controle; LM é a longitude média das raízes da amostra (cm) e LC longitude média das raízes do controle (cm) (ARAÚJO et al., 2015).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização da matéria-prima

A Tabela 4.1 apresenta os resultados para caracterização dos resíduos *in natura* para fins de avaliação do potencial de fertilização e previsão do processo de fermentação.

Tabela 4.1- Valores dos atributos dos resíduos *in natura* antes do preparo do biofertilizante

Atributos	Esterco bovino	Cama de frango
pH	8,57 ± 0,07	7,84 ± 0,05
Umidade (%)	32,38 ± 0,42	14,67 ± 0,29
Densidade (kg/m ³)	152,50 ± 0,47	232,00 ± 0,92
Sólidos totais (g/kg)	676,15 ± 0,41	853,20 ± 0,29
COT (mg/kg)	426,00 ± 0,70	327,80 ± 3,53
CTC (cmol _c /kg)	395,07 ± 26,42	587,00 ± 38,78
NKT (mg/kg)	9.066,7 ± 3,07	16.700,00 ± 5,68
PO ₄ ⁻³ (mg/kg)	1,00 ± 0,00	1,78 ± 0,03
K ₂ O (mg/kg)	72,67 ± 1,25	66,67 ± 0,23

In natura esterco bovino e a cama de frango não apresentam grandes disparidades quanto as características avaliadas *in natura*. As concentrações de Nitrogênio, Potássio e Fósforo são bastante importantes pois esses elementos atuam como nutrientes essenciais para o desenvolvimento vegetal. Variações das concentrações encontradas em cada resíduo são esperadas para composição final dos biofertilizantes líquidos, devido às transformações decorrentes do processo de fermentação. Diferentes concentrações de minerais podem ser encontradas nos resíduos atribuídos aos seus processos de formação e composição como analisado por Fukayama (2008). Outro fator importante de se avaliar é a capacidade de troca catiônica (CTC), esse atributo nos mostra o quanto o resíduo pode trocar cátions com o meio, ou seja, quanto maior a CTC, espera-se que mais nutrientes vão se solubilizar no meio líquido.

4.1.1. Primeira Batelada

A variação de temperatura, como mostra a Figura 4.1, é uma variável bastante influente no processo fermentativo da matéria orgânica. Na literatura, encontramos valores ótimos para a biodigestão que variam de 20°C - 60°C dependendo da etapa fermentativa, porém não há consenso na determinação das etapas fermentativas na biodigestão de materiais como resíduos bovinos, resíduos de agricultura e esgoto bruto (GUNNERSON; STUCKEY, 1986).

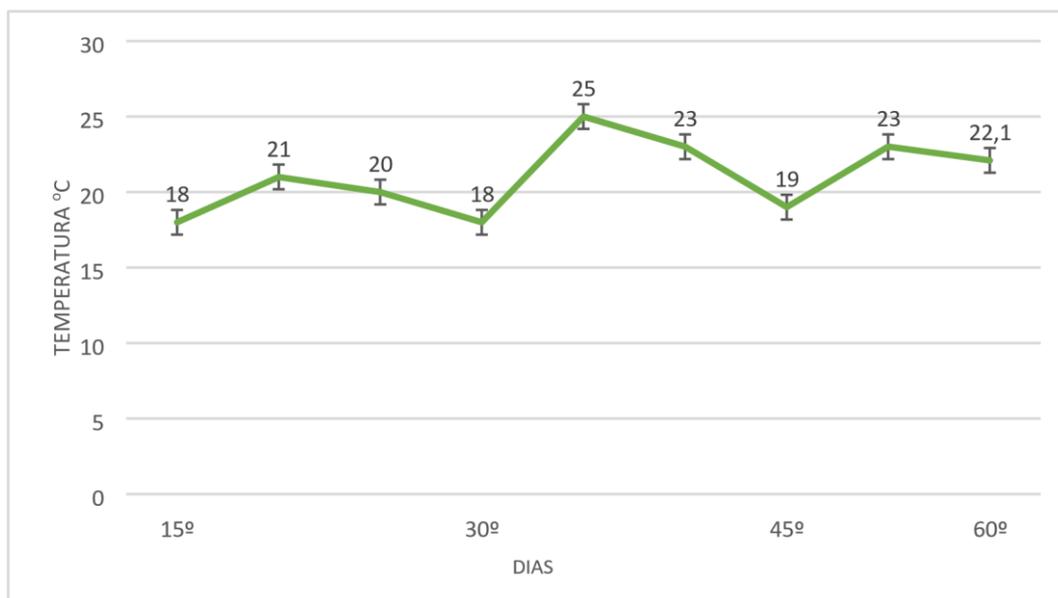


Figura 4.1- Valores de temperatura do biofertilizante ao longo do processo fermentativo

O pH (Figura 4.2) é outro fator importante no processo de biodigestão, a sua variação está associada à composição e ao preparo do composto, condição e tempo de digestão. Para o preparo de biofertilizantes objetiva-se atingir valores de pH próximos a neutralidade (Tabela 4.2), pois são favoráveis tanto ao metabolismo dos microrganismos digestores de matéria orgânica (GUNNERSON; STUCKEY, 1986), quanto às características finais esperadas no produto.

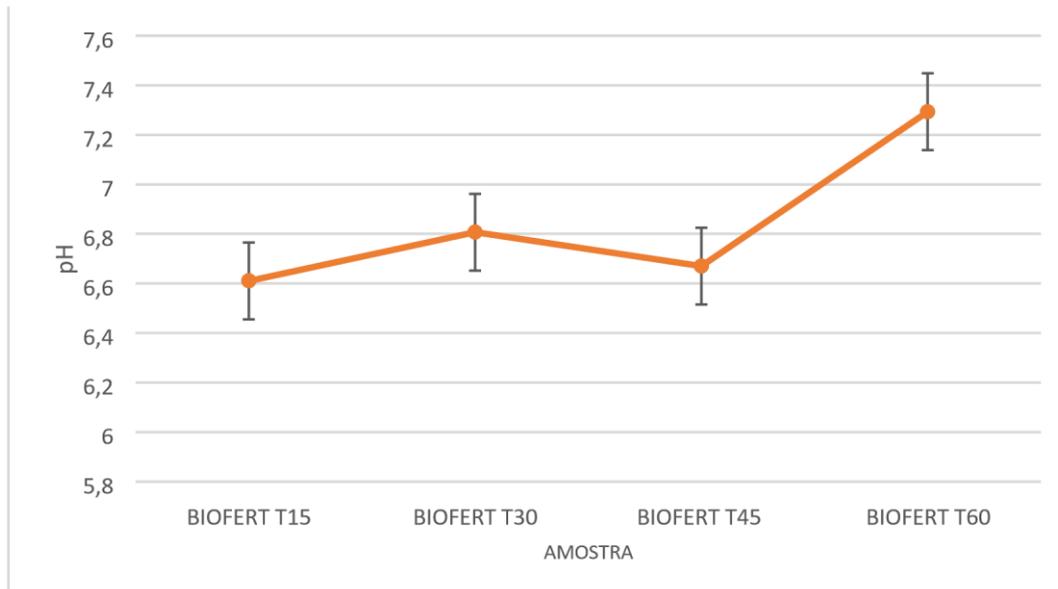


Figura 4.2- Valores de pH determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação

Tabela 4.2-Valores das médias e dos desvios padrão para potencial hidrogeniônico

	BIOFERT T15	BIOFERT T30	BIOFERT T45	BIOFERT T60
pH	6,61 ± 0,01	6,81 ± 0,05	6,67 ± 0,30	7,29 ± 0,02

4.1.2. Ácido Lático

A determinação de ácido láctico é um indicativo da evolução do processo fermentativo e maturidade do biofertilizante líquido (Figura 4.3). Ao longo do processo de transformação de massa que ocorre na biodigestão os agentes fermentadores (microbiota efetiva) atingem, após uma fase de crescimento exponencial, uma fase estacionária onde ocorre a produção de metabólitos secundários como o ácido láctico, indicando declínio da fermentação (MEDEIROS; WANDERLEY, 2003).

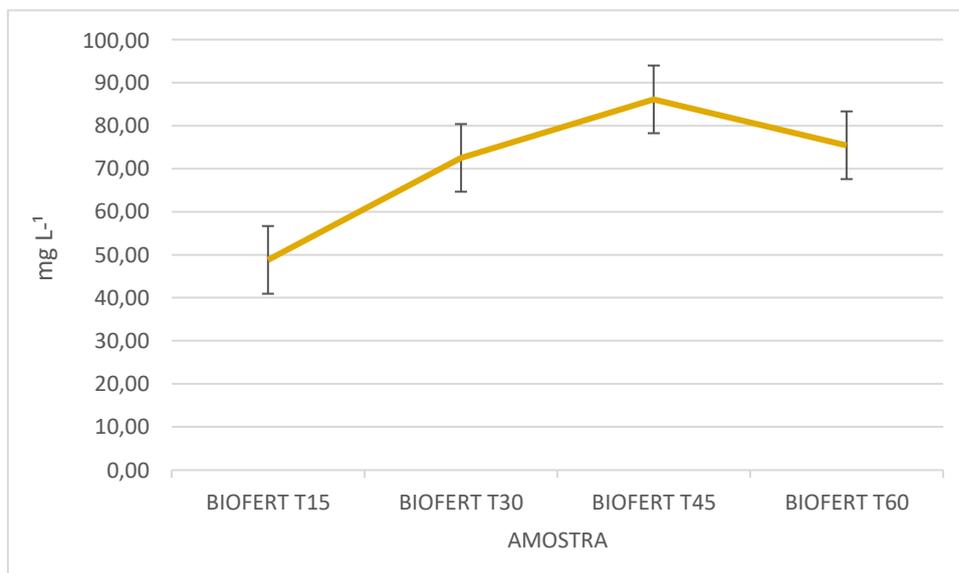


Figura 4.3-Valores médios para concentração de ácido láctico, em mg L⁻¹, determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERT T45, BIOFERT T60)

Tabela 4.3- Valores das médias e dos desvios padrão para concentração de ácido láctico, em mg L⁻¹, determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERT T45, BIOFERT T60)

	BIOFERT T15	BIOFERT T30	BIOFERT T45	BIOFERT T60
Ac. Láctico	48,83 ± 3,64	72,50 ± 15,41	86,10 ± 9,62	75,43 ± 2,65

Durante o processo de fermentação o biofertilizante apresenta maiores concentrações de ácido láctico aos 45 dias do processo fermentativo (Tabela 4.3).

4.1.3. Condutividade elétrica e índice salino

Condutividade elétrica e índice salino (Figura 4.4 Figura 4.5) são dois parâmetros de fertilidade para os biofertilizantes líquidos e estão associados ao processo de disponibilidade de sais em solução durante a fermentação. Sendo essa disponibilidade de sais em solução uma grandeza diretamente proporcional a capacidade nutritiva do composto.

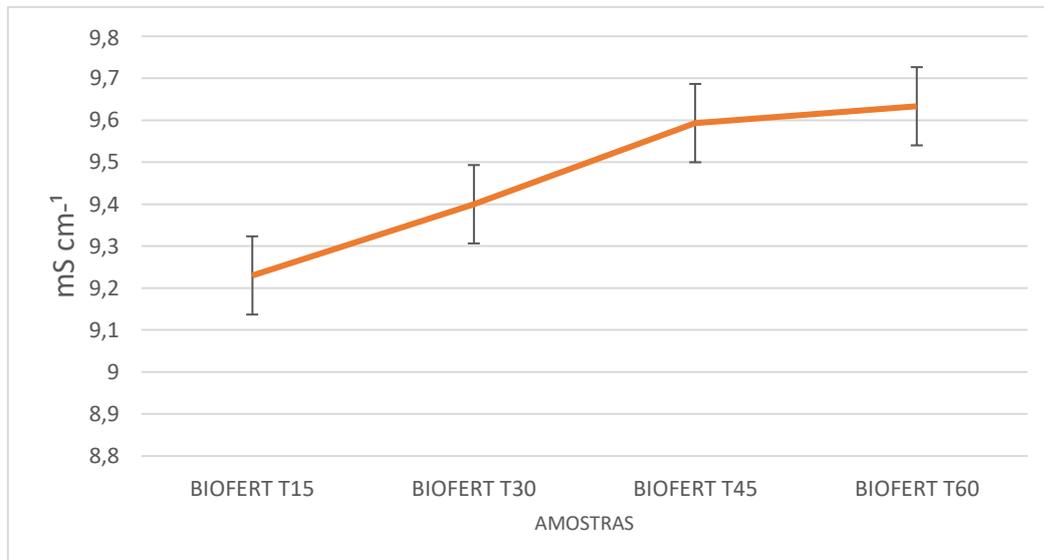


Figura 4.4- Valores para condutividade elétrica em mS cm⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERTT45, BIOFERTT60)

Tabela 4.4- Valores das médias e dos desvios padrão para condutividade elétrica em mS cm⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERT T45, BIOFERT T60).

Condutividade elétrica	BIOFERT T15	BIOFERT T30	BIOFERT T45	BIOFERT T60
		9,23 ± 0,00	9,40 ± 0,00	9,59 ± 0,10

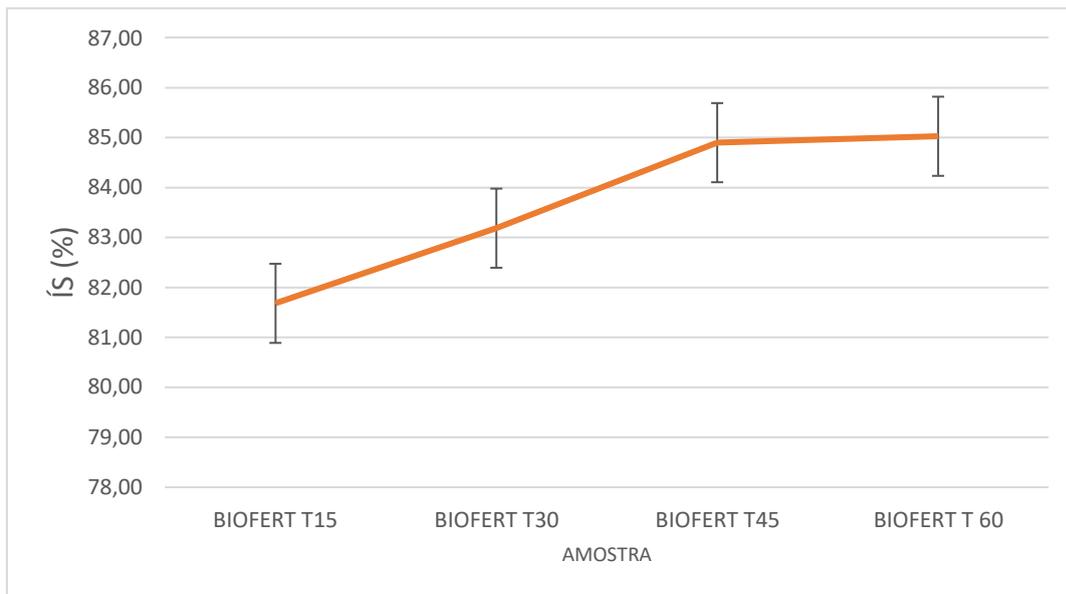


Figura 4.5-Valores para índice salino, em porcentagem, determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERT T45, BIOFERT T60)

Tabela 4.5-Valores em porcentagem (%) para índice salino. Obtidos em medição única determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERT T45, BIOFERT T60)

	BIOFERT T15	BIOFERT T30	BIOFERT T45	BIOFERT T60
Índice Salino	81,68	83,19	84,90	85,03

Durante o processo de fermentação observou-se uma tendência crescente na disponibilidade de sais em solução, como mostram os resultados nas Tabelas 4.4 e 4.5, atingindo estabilidade ao final do processo a partir dos 45 dias da fermentação.

4.1.4. Carbono Orgânico Total (COT)

A quantificação do carbono orgânico total no biofertilizante (Figura 4.6 e Tabela 4.6) é um parâmetro associado a porcentagem de matéria orgânica

compreendida na fase líquida utilizada após a digestão dos resíduos sólidos no processo de compostagem líquida. Matéria orgânica essa responsável pelo potencial fertilizante composto fermentado (RODELLA; ALCARDE, 1994)

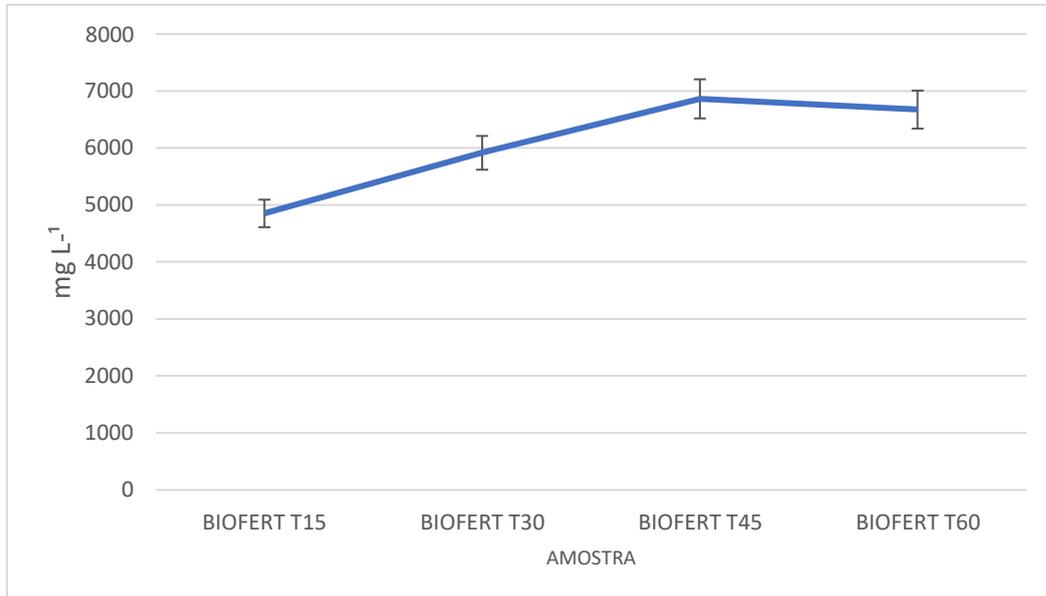


Figura 4.6-Valores médios da concentração de carbono orgânico total (COT) em mg L⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias do processo de fermentação (BIOFERT T15, BIOFERT T30, BIOFERT T45, BIOFERT T60)

Tabela 4.6-Valores das médias e dos desvios padrão da concentração de carbono orgânico total (COT) em mg L⁻¹. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

	BIOFERT T15	BIOFERT T30	BIOFERT T45	BIOFERT T60
COT	4851,75 ± 16 a	5917,5 ± 22 b	6863,3 ± 53,30 b	6673,3 ± 90 b

4.1.5. Macronutrientes

Nitrogênio (NKT), Potássio (K₂O), Fósforo (PO₄⁻³), Cálcio (CaCO₃) e Magnésio (Mg²⁺)

Macronutrientes (Figura 4.7) são os principais elementos demandados no desenvolvimento e manutenção vegetal. São constituintes de estruturas celulares, responsáveis por vias de síntese metabólicas essenciais, como respiração e fotossíntese, germinação e floração (VILLALBA et al., 2012).

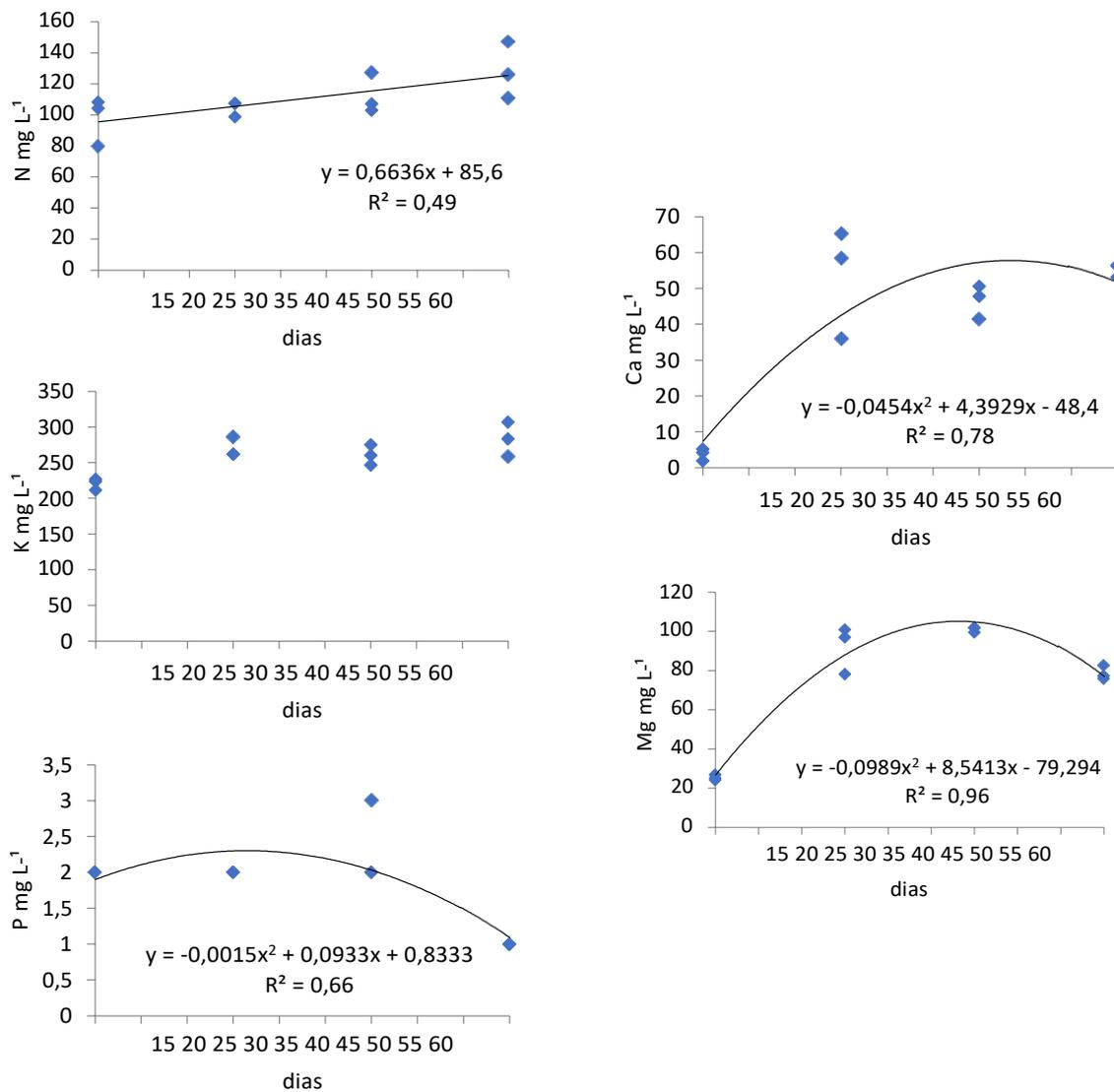


Figura 4.7- Concentração de Nitrogênio (NKT), Potássio (K₂O), Fósforo (PO₄⁻³), Cálcio (CaCO₃) e Magnésio (Mg²⁺) em mg L⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias ao longo do processo de fermentação

Tabela 4.7- Tempo ótimo para cada macronutriente avaliado Nitrogênio (NKT), Potássio (K₂O), Fósforo (PO₄⁻³), Cálcio (CaCO₃) e Magnésio (Mg²⁺).

Elemento	Máximo
NKT	60 dias
K ₂ O	-
PO ₄ ⁻³	31 dias
CaCO ₃	48 dias
Mg ²⁺	43 dias

4.1.6. Micronutrientes

Tão importantes quanto os macronutrientes (NPK) são os micronutrientes (Figura 4.8), estes nutrientes são constituintes de enzimas ou outros compostos essenciais do metabolismo vegetal, podem atuar como ativadores ou reguladores da atividade de enzimas, ou também servirem como contra-íons para cargas positivas ou negativas (VEÍGAS et al., 2013; VILLALBA et al., 2012).

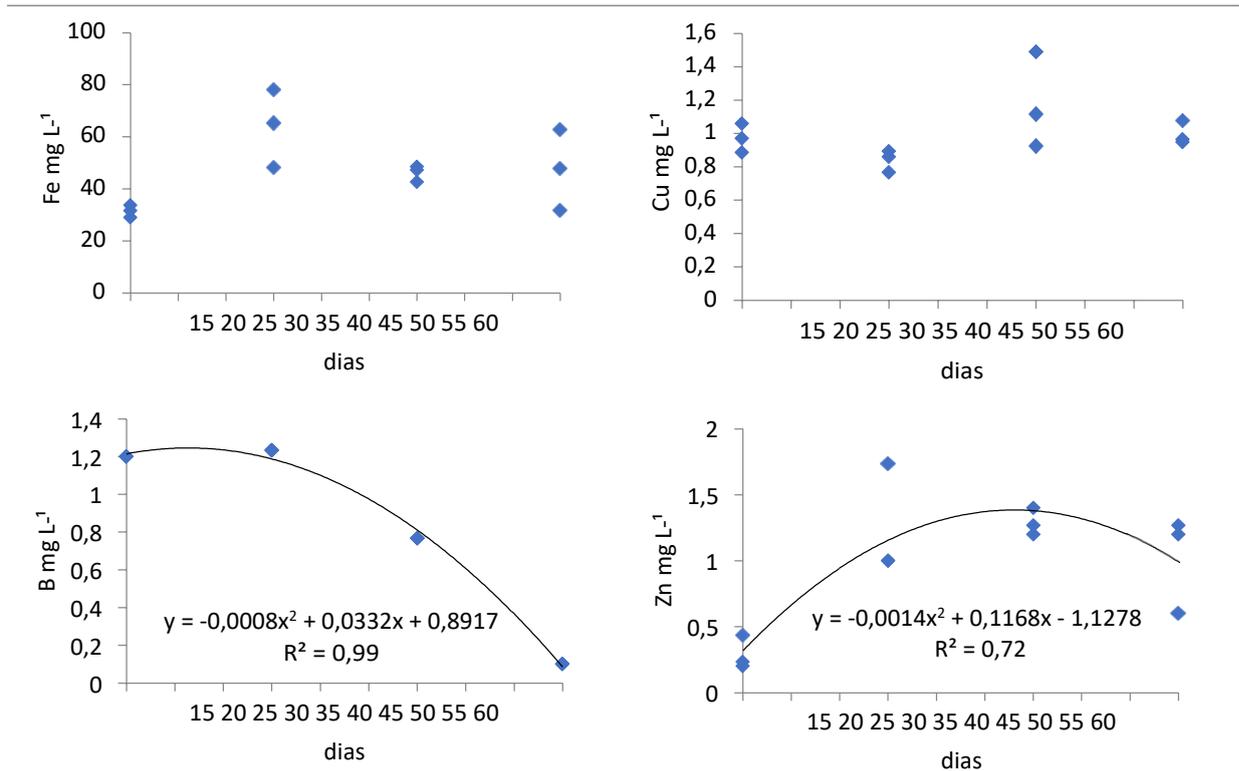


Figura 4.8- Concentração de Ferro (Fe), Cobre (Cu), Boro (B) e Zinco (Zn) em mg L⁻¹ determinados a cada intervalo de 15 dias ao longo do processo de fermentação

Tabela 4.8- Tempo ótimo para cada micronutriente avaliado Ferro (Fe), Cobre (Cu), Boro (B) e Zinco (Zn)

Elemento	Máximo
Fe	-
B	21 dias
Cu	-
Zn	42 dias

Avaliando ao longo do tempo o processo de disponibilidade da concentração de macro e micronutrientes em fase líquida do processo de fermentação dos resíduos agrícolas, apresentados nas Tabelas 4.7 e 4.8 respectivamente, e os relacionando com os resultados obtidos para os demais parâmetros de fertilidade

avaliados (pH, COT, CTC, índice salino e condutividade elétrica e ácido láctico) determinou-se o período entre o 30º e 45º dia de fermentação como o período ótimo para obtenção do biofertilizante líquido.

4.2. 2ª Batelada

Tabela 4.9-Valores dos atributos dos biofertilizantes preparados com diferentes proporções de resíduos agrícolas (esterco bovino e cama de frango)

Atributos	B25%	B50%	B75%
pH	6,70	6,80	6,98
Temperatura (°C)	25,65	25,58	25,65
Índice Salino	52,69	51,72	46,42
COT (mg L ⁻¹)	1.323,00 ± 0,30	1.492,00 ± 0,46	1.342,00 ± 1,58
Condutividade elétrica (mS cm ⁻¹)	5,97	5,86	5,26

4.2.1. Macronutrientes

Nitrogênio (NKT), Potássio (K₂O), Fósforo (PO₄⁻³), Cálcio (CaCO₃) e Magnésio (Mg²⁺)

Tabela 4.10-Valores das médias e dos desvios padrão de cada macronutriente, Nitrogênio (NKT), Potássio (K₂O), Fósforo (PO₄⁻³), Cálcio (CaCO₃) e Magnésio (Mg²⁺) em mg L⁻¹. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Elementos	Percentual de cama de frango		
	25% Média	50% Média	75% Média
NKT	450,00 ± 10,00 a	600,00 ± 13,20 a	600,00 ± 30,00 a
K ₂ O	650,20 ± 109,70 a	597,20 ± 90,10 a	567,20 ± 21,70 a
PO ₄ ⁻³	4,60 ± 0,01 a	4,95 ± 0,30 a	4,53 ± 0,09 a
CaCO ₃	83,00 ± 24,60 a	79,30 ± 19,80 a	95,00 ± 4,60 a
Mg ²⁺	290,00 ± 12,50 a	271,00 ± 5,60 ab	251,00 ± 23,80 b

4.2.2. Micronutrientes

Tabela 4.11-Valores das médias e dos desvios padrão de cada micronutriente, Cobre (Cu), Ferro (Fe) e Zinco (Zn) em mg L⁻¹.

Elementos	Percentual de cama de frango		
	25% Média	50% Média	75% Média
Cu	32,50 ± 11,50 a	43,90 ± 9,20 a	39,60 ± 3,10 a
Fe *	3,90 ± 2,50 a	45,30 ± 73,00 a	63,50 ± 51,90 a
Zn *	2,20 ± 1,00 a	2,00 ± 1,00 a	1,80 ± 0,00 a

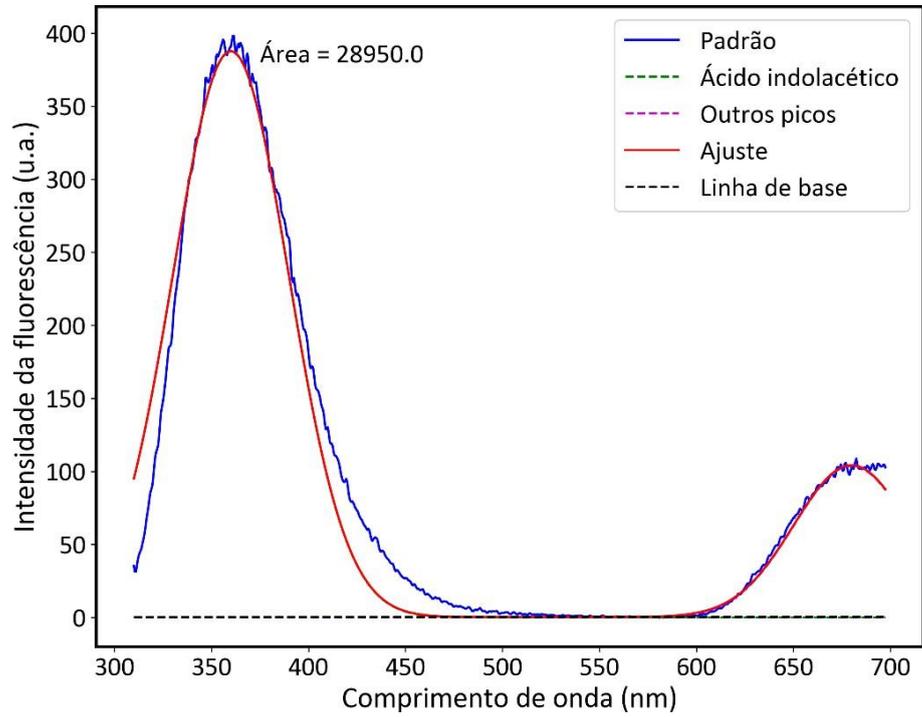
* Devido à heterogeneidade de variância foi utilizado método não paramétrico na análise

A significativa variação dos resultados encontrados nas amostras de biofertilizantes obtidos na 2ª batelada, em relação a 1ª batelada, para macro e micronutrientes (Tabela 4.10 Tabela 4.11) e para os demais parâmetros de fertilidade (Tabela 4.9) é atribuída às diferenças da composição dos resíduos utilizados, o que é suportado por Fukayama (2008) em seu trabalho avaliando as características dos resíduos aviários em diferentes utilizações.

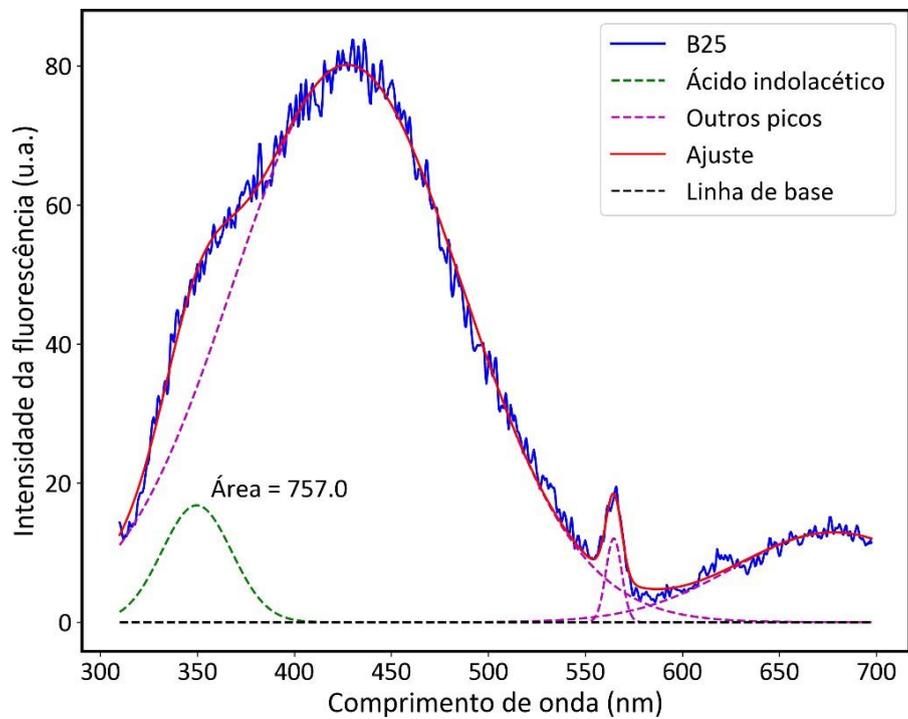
Na avaliação da relação C/N das amostras, parâmetro utilizado para avaliar a dinâmica do processo fermentativo, observa-se para as amostras B25%, B50% e B75% valores de C/N iguais a 2,94, 2,48 e 2,23 respectivamente. Nessas condições o carbono logo se esgota e a fermentação para, o nitrogênio restante se perde na forma de gás amônia (NH₃) e essa perda de nitrogênio diminui a eficiência da fermentação uma vez que a digestão anaeróbia ocorre melhor em condições específicas de disponibilidade de fontes de carbono e nitrogênio, uma relação de C/N próxima de 30 (FRY; BARBARA, 1973).

4.3. Determinação de ácido-3-Indolacético (AIA) por espectroscopia de fluorescência

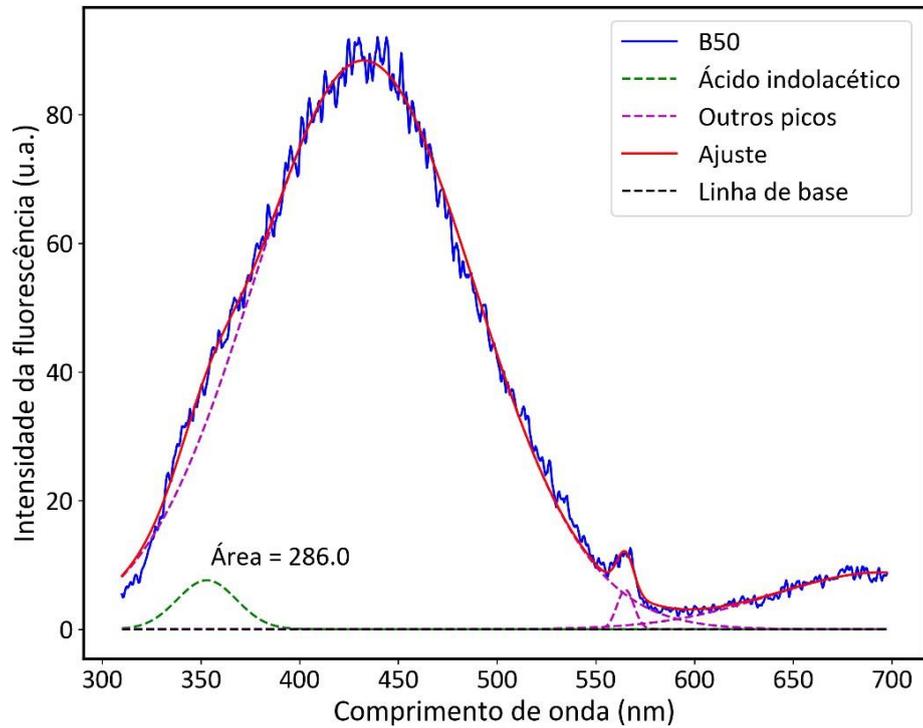
Para investigação da presença do fitormônio AIA e para determinação quantitativa da sua concentração nas amostras de biofertilizante líquido a espectroscopia de fluorescência apresentou-se como um método vantajoso, pois se dispõe de preparo da amostra simplificado e permitiu superar impeditivos analíticos como efeito matriz, comumente presente em amostras biológicas ou oriundas de matrizes complexas, em análises realizadas por cromatografia líquida de alta performance. Os perfis de espectro de emissão-excitação de fluorescência foram obtidos para amostra padrão analítico de AIA de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e para as amostras B25%, B50% e B75% diluídas 20x em água ultrapura. Dessa forma, obteve-se perfis de espectro com boa resolução em comprimento de onda de 350nm (Figura 4.9).



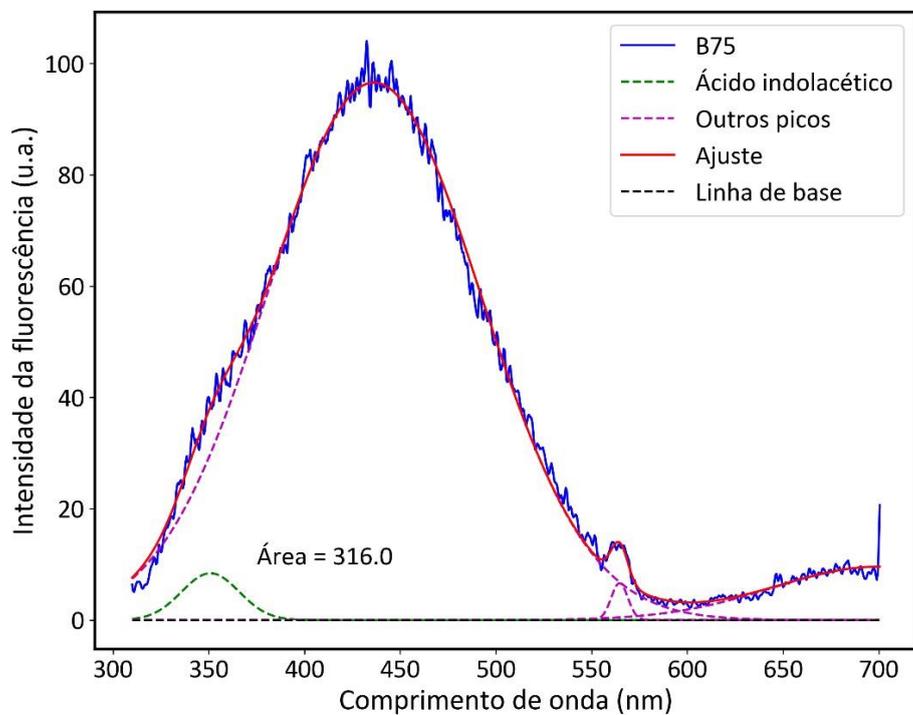
A)



B)



C)



D)

Figura 4.9. Perfis do espectro de emissão-excitação de fluorescência da análise de AIA em: A) Amostra padrão AIA concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$; B) Amostra de biofertilizante B25% em diluição de 20x; C)

Amostra de biofertilizante B50% em diluição de 20x; D) Amostra de biofertilizante B75% em diluição de 20x.

Tabela 4.12 Concentração de fitormônio AIA em amostra dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% em $\mu\text{mol L}^{-1}$ estimadas pela espectroscopia de fluorescência.

Concentração de AIA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amostras		
	B25%	B50%	B75%
	26,00	11,20	12,60

A partir do espectro obtido para a amostra de padrão do AIA determinou-se estimativas da concentração do fitormônio para cada amostra de biofertilizante. Como mostra a Tabela 4.12, a amostra B25% é a que apresenta maior teor de fitormônio, 26,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIA, mais que o dobro em comparação à B50% e B75%, onde as concentrações são de 11,20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 12,60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente. A presença do fitormônio nos biofertilizantes é uma vantagem em relação aos fertilizantes minerais que dependem da síntese e adição de compostos biosimilares ou sintéticos em suas formulações para obterem efeitos similares, o que eleva as despesas operacionais e financeiras da produção e comercialização destes fertilizantes. As baixas concentrações do fitormônio, na ordem de 10^{-6} mol L^{-1} são consideradas ótimas ao estímulo do desenvolvimento radicular vegetal.

4.4. Índice de germinação e toxicidade

Para avaliação da qualidade do biofertilizante líquido obtido determinou-se o índice de germinação. O teste permite avaliar os efeitos de diferentes concentrações dos biofertilizantes na germinação e desenvolvimento de sementes (Figura 4.10 e Figura 4.11). O teste é o de maior sensibilidade quanto aos agentes de toxicidade, níveis seguros são considerados aqueles onde o índice de germinação é acima de 55% (SILVA; VILLAS BÔAS, 2007). O Conselho Canadense do Ministério do Ambiente (CCME, 1996) indica valores para índice de germinação acima de 80% em relação ao controle para não toxicidade de extratos aquosos de compostos orgânicos para avaliação em sementes de alface.

Primeira germinação:

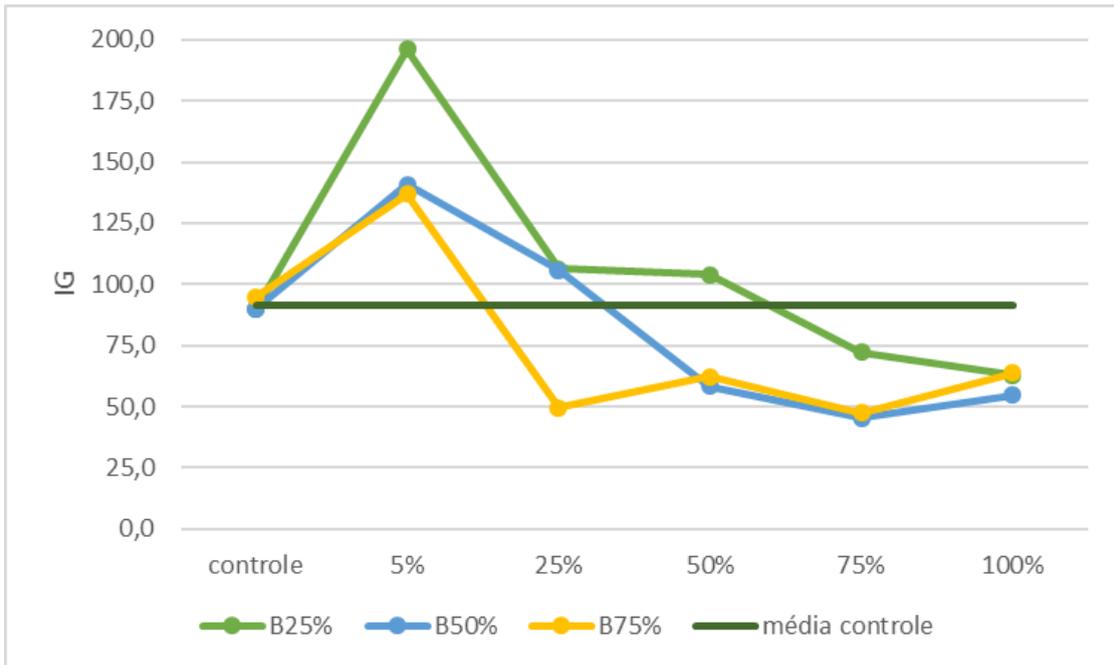


Figura 4.10-Valores para índice de germinação de sementes de *L. sativa* dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% determinados em cinco diferentes níveis de concentração (5%, 25%, 50%, 75%, 100%) e amostra controle

Tabela 4.13-Índice de germinação para sementes de alface *L. sativa* na presença dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% determinados em cinco diferentes níveis de concentração (5%, 25%, 50%, 75%, 100%) e amostra controle. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

tratamentos	Amostras		
	B25%	B50%	B75%
<i>controle</i>	90,00 a	90,00 a	95,00 a
5%	196,00 a	140,80 b	136,80 b
25%	106,30 a	105,80 a	49,70 b
50%	103,80 a	58,50 b	62,30 b
75%	72,40 a	45,30 b	47,40 b
100%	62,90 a	54,60 b	63,90 a

Segunda germinação:

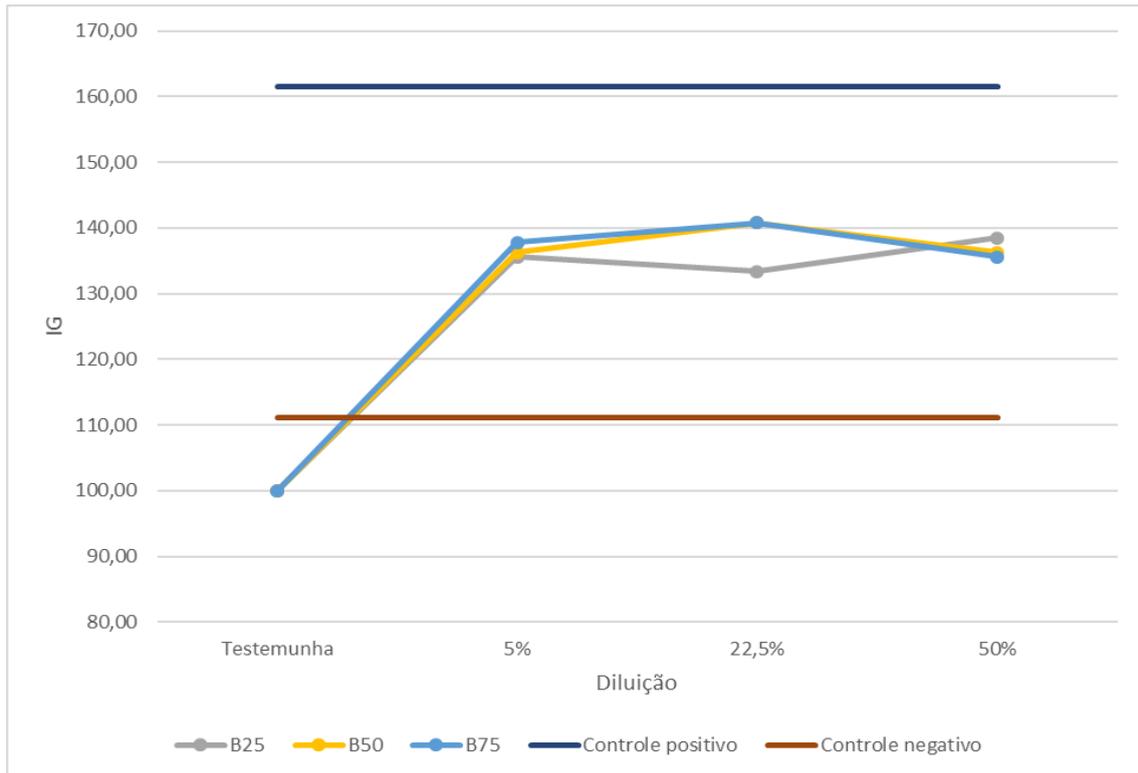


Figura 4.11 Valores para índice de germinação de sementes de *L. sativa* dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% determinados em 3 diferentes níveis de concentração (5%, 22,5%, 50%), amostra controle (testemunha), controle negativo e controle positivo

Tabela 4.14 Índice de germinação para sementes de alface *L. sativa* na presença dos biofertilizantes B25%, B50% e B75% determinados em três diferentes níveis de concentração (5%, 22,5% e 50%), amostra controle e controles positivo e negativo. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

TRATAMENTOS	AMOSTRAS		
	B25%	B50%	B75%
<i>Testemunha</i>	100,00		
<i>Controle +</i>	161,48		
<i>Controle -</i>	111,19		
5%	135,56 a	136,30 ab	137,78 b
22,5%	133,33 a	140,74 b	140,74 b
50%	138,52 a	136,30 b	135,56 b

Os valores obtidos apontam para diferenças na avaliação entre grupos no primeiro momento da germinação, alguns tratamentos aplicados à B50% (tratamentos

75% e 100%) e B75% (tratamentos 25%, 75% e 100%) resultam em um índice de germinação <55%, ou seja, apresentam toxicidade quando aplicados em concentrações superiores a 50%. Para essa avaliação destaca-se o biofertilizante B25% que apresenta um melhor desempenho geral (Tabela 4.13) para todos os tratamentos aplicados na primeira germinação.

Para as amostras avaliadas em um segundo momento do teste de germinação e toxicidade notamos que não há diferença estatística nos valores de índice de germinação obtidos e nem se observa níveis de toxicidade (IG <55%) para aos tratamentos aplicados (Tabela 4.14). Todos apresentaram vantagem em relação aos grupos controle negativo e testemunha mas nenhum atingindo ou superando os índices obtidos para o grupo positivo tratado com o fertilizante misto HydroFert® como vemos na Figura 4.11.

A avaliação qualitativa das condições fisiológicas da germinação das sementes também indica o melhor desempenho dos tratamentos menos concentrados (5% e 25%) para a primeira germinação, e não apresenta significativa distinção no segundo momento de germinação. Determinou-se então o melhor desempenho de aplicação para as diluições iguais ou abaixo de 50% do biofertilizante, valores estes já previstos na literatura como de melhor eficácia (SANTOS; AKIBA, 1996; TANAKA et al., 2003).

Todas as placas de controle apresentaram contaminação fúngica (Figura 4.12), o que não ocorreu nas placas com aplicação dos biofertilizantes, independentemente do nível de tratamento aplicado, o que chama a atenção para possível ação fungicida/fungistática e bactericida/bacteristática dos biofertilizantes.

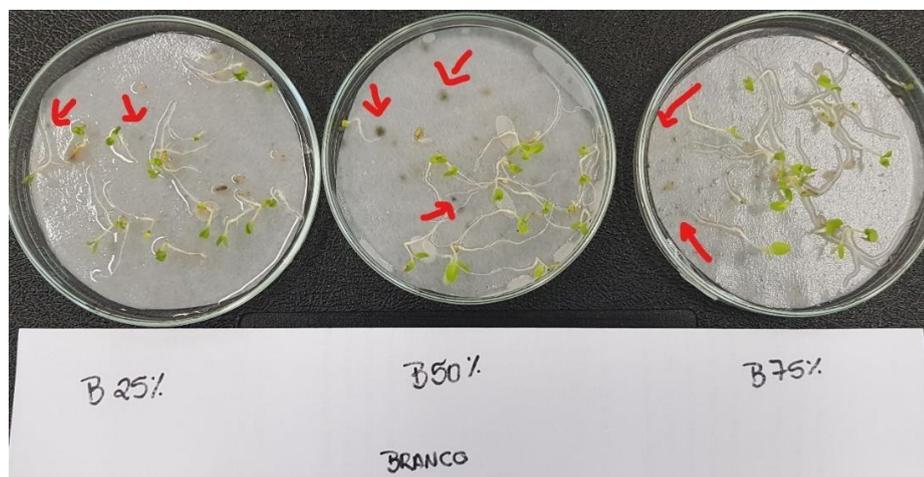


Figura 4.12-Placas Petri com amostras controle indicando o desenvolvimento de colônias fúngicas durante teste de germinação e toxicidade.

5. CONCLUSÕES

Avaliando o desenvolvimento do biofertilizante líquido durante todo o processo de 60 dias de fermentação conclui-se que todos os parâmetros de fertilidade aqui considerados (condutividade e índice salino, carbono orgânico total, pH, ácido láctico, COT e CTC) atingem sua maior disponibilidade e/ou concentração na fase líquida da mistura entre o período de 30 dias ao de 45 dias do processo de fermentação, aqui denominados T30 e T45, posteriormente atingindo um platô e/ou declínio. Tal tendência também é observada na avaliação dos macro (NPK) e micro (Mg,Ca,B,Fe,Zn,Cu) nutrientes, e como objetivo da primeira batelada pode-se determinar o período ótimo de preparo do biofertilizante o intervalo de 30 a 45 dias de fermentação. O modo de preparo proposto a partir da mistura de apenas dois resíduos que são produzidos em abundância pelo sistema agrícola nacional permite facilitar e estimular a produção do biofertilizante líquido.

Dada a comparação entre o biofertilizante obtido na primeira batelada e os biofertilizantes obtidos na segunda batelada entende-se que mesmo os resíduos utilizados em cada processo tendo a mesma origem, a sua obtenção em diferentes períodos do ano, atribuem a eles características distintas que resultam nas variações quantitativas observadas nas análises realizadas para um mesmo parâmetro nas diferentes bateladas produzidas. E que para as amostras obtidas na segunda batelada, pouco ou nada, se diferenciam estatisticamente entre si. Impossibilitando prever se a variação na composição da proporção de resíduo agrícola de cada mistura (B25%, B50% e B75%) pode promover algum efeito não nulo no produto final.

Todos os biofertilizantes apresentam atividade bioativa associada a presença do fitormônio ácido-3-indolacético (AIA), determinada por espectrometria de fluorescência. Além da avaliação fitormonal de biofertilizantes ser uma forma de assegurar a correta aplicação e confiança no uso alimentar (BOMFIM, 2016), atribui-se a vantagem da bioatividade pela presença do fitormônio em faixa de concentração de $11\text{-}26 \mu\text{mol L}^{-1}$, valores experimentalmente avaliados como ótimos para o estímulo do desenvolvimento radicular. Sendo a elevada concentração do fitormônio, maior que $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, inibitória ao crescimento das raízes. E concentrações menores que $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ineficazes ao estímulo do desenvolvimento de radicular (TAIZ; ZEIGER, 2004). Atribui-se os melhores índices de germinação em relação ao controle negativo e as testemunhas a presença do fitormônio na composição dos biofertilizantes.

A amostra de biofertilizante denominada B25%, na primeira avaliação de germinação e de toxicidade, indicia um melhor desempenho em faixas de diluição mais baixas, de 5% a 25% de diluição, na avaliação. E também menor toxicidade em todos os tratamentos avaliados. Porém, não há diferença significativa nos resultados do segundo teste de germinação, onde nota-se um desempenho superior dos biofertilizantes em comparação as amostras de controles negativo e testemunha, tratados respectivamente com solução salina de cloreto de sódio (NaCl) a 60mmol L^{-1} e água destilada. Para melhor compreensão dos possíveis efeitos adversos dos biofertilizantes se faz necessária avaliações biométricas do desenvolvimento vegetal durante aplicação em alguma cultura teste. Por meio dos testes de germinação também foi possível indiciar a ação antifúngica e/ou fungistática, bactericida e/ou bacteristática dos biofertilizantes líquidos. Efeitos benéficos são atribuídos à presença de células de microrganismos latentes e de seus metabólitos nos biofertilizantes com relação ao papel antagônico frente a doenças e patologias vegetais.

O desenvolvimento de soluções alternativas ao uso intensivo de fertilizantes minerais, ou, aos demais insumos agroquímicos, é uma das estratégias que possibilitam viabilizar o desenvolvimento de boas práticas agrícolas, garantindo maior produtividade no campo e menor impacto ambiental, além de ser menos agressiva à saúde humana. Dessa forma, o biofertilizante líquido proposto neste trabalho é capaz de suprir as demandas físico-químicas das culturas vegetais e do solo ao mesmo tempo que atende às premissas da sustentabilidade e da economia circular.

REFERÊNCIAS

ABEL, S.; OELLER, P. W.; THEOLOGIS, A. Early auxin-induced genes encode short-lived nuclear proteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 1, p. 326–330, jan. 1994.

AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of Azotobacter and Fluorescent Pseudomonas in the Presence and Absence of Tryptophan. **Turkish Journal of Biology**, v. 29, p. 29–34, 1 jan. 2005.

ALBERTINI, J. **PRODUÇÃO DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO IN VITRO POR *Torulaspota globosa***. [s.l: s.n.].

ALFA, M. et al. Assessment of biofertilizer quality and health implications of anaerobic digestion effluent of cow dung and chicken droppings. **Renewable Energy**, v. 63, p. 681–686, 1 mar. 2014.

ARAÚJO, E. N. DE. **RENDIMENTO DO PIMENTÃO (*Capsicum annum* L.) ADUBADO COM ESTERCO BOVINO E BIOFERTILIZANTE**. [s.l.] Universidade Federal da Paraíba, 2005.

ARAÚJO, E. N. et al. Produção do pimentão adubado com esterco bovino e biofertilizante. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 5, p. 466–470, 2007.

ARTECA, R. . Historical Aspects and Fundamental Terms and Concepts. In: **Plant Growth Substances**. Boston, MA: Springer, 1996.

ASGHAR, H. N. et al. Response of radish to integrated use of nitrogen fertilizer and recycled organic waste. **Pak. J. Bot**, v. 38, n. 3, p. 691–700, 2006.

AVILA, V. S. DE; MAZZUCO, H.; FIGUEIREDO, E. A. P. Cama de aviário: materiais, reutilização, uso como alimento e fertilizante. **EMBRAPA-CNPSA**, 1992.

AZCÓN-BIETO, J.; TALÓN, M. **Fundamentos de fisiología vegetal**. 2ª ed. [s.l.] PUBLICACIONES I EDICIONES DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA, 2003.

AZEVEDO, J. L. et al. **Biotecnologia microbiana ambiental**. 1. ed. Maringá - PR: [s.n.].

BALDISSERA, I. T.; SCHERER, E. E. Correção da acidez do solo e

adubação da cultura do feijão. **A cultura do feijão em Santa Catarina**, 1992.

BAREA, J. M.; NAVARRO, E.; MONTOYA, E. Production of plant growth regulators by rhizosphere phosphate-solubilizing bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 40, n. 2, p. 129–134, 1976.

BHARDWAJ, D. et al. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. **Microbial cell factories**, v. 13, p. 66, 8 maio 2014.

BLAISE, D. et al. Effects of farmyard manure and fertilizers on yield, fibre quality and nutrient balance of rainfed cotton (*Gossypium hirsutum*). **Bioresource technology**, v. 96, n. 3, p. 345–349, fev. 2005.

BOMFIM, C. A. **Biofertilizante Hortbio®: Características Microbiológicas E Efeito Na Qualidade Da Alfaca**. [s.l: s.n.].

BOSE, A. et al. Keratinolytic Protease Production by *Bacillus amyloliquefaciens* 6B Using Feather Meal as Substrate and Application of Feather Hydrolysate as Organic Nitrogen Input for Agricultural Soil. **Waste and Biomass Valorization**, v. 5, n. 4, p. 595–605, 2014.

BRADY, N. C. Matéria orgânica dos solos minerais. **Natureza e propriedades dos solos**, p. 337- citation_lastpage, 1983.

BRANDELLI, A.; DAROIT, D. J.; RIFFEL, A. Biochemical features of microbial keratinases and their production and applications. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 6, p. 1735–1750, fev. 2010.

BRASIL. **DECRETO Nº 4.954, DE 14 DE JANEIRO DE 2004. Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas destinados à agricultura**. [s.l: s.n.].

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes**. [s.l: s.n.].

BURG, S. P.; BURG, E. A. The interaction between auxin and ethylene and its role in plant growth. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 55, n. 2, p. 262–269, fev. 1966.

CAMARGO, L. DE S. **As hortaliças e seu cultivo**. [s.l.] Fundação Cargill, 1992.

CCME. **Canadian C. Enviroment Ministerial. Guidelines for Compost Quality**. Toronto: [s.n.].

CHIMENEZ, T. A. **Espectroscopia de Fluorescência como Ferramenta para Caracterização de Biodiesel e Monitoramento de Processos de Degradação**. [s.l: s.n.].

CORRÊA, J. C.; MIELE, M. A cama de aves e os aspectos agrônômicos, ambientais e econômicos. **EMBRAPA, Documento 149**, p. 127–153, dez. 2011.

DEMASON, D. A. Auxin-cytokinin and auxin-gibberellin interactions during morphogenesis of the compound leaves of pea (*Pisum sativum*). **Planta**, v. 222, n. 1, p. 151–166, 2005.

DEMÉTRIO, R. Efeitos da aplicacao de materia organica sobre a biomassa-C microbianado solo e o crescimento e absorcao de nitrogenio em milho (*Zea mays* L.). 1988.

DUCA, D. et al. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid Indole-3-acetic acid in plant – microbe interactions. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 106, n. Antonie van Leeuwenhoek 80th Anniversary, p. 85–125, 2014.

DVORNIKOVA, T. P.; SKRIABIN, G. K.; SUVOROV, N. N. Enzymatic transformation of tryptamine by fungi. **Mikrobiologija**, v. 39, n. 1, p. 42, 1970.

EKLÖF, S. et al. Transgenic tobacco plants co-expressing *Agrobacterium* *iaa* and *ipt* genes have wild-type hormone levels but display both auxin- and cytokinin-overproducing phenotypes. **The Plant journal : for cell and molecular biology**, v. 23, n. 2, p. 279–284, jul. 2000.

ERNANI, P.; GIANELLO, C. Diminuição do alumínio trocável do solo pela incorporação de esterco de bovinos e camas de aviário;[Reducción del aluminio intercambiable del suelo mediante la incorporación de estiércol bovino y de camas de aves de corral].[Reduction of exchangeable soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo. Maio-Ago**, v. 7, n. 2, p. 161–165, 1983.

FERNANDES, M. . Cultivo protegido do tomateiro, sob manejo orgânico, na

região metropolitana do estado do Rio de Janeiro. **Série Agroecologia**, v. 2, p. 1–2, 2000.

FRY, L. J.; BARBARA, S. Methane Digesters For Fuel Gas and Fertilizer. 1973.

FUKAYAMA, E. **Características quantitativas e qualitativas da cama de frango sob diferentes reutilizações: efeitos na produção de biogás e biofertilizante**. [s.l: s.n.].

GARG, P.; GUPTA, A.; SATY, S. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. **Bioresource. Technology**, v. 97, p. 391–395, 2006.

GUNNERSON, C. G.; STUCKEY, D. C. **Anaerobic digestion : principles and practices for biogas systems**. Washington, D.C., U.S.A: The World Bank, 1986.

HAZELL, P.; WOOD, S. Drivers of change in global agriculture. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 363, n. 1491, p. 495–515, 12 fev. 2008.

HOLANDA, J. S. DE. Esterco de curral: composição, preservação e adubação. **Natal: EMPARN**, n. (EMPARN. Documentos 17)., p. 69, 1990.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. [s.l.] Agronômica Ceres, 1985.

KIST, L.; MOUTAQI, S.; MACHADO, Ê. Cleaner production in the management of water use at a poultry slaughterhouse of Vale do Taquari, Brazil: a case study. **Journal of Cleaner Production**, v. 17, p. 1200–1205, 1 set. 2009.

KÖGL, F.; HAAGEN-SMIT, A. J. Über Die Chemie Des Wuchsstoffs. **Koninklijke Akademie van Wetenschappen Amsterdam Proceedings of the Section of Sciences**, v. 34, n. 1, p. 1411–1416, 1931.

KONZEN, E. A. et al. **Manejo do esterco líquido de suínos e sua utilização na adubação do milho**. Sete Lagoas- MT: [s.n.].

LANDGRAF, M. D.; MESSIAS, R. A.; REZENDE, M. O. O. **A importância ambiental da vermicompostagem: vantagens e aplicações**. São Carlos: [s.n.].

LI, Y. N. et al. Determination of Indole-3-Acetic Acid in Soil Using Excitation-

Emission Matrix Fluorescence with Trilinear Decomposition-based Calibration Methods. **Analytical Sciences**, v. 25, n. 1, p. 83–88, 2009.

LOPER, J. E.; SCHROTH, M. N. Influence of bacterial sources of indol-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. **Phytopathology**, v. 7, p. 386–389, 1986.

LUND, Z. F.; DOSS, B. D. Residual Effects of Dairy Cattle Manure on Plant Growth and Soil Properties 1. **Agronomy Journal**, v. 72, n. 1, p. 123–130, 1980.

MACHADO, D. C. et al. Microbiological quality of organic vegetables produced in soil treated with different types of manure and mineral fertilizer. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 538–544, 2006.

MARCHIORO, L. E. T. **PRODUÇÃO DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO E DERIVADOS POR BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO**. [s.l.: s.n.].

MATSUKAWA, E. et al. Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. **Actinomycetologica**, v. 21, n. 1, p. 32–39, 2007.

MEDEIROS, D. C. et al. Produção de mudas de alface com biofertilizantes e substratos. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 433–436, 2007.

MEDEIROS, M. B. DE; LOPES, J. DE S. Biofertilizantes líquidos e sustentabilidade agrícola. **Bahia Agrícola**, v. 7, p. 24–26, 2006.

MEDEIROS, M. B. DE; WANDERLEY, P. A. Biofertilizantes Líquidos: Processo trofobiótico para proteção de plantas em cultivos orgânicos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 31, p. 38–44, 2003.

MENDES, L. A. **Avaliação das transformações químicas e do potencial agrônomo de biofertilizantes líquidos produzidos a partir de resíduos agroindustriais para o manejo sustentável em agricultura orgânica**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2017.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E. A. 27 DE JULHO DE 2007. IN 28 - MAPA: Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos. In: [s.l.: s.n.].

MORGAN, P. W.; HALL, W. C. Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid on

the Production of Ethylene by Cotton and Grain Sorghum. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 420–427, 1962.

NAGANANDA, G. S. et al. In vitro Studies on the Effects of Biofertilizers (Azotobacter and Rhizobium) on Seed Germination and Development of *Trigonella foenum-graecum* L. using a Novel Glass Marble containing Liquid Medium. **International Journal of Botany**, v. 6, p. 394–403, 1 abr. 2010.

NORDSTRÖM, A. et al. Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin-cytokinin-regulated development. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 21, p. 8039–8044, maio 2004.

NUNES, R. R. et al. Vermicomposted tannery wastes in the organic cultivation of sweet pepper: growth, nutritive value and production. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 7, n. 4, p. 313–324, 2018.

OWEN, D. et al. Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorous acquisition. **Applied Soil Ecology**, v. 86, 23 ago. 2014.

PAUL, T. et al. Valorization of Chicken Feather Waste for Concomitant Production of Keratinase, Oligopeptides and Essential Amino Acids Under Submerged Fermentation by *Paenibacillus woosongensis* TKB2. **Waste and Biomass Valorization**, v. 5, n. 4, p. 575–584, 2014.

PEREIRA, M. A. B. et al. Uso de biofertilizante foliar em adubação de cobertura da alface cv. Verônica. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, 2010.

PINDI, P. K. Liquid Microbial Consortium for Soil Health. **Journal of Biofertilizers & Biopesticides**, v. 03, n. 03, 2012.

PINHEIRO, S.; BARRETO, S. . Agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes. p. 273, 1996.

PINHEIRO, S.; BARRETO, S. B. **MB-4 agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes**. Arapiraca: [s.n.].

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo : a agricultura em regiões**

tropicais. 9. ed. 3. ed. São Paulo, SP: Nobel, 1990.

PRUSTY, R.; GRISAFI, P.; FINK, G. R. The plant hormone indoleacetic acid induces invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 12, p. 4153–4157, 2004.

RAIJ, B. V. et al. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. **Embrapa Pecuária Sudeste**, v. 2, n. (IAC. Boletim Técnico, 100), p. 285, 1996.

RODELLA, A. A.; ALCARDE, J. C. Avaliação de materiais orgânicos empregados como fertilizantes. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 3, p. 556–562, 1994.

ROSS, J. J. et al. Evidence that auxin promotes gibberellin A1 biosynthesis in pea. **The Plant journal : for cell and molecular biology**, v. 21, n. 6, p. 547–552, mar. 2000.

SAHOO, R.; BHARDWAJ, D.; TUTEJA, N. Biofertilizers: A Sustainable Eco-Friendly Agricultural Approach to Crop Improvement. In: **Plant Acclimation to Environmental Stress**. [s.l: s.n.]. p. 403–432.

SALAZAR, F. J. et al. Nitrogen budgets for three cropping systems fertilised with cattle manure. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 2, p. 235–245, 2005.

SANTOS, A. C. V. A. **ação múltipla do biofertilizante líquido como ferti fitoprotetor em lavouras comerciais**. ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS: CONTROLE ECOLÓGICO DE PRAGAS E DOENÇAS. **Anais...2001**

SANTOS, A. C. V. DOS; AKIBA, F. Biofertilizante líquido: uso correto na agricultura alternativa. **Rio de Janeiro: Imprensa Universitária**, p. 35, 1996.

SANTOS, P. R. DOS et al. Germinação, vigor e crescimento de cultivares de feijoeiro em soluções salinas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, n. suppl, p. 882–889, 2009.

SARWAR, M.; KREMER, R. J. Enhanced suppression of plant growth through production of L- tryptophan-derived compounds by deleterious rhizobacteria. Enhanced suppression of plant growth through production of L-tryptophan-derived compounds by deleterious rhizobacteria. **Plant and Soil**, v. 172, p. 261–269, 1995.

SEVILLA-PEREA, A.; MINGORANCE, M. Field approach to mining-dump revegetation by application of sewage sludge co-compost and a commercial biofertilizer. **Journal of environmental management**, v. 158, 13 maio 2015.

SILVA, A. F. et al. Preparo e Uso de Biofertilizantes Líquidos. **Comunicado Técnico da Embrapa Semi-Árido**, v. único, p. 130, 2007.

SILVA, F. A. DE M.; VILLAS BÔAS, R. L. Teste de germinação como indicador de maturação em composto orgânico. Revista Energia na Agricultura. **Revista Energia na Agricultura**, v.22, n.2, p. 63–73, 2007.

SILVA, F. N.; MAIA, S. S. S.; OLIVEIRA, DE M. Doses de matéria orgânica na produtividade da cultura da alface em solo eutrófico na região de Mossoró, RN. **Horticultura Brasileira**, v. 18, n. sSuplemento, 2000.

SKOOG, F.; MILLER, C. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. **Symp Soc Exp Biol.**, v. 11, p. 118–130, 1957.

SOUZA, M. L. DE. Utilização de microrganismos na agricultura. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 21, p. 28–31, 2001.

SUTTLE, J. C. Effect of Ethylene Treatment on Polar IAA Transport, Net IAA Uptake and Specific Binding of N-1-Naphthylphthalamic Acid in Tissues and Microsomes Isolated from Etiolated Pea Epicotyls. **Plant physiology**, v. 88, n. 3, p. 795–799, nov. 1988.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. [s.l.] Porto Alegre: Artmed, 2004., 2004.

TANAKA, M. T. et al. Efeito da aplicação foliar de biofertilizantes, bioestimulantes e micronutrientes na cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Acta Science Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 315–321, 2003.

TEDESCO, M. J. et al. Resíduos orgânicos no solo e impactos no ambiente. In: **SANTOS, G.A. & CAMARGO, F.A.O., eds. FUNDAMENTOS da matéria orgânica do solo**. [s.l.: s.n.]. p. 159–192.

THIMANN, K. V.; KAUFMAN, P. Hormone Action in the Whole Life of Plants. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 1, n. 105, p. 75, 1977.

TIBAU, A. O. **Matéria orgânica e fertilidade do solo**. 3. ed. ed. São Paulo, SP: Nobel, 1983.

TSAVKELOVA, E. A. et al. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 117–126, 2006.

VASSILEV, N. et al. Unexploited potential of some biotechnological techniques for biofertilizer production and formulation. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 12, p. 4983–4996, jun. 2015.

VASSILEV, N. et al. Production of a potential liquid plant bio-stimulant by immobilized *Piriformospora indica* in repeated-batch fermentation process. **AMB Express**, v. 7, p. 106, 1 dez. 2017.

VEÍGAS, I. DE J. M. et al. Composição mineral e sintomas visuais de deficiências de nutrientes em plantas de pimenta-longa Mineral composition and visual symptoms of nutrients deficiencies in long. **Acta Amazonica**, v. 43, n. 1, p. 43–50, 2013.

VERONKA, D. A. et al. Efeito do biofertilizante no crescimento e na produção de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 2, p. 1161–1165, 2008.

VESSEY, J. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. **Plant and Soil**, v. 255, p. 571–586, 1 ago. 2003.

VILLALBA, J. J. et al. **Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas**. [s.l: s.n.]. v. 91

WENT, F. On growth-accelerating substances in the coleoptile of *Avena sativa*. **Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen**, v. 30, n. 1925, p. 10–19, 1926.

XIANG, W. Mutual Information Flow between Beneficial Microorganisms and the Roots of Host Plants Determined the Bio-Functions of Biofertilizers. **American Journal of Plant Sciences**, v. 03, p. 1115–1120, 1 jan. 2012.

ZOZOLOTTO, T. C. et al. Validação de metodologia para determinação do extrato húmico total em matrizes sólidas. **Revista Analytica**, p. 58–67, out. 2012.

