

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E GESTÃO VITIVINÍCOLA**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM BIOTECNOLOGIA E GESTÃO VITIVINÍCOLA**

**Leandro Venturin**

**Avaliação de diferentes complexos biológicos no controle de pérola da terra  
(*Eurhizococcus brasiliensis* (Wille, 1922)) na cultura de *Vitis vinifera* -  
cultivar chardonnay**

CAXIAS DO SUL 2024

**Leandro Venturin**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Universidade de Caxias do Sul  
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

V469a Venturin, Leandro

Avaliação de diferentes complexos biológicos no controle de pérola da terra (*Eurhizococcus brasiliensis* (Wille, 1922)) na cultura de *Vitis vinifera* - cultivar chardonnay [recurso eletrônico] / Leandro Venturin. – 2023.

Dados eletrônicos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2023.

Orientação: Valdirene Camatti Sartori.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Agricultura orgânica. 2. Pragas - Controle. 3. Uvas - Cultivo. 4. Adubos e fertilizantes. I. Sartori, Valdirene Camatti, orient. II. Título.

CDU 2. ed.: 631.147

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)  
Carolina Machado Quadros - CRB 10/2236

Leandro Venturin

**Avaliação de diferentes complexos biológicos no controle de pérola da terra  
(*Eurhizococcus brasiliensis* (Wille, 1922)) na cultura de *Vitis vinifera* -  
cultivar chardonnay**

Dissertação apresentada à  
Universidade de Caxias do Sul –  
Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia e Gestão Vitivinícola para  
obtenção do Título de Mestre em  
Biotecnologia e Gestão Vitivinícola.

**Área de Concentração:** Viticultura e  
Meio Ambiente

**Orientador(a):** Prof.<sup>a</sup> Dra. Valdirene  
Camatti Sartori

**Aprovado em 28/11/2023**

**Banca Examinadora**

Orientador:  
Prof. Dra. Valdirene Camatti Sartori (UCS)

Avaliadora:  
Prof. Dr. Marcus André Kurtz Almança (IFRS)

Avaliadora:  
Prof. Dr. Aldo José Pinheiro Dillon (UCS)

Avaliadora:  
Prof. Dr. Fernando Joel Scariot (UCS)

## RESUMO

Um dos desafios da agricultura atual é a produção de alimentos com menor interferências junto ao sistema agrícola. A implementação de práticas agrícolas com base ecológica/regenerativas são essenciais para a obtenção de sistemas de produção saudáveis e mais resilientes. Neste sentido o entendimento sobre estratégias de controle da praga *Eurhizococcus brasiliensis* se faz necessário. O objetivo deste trabalho foi analisar o impacto de diferentes inoculantes sobre o desenvolvimento de *Vitis vinifera* da cultivar Chardonnay e avaliar a diversidade de microrganismos envolvidos na supressividade de *E. brasiliensis*. No experimento a campo foram utilizados insumos biológicos por imersão ou aplicação no berço do sistema radicular, por *Trichoderma* sp, *Metarhizium* sp, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, além de outros compostos como Hidrogel®, Compost Aid®, biofertilizante a base de sementes de mamona, Nem Out®, Microgeo®, CMM – Complexos Microbianos e seus Metabólitos, e EMN – Microrganismos Eficientes Nativos. Foi avaliada a diversidade de microrganismos cultiváveis, identificados pela análise de rDNA 16S, para bactérias e ITS para fungos ou de comunidades microbianas por metagenômica, em material oriundo de fermentados microbianos e em tratamentos de solo. Foram também avaliados comprimento de galhos, número de folhas, população de cistos da pérola da terra e plantas mortas de videira ao final de 22 meses do plantio das mudas. A partir da metodologia de análise dos microrganismos cultiváveis foi possível identificar diferentes grupos de bactérias das amostras de EMN (EM), CMM (FC), solo, SEF (Solo + CMM + EMN) e SFM (Solo + CMM + Microgeo). Os mesmos estão representados principalmente pelos filos Firmicutes, Proteobacteria, seguidos por *Mycobacterium* e Pseudomonadota dentre outros. Também foram identificados os gêneros Pseudomonas, Acinetobacter e Comamonas, representantes do Filo Proteobacteria, seguidos pelo gênero *Mycobacterium* – Filo Actinomycetota e Kluyvera Filo Pseudomonadota. Com relação ao grupo dos fungos a prevalência ocorreu com o gênero Mucor identificado na maioria dos tratamentos amostrados. Na análise do sequenciamento genético foi verificado maior quantidade de fungos benéficos no tratamento T5, o que explica a atividade supressiva e o maior comprimento de ramos, número de folhas e redução de cistos da pérola da terra ocorreu principalmente nos tratamentos que receberam CMM, EMN e outros complexos microbianos. Estes resultados mostram que a inoculação de microrganismos benéficos pode potencializar a ecologia do solo, promovendo significativamente o desenvolvimento das videiras e redução do número de cistos da pérola da terra.

**Palavras-chave:** agricultura regenerativa, serviços ecossistêmicos; microbiota funcional; saúde do solo; tecnologias sociais.

## ABSTRACT

One of the challenges of current agriculture is the production of food with less interference with the agricultural system. The implementation of ecologically based/regenerative agricultural practices is essential for achieving healthy and more resilient production systems. In this sense, understanding strategies to control the pest *Eurhizococcus brasiliensis* is necessary. The objective of this work was to analyze the impact of different inoculants on the development of *Vitis vinifera* from the Chardonnay cultivar and evaluate the diversity of microorganisms involved in the suppressiveness of *E. brasiliensis*. In the field experiment, biological inputs were used by immersion or application in the cradle of the root system, by *Trichoderma* sp, *Metarhizium* sp, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, in addition to other compounds such as Hidrogel®, Compost Aid®, biofertilizer based on castor beans, Nem Out®, Microgeo®, CMM – Microbial Complexes and their Metabolites, and EMN – Efficient Microorganisms Natives. The diversity of cultivable microorganisms, identified by 16S rDNA analysis, for bacteria and ITS for fungi or microbial communities by metagenomics, in material from microbial fermentations and in soil treatments, was evaluated. Length of branches, number of leaves, population of earth pearl cysts and dead vine plants after 22 months of planting the seedlings were also evaluated. Using the methodology for analyzing cultivable microorganisms, it was possible to identify different groups of bacteria from the EMN (EM), CMM (FC), soil, SEF (Soil + CMM + EMN) and SFM (Soil + CMM + Microgeo) samples. They are mainly represented by the phyla *Firmicutes*, *Proteobacteria*, followed by *Mycobacterium* and *Pseudomonadota* among others. The genera *Pseudomonas*, *Acinetobacter* and *Comamonas*, representatives of the Phylum *Proteobacteria*, were also identified, followed by the genus *Mycobacterium* – Phylum *Actinomycetota* and *Kluyvera* Phylum *Pseudomonadota*. Regarding the group of fungi, the prevalence occurred with the genus *Mucor* identified in most of the treatments sampled. In the genetic sequencing analysis, a greater quantity of beneficial fungi was verified in the T5 treatment, which explains the suppressive activity and the greater length of branches, number of leaves and reduction of cysts of the pearl of the earth occurred mainly in the treatments that received CMM, EMN and other microbial complexes. These results show that the inoculation of beneficial microorganisms can enhance soil ecology, significantly promoting the development of vines and reducing the number of earth pearl cysts.

**Keywords:** regenerative agriculture, ecosystem services; functional microbiota; soil health; social technologies.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Diferentes tratamentos na avaliação da supressividade de *Eurhizococcus brasiliensis* 27
- Figura 2 Diversidade de gêneros de bactérias identificadas nos diferentes substratos. Microrganismos Eficientes (EM), Multiplicação de complexos microbianos e seus metabólitos (CMM=FC), Solo (S), SEF= Solo + EMN+CMM, SFM= Solo + CMM + Microgeo ..... 34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Número total e diversidade de espécies de fungos identificadas a partir de diferentes biofermentados <i>on farm</i> ou produtos comerciais utilizados no manejo da videira.....	29
Tabela 2	Número total e diversidade de espécies de bactérias identificadas a partir de diferentes biofermentados <i>on farm</i> ou produtos comerciais no manejo da videira.....	31
Tabela 3	Índice de diversidade dos microrganismos cultiváveis. EMN= Microrganismos eficientes nativos. CMM= Complexos microbianos e seus metabólitos (fermento crioulo). S= Solo. SEF= Solo + EMN + CMM. SFM= Solo + CMM + Microgeo.....	36
Tabela 4	Abundância relativa dos principais microrganismos identificados via sequenciamento genético do tratamento controle e T5.....	37
Tabela 5	Comprimento de ramos de videira após diferentes formas de manejo. Período 2020/2022.....	40
Tabela 6	Número total de folhas de videira após diferentes formas de manejo. Período 2020/2022.....	41
Tabela 7	Número de folhas com sintomas de doenças a partir de diferentes formas de manejo. Período 2020/2022.....	43
Tabela 8	Número de cistos e porcentagem de plantas mortas em videiras tratadas com diferentes formas de manejo. Período 2022.....	44

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>Introdução</b> .....	8
<b>2</b>	<b>Revisão bibliográfica</b> .....	11
2.1	Viticultura .....	11
2.2	A cochonilha pérola da terra - <i>Eurhizococcus brasiliensis</i> – antecedentes e importância agrícola.....	13
<b>3</b>	<b>Métodos de controle de <i>Eurhizococcus brasiliensis</i></b> .....	15
3.1	O Controle químico de <i>Eurhizococcus brasiliensis</i> .....	15
3.2	Produtos Fitossanitários Alternativos para o Controle de <i>Eurhizococcus brasiliensis</i> .....	16
3.3	Biofertilizantes.....	16
<b>4</b>	<b>Produção de compostos biológicos “on farm”</b> .....	18
4.1	Multiplicação de complexos microbianos e seus metabólitos – CMM.....	19
4.2	Microrganismos Eficientes Nativos– EMN.....	20
<b>5</b>	<b>Material e Métodos</b> .....	22
5.1	Preparação da Área de Cultivo e Desenho Experimental .....	22
5.2	Produção de compostos biológicos “on farm”.....	22
5.2.1	Produção do Biofertilizante Tipo EMN “on farm”.....	22
5.2.2	Multiplicação de complexos microbianos e seus metabólitos – CMM “on farm”. .....	23
5.2.3	Microgeo.....	23
5.2.4	Fertilizante de mamona.....	23
5.2.5	Outros insumos.....	23
5.3	Caracterização e quantificação de microrganismos do solo e de biofermentados em área de vinhedo sob manejo regenerativo.....	24
5.3.1	Análises Microbianas.....	24
5.3.2	Classificação e análise filogenética.....	24
5.3.3	Metagenômica das amostras.....	25
5.4	Tratamentos e variáveis analisadas.....	26
5.4.1	Variáveis avaliadas a campo.....	27
5.5	Avaliação da população da pérola da terra.....	27
5.6	Análise estatística.....	28
<b>6</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	29
<b>7</b>	<b>Conclusões</b> .....	47
<b>8</b>	<b>Referências Bibliográficas</b> .....	48

## 1. Introdução

Um dos principais problemas fitossanitários encontrado pelos produtores, na cultura da videira, tem sido a presença da cochonilha pérola da terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Wille, 1922) (Hemiptera: Margarodidae)

A cochonilha pérola da terra, *E. brasiliensis* descoberta em 1922 no Estado do Rio Grande do Sul, tornou-se a praga mais temida entre os viticultores do Sul do Brasil, tanto pela rapidez de dispersão quanto pela dificuldade de controle visto seus hábitos de vida subterrânea. Trata-se de um inseto que prejudica somente durante sua fase jovem (ninfas), pois os adultos são desprovidos de aparelho bucal. Reproduz-se de forma assexuada, principalmente, ou eventualmente de forma sexuada, apresentando uma geração por ano. (Hickel, 1994; Haji *et al.*, 2002). A cochonilha possui uma fase de cisto com ovos, que se inicia com o rompimento das paredes do cisto, devido à pressão exercida pelas ninfas do primeiro instar. Essa fase, na região Sul do Brasil, ocorre principalmente entre os meses de outubro e janeiro. As ninfas recém eclodidas têm pernas funcionais, mas com pouca mobilidade e baixa capacidade de dispersão (Hickel *et al.*, 2010). A partir do segundo instar, as ninfas perdem as pernas e permanecem no interior da cutícula, que se converte em capsula protetora, assumindo formato esférico, com coloração amarela, daí o nome “pérola da terra”. O completo desenvolvimento das ninfas origina fêmeas, que morrem dentro do próprio cisto após realizarem a postura (cisto com ovos), ou que podem emergir e subir à superfície como fêmeas móveis, para eventual acasalamento, retornando, em seguida, ao interior do solo (Hickel *et al.*, 2010). A fase de ninfa ocorre, na região Sul, predominantemente entre fevereiro e outubro.

O processo de morte das plantas e a progressiva velocidade forçou a busca de alternativas rápidas de controle. Vários tratamentos químicos foram avaliados e validados, porém, devido à toxicidade ou até ineficiência em atingir o alvo, outros métodos têm sido investigados para o controle desta importante praga (Botton, *et al.*, 2010, Cresswell *et al.*, 2012).

Segundo o DIEESE (2022) o custo total gerado com o controle da pérola da terra, incluindo-se insumos, mão de obra e reposição anual de mudas, é estimado em R\$ 1.230,00/ha, o que impacta significativamente na redução da rentabilidade da cultura.

O estabelecimento de sistemas agroalimentares mais resilientes dependem da mitigação de determinadas práticas agrícolas, que contribuem para a degradação e diminuição da fertilidade do solo, contaminações e restrição da biodiversidade. Práticas que reduzam as interações ecológicas nos agroecossistemas, como a monocultura, a perturbação intensa do solo, a dependência excessiva de fertilizantes minerais solúveis e

a utilização de compostos químicos nocivos, podem interferir nas redes tróficas e alterar a composição das comunidades bióticas. Esta interferência leva a um declínio na diversidade de espécies benéficas dentro dos ecossistemas, comprometendo assim as suas capacidades multifuncionais. A integração de práticas agrícolas ecológicas são estratégias amigáveis para enfrentamento às mudanças climáticas e restabelecimento da biodiversidade (Thiessen-Mertens *et al.*, 2015).

Em 2022, o setor agrícola no Brasil registrou um consumo aproximado de 38,2 milhões de toneladas de fertilizantes no mercado nacional, sendo uma parcela substancial importada (33,8 milhões de toneladas) ANDA (2022). Esta dependência de fontes externas, combinada com incertezas na cadeia de abastecimento de fatores de produção, a diminuição das reservas minerais globais e os desequilíbrios na dinâmica comercial, aumentam as preocupações sobre a segurança alimentar do país (Metson, *et al.*, 2016)

Os sistemas alimentares orgânicos em todo o mundo apresentam um déficit médio de produtividade de 19 a 25% em comparação com a agricultura convencional. Essa variação depende de fatores como localização geográfica, tipo de práticas agrícolas, abordagens tecnológicas e condições edafoclimáticas predominantes (De Ponti *et al.*, 2012). Neste contexto, torna-se evidente a importância dos biofertilizantes *on farm* como catalisadores para o aumento da produtividade das plantas.

Neste sentido, inoculantes biológicos que potencializem a ciclagem de nutrientes necessitam ser melhores explorados e estudados. A multiplicação de microrganismos nativos e seus metabólitos *on farm* podem ser consideradas as chamadas “estratégias baseadas na natureza”. A produção de inoculantes com microrganismos nativos, sejam de base líquida ou sólida, comportam vários compostos microbianos. (Al Abboud *et al.*, 2013).

Multiplicar microrganismos nativos *on farm* a partir de técnicas de biofermentação, e com fontes de matéria-prima local, os quais podem alterar no tempo de processamento e até no produto desejado, as modificações que ocorrem podem ser complexas, inclusive quanto a produção de metabólitos pela diversidade de organismos envolvidos. (Sharma *et al.*, 2014, Silva *et al.*, 2015). O resultado desta transformação microbiológica é um composto mais estável, que poderá promover a conversão de um substrato rico em nutrientes e biologicamente ativo (Hata *et al.*, 2023). No presente trabalho o termo biofermentação será utilizado como sinônimo de fermentação.

Neste contexto, nas últimas décadas, em determinadas áreas de produção agrícola, e em locais com agricultura familiar vem ocorrendo o desenvolvimento de determinados compostos biológicos *on farm*, como microrganismos eficientes nativos (EMN), multiplicação de complexos microbianos e seus metabólitos (CMM), este último

também conhecido como “fermento crioulo”, além de outros biofermentados caseiros como o composto bokashi, dentre outros também denominados de tecnologias sociais de baixo custo. (Sartori & Venturin, 2016).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade de microrganismos cultiváveis em determinados compostos biológicos produzidos *on farm*, e verificar a ação destes sobre a supressividade da cochonilha *Eurhizococcus brasiliensis* na cultura da videira.

## 2. Revisão bibliográfica

### 2.1 Viticultura

A viticultura é uma atividade tradicional em sete estados brasileiros. Como zonas de viticultura temperada destacam-se as regiões da Fronteira, Serra do Sudeste, Serra Gaúcha, Campos de Cima da Serra e regiões Central e Norte do Estado do Rio Grande do Sul; as regiões do Vale do Rio do Peixe, Planalto Serrano e Planalto Norte e Carbonífera, no Estado de Santa Catarina; a região Sudeste do Estado de São Paulo, e a região Sul do Estado de Minas Gerais. A região Norte do Paraná é tipicamente subtropical e as regiões Noroeste do Estado de São Paulo, Norte do Estado de Minas Gerais e Vale do Sub-Médio São Francisco (Pernambuco e Bahia) caracterizam-se como zonas tropicais, com sistemas de manejo adaptado as suas condições ambientais específicas. Além destes, novos polos vitivinícolas estão surgindo em diferentes regiões do país, seja sob condições temperadas, tropicais ou subtropicais (IBRAVIN, 2012).

O estado do Rio Grande do Sul é responsável por mais de 50% da produção de uva e por 90% da produção nacional de vinhos e derivados (Chavarria & Santos, 2013) e a sua principal região produtora é a Serra Gaúcha, onde a viticultura ocorre em pequenas propriedades, com média de 15 ha de área total, sendo destes 40% a 60% de área útil com 2,5 ha de vinhedos, pouco mecanizada devido à topografia acidentada, predominando o uso da mão de obra familiar, cada propriedade dispoendo em média de quatro pessoas (Souza, 2013).

A área plantada com videiras no Brasil, em 2021, foi de 75.000 ha, ou seja, 0,24% superior à verificada no ano anterior, segundo dados obtidos no IBGE (IBGE, 2022). A área com viticultura se concentra na Região Sul, que representou 73% da área total nacional. O Rio Grande do Sul é o principal estado produtor, representando 62,41% da área vitícola nacional, o que corresponde a uma área de 46.815 ha. O estado de Santa Catarina apresentou uma área de 3.940 ha e o Paraná 4.000 ha. Os três estados do Sul apresentaram estabilidade na área cultivada no ano de 2021.

Na Região Sudeste o estado de São Paulo, grande produtor de uva de mesa, apresentou a mesma área do ano anterior, 8.022 ha de videiras, 10,69% da área nacional. Em Minas Gerais ocorreu aumento de 4,79% na área plantada com videira, atingindo 1.270 ha. No Espírito Santo, ainda com área bastante reduzida, 198 ha, diminuiu a área em 4,35% no último ano e, no estado do Rio de Janeiro, registrou-se apenas 24 ha com videiras. A Região Sudeste representou 12,68%, da área vitícola do país (IBGE 2022).

A região Nordeste representou 14,04% da área vitícola nacional e concentrou sua viticultura no Vale do São Francisco (Pernambuco e Bahia). Pernambuco é o maior

produtor com 8.256 ha, que representa 11,00% da área nacional. Na Bahia, com 2.119 ha, ocorreu aumento de 7,62% na área com videiras. Nos demais estados o cultivo da videira é ainda muito reduzido, embora o interesse pela cultura venha aumentando. Considerando que nessa região, em especial no Vale do São Francisco, devido às condições climáticas e de sistemas de produção que permitem a realização de até duas safras e meia por ano, a importância relativa da região é superior ao percentual acima apresentado.

A Região Sul é a maior produtora de uvas, sendo que, em 2021, representou 62,92% da produção nacional. O Rio Grande do Sul, o maior produtor de uvas do país com produção de 951.567 t de uvas em 2021, representou 56,05% da produção nacional. A maior parte da produção refere-se às cultivares de uvas americanas e híbridas, destinadas principalmente ao processamento para elaboração de vinhos de mesa e suco de uvas, embora seja neste mesmo estado que ocorra a maior produção de vinhos finos e espumantes do país. Ainda na Região Sul, o estado de Santa Catarina produziu 59.638 t de uvas, 1,24% inferior ao ano anterior e o Paraná, com 57.000 t, também apresentou redução na produção (0,97%) IBGE (2022).

Na Região Nordeste, Pernambuco é o maior estado produtor de uvas, com produção de 390.640 t em 2021, 15,29% superior ao ano de 2020. Na Bahia, a produção foi de 61.274t, 35,14% superior à verificada no ano anterior. A Região Nordeste, segunda maior produtora de uva, representou 26,81% da produção nacional, em 2021 IBGE (2022).

Na Região Sudeste, cuja produção de uvas representou 10,02% da produção nacional, em 2021, o estado de São Paulo, principal produtor de uva de mesa Niágara Rosada (rústica) do país, produziu 147.359 t de uvas, 1,05% inferior ao ano anterior. Minas Gerais produziu 19.571 t de uvas, com aumento de 4,53%, e o Espírito Santo, com produção de 3.040 t, apresentou redução da produção de 9,79% no ano de 2021, em relação ao ano anterior (IBGE 2022).

A Região Centro-Oeste, embora com área reduzida, investiu na produção de vinhos finos ligados ao enoturismo, com sucesso. Em Goiás a área com viticultura foi de 78 ha, no Distrito Federal de 57 ha e no Mato Grosso 52 ha.

A produção nacional de uvas destinadas ao processamento (vinho, suco e derivados) foi estimada em 816.077 milhões de quilos, representando 48,07% da produção total. A estimativa se baseia na proporcionalidade relativa do estado do Rio Grande do Sul usando os dados oficiais de uvas destinadas ao processamento. As uvas para consumo *in natura*, que representaram a maior parte, 51,93%, são o resultado da diferença entre o total da produção e a uva para processamento IBGE (2022).

Segundo o DIEESE (2022) o custo de insumos fitossanitários por hectare, não incluso herbicidas e formicidas, para uvas do grupo *Vitis vinifera* fica entre R\$ 11.430,00 e 14.280,00, dependendo da cultivar, do ciclo e das condições climáticas da região. O custo total de produção, considerando as depreciações, na Serra Gaúcha, é de R\$ 65.660,00. Este mesmo Departamento considera que as médias de produção para este grupo de uvas variam de 8 a 12 toneladas/hectare o que perfaz um custo de produção de R\$ 8,21 a R\$ 5,47/kg de uva. O custo total gerado apenas com o controle químico da pérola da terra é estimado em R\$ 1.230,00/ha.

Quanto a quantidade e tipos de insumos, assim como quais princípios ativos são utilizados para controle fitossanitário, há uma variação muito grande tendo em vista a diversidade de cultivares, com ciclos distintos e condições climáticas muito variáveis. Contudo o Manual de Produção de Uvas Viníferas de Alta Qualidade e o sistema adotado pela Embrapa Uva e Vinho para estimativas econômicas, estabelecem como médias 18 a 22 pulverizações por ciclo em cultivares precoces, como Chardonnay e Pinot Noir, e 22 a 26 pulverizações por ciclo das cultivares mais tardias, como Cabernet Sauvignon e Cabernet Franc. (Lazarotto e Fioravanço, 2014).

## **2.2 A cochonilha pérola da terra - *Eurhizococcus brasiliensis* – antecedentes e importância agrícola**

A pérola da terra, *E. brasiliensis* (Hempel) (Hemiptera: Margarodidae), é uma cochonilha subterrânea que infesta as raízes das plantas, tanto cultivadas como silvestres. Várias plantas frutíferas são atacadas, porém, ela só é considerada praga importante no cultivo da videira (Gallotti, 1976). Esta praga, nativa da Região Sul do Brasil, tem dificultado o cultivo de videiras, tanto pelos danos causados quanto pela falta de estratégias eficientes para o seu controle, devido à facilidade de dispersão da doença (Stoffel *et al.*, 2014). *E. brasiliensis* (Hempel, 1922) (Hemiptera: Margarodidae), é uma cochonilha subterrânea, que se alimentam de grande quantidade de seiva das plantas, provocando a decadência da videira, reduzindo drasticamente a produção, e causando a morte da videira. A disseminação da pérola da terra ocorre principalmente pela *Linepithema humile*, espécie de formigas que se associa aos cistos em busca dos resíduos açucarados, pois estas transportam as ninfas eclodidas até as raízes das plantas hospedeiras (De Césaró, 2008, Andzeiewski *et al.*, 2022). Esta praga tem causado severas perdas aos vinhedos principalmente do sul do Brasil, sendo responsável pelo abandono da cultura em videiras em várias regiões em devido a dificuldades de controle.

A pérola da terra distribui-se por toda a principal região vitícola de Santa Catarina e nos principais municípios produtores de uva da Serra Gaúcha, no Rio Grande do Sul, sendo um dos fatores de diminuição da área plantada e desestímulo a novos plantios (Gallotti, 1989). Também ocorre em alguns municípios dos estados do Paraná e de São Paulo, e recentemente, a pérola da terra foi constatada atacando videira no Vale do São Francisco, em Petrolina, PE (Haji *et al.*, 2002).

A cochonilha *E. brasiliensis* (Wille, 1922), mais conhecida por pérola da terra ou carrapato da videira, foi descoberta em 1922, na região central do Estado do Rio Grande do Sul, tornou-se, ao longo dos anos, a praga mais temida entre os viticultores do Sul do Brasil. O gênero *Vitis sp* por ser exótico ao nosso ecossistema e a pérola da terra, por sua vez, nativa, gerou dificuldades em estabelecer adequados mecanismos de controle. Identificado na Serra Gaúcha pela primeira vez em Caxias do Sul, em 1964, rapidamente foi reconhecida como “*causa mortis*” de muitos vinhedos que vinham em franco declínio (Gallotti, 1976). Porém, até a década de 1980 o processo de declínio e morte das videiras era lento e mascarado pela intensidade de reposição das plantas não gerando significativo impacto sobre a produção.

A partir de então, o processo de morte das plantas se acentuou e a progressiva velocidade forçou a busca de alternativas rápidas de controle. Neste período alguns controles químicos foram avaliados e validados, deste a fumigação por fosfina até o uso de Vamidothion (Kilval), o primeiro apresenta dificuldades na viabilidade técnica de uso e o segundo possui grande toxicidade. Ao longo do tempo, outros princípios ativos foram testados como metidation, dizinon, imidacloprid e thiamethoxan, apresentando relativa eficiência devido à necessidade de uso por encharcamento a fim de que o produto ativo envolva completamente o sistema radicular das plantas (Botton *et al.*, 2010). Estas técnicas têm mais eficiência quando utilizadas em mudas do que quando utilizadas em vinhedos consolidados e especialmente nestes, estas práticas têm um custo elevado (Botton *et al.*, 2013).

Paralelo a isso, agricultores vêm empiricamente testando fórmulas “milagreas” que vão do uso de sal e cinzas até o querosene e naftalina. Outras linhas de pesquisa foram estabelecidas como alternativas como o uso de variedades resistentes como a *Vitis rotundifolia*, porém agronomicamente inviável. Neste mesmo sentido tem-se utilizado a *V. rotundifolia* como porta-enxerto, mas por problemas de compatibilidade genética não apresenta bons resultados (Soria *et al.*, 1997). Alguns experimentos avaliaram o uso de adubação verde como técnica de controle, mas sob o enfoque da redução do impacto e não na eliminação por morte da pérola da terra. Dentre estas, algumas espécies como *Tagetes sp*, *Crotalaria sp* e *Allium sp* demonstraram alguma eficiência (Botton, 2010).

Quanto ao controle biológico, experimentos de laboratório confirmam como potencial entomopatogênico o fungo *Paecilomyces fumosoroseus* e o nematoide *Sfeinernerna carpocapsae* (Hickel, 1997, Lorencetti, 2013 e Estrada, 2019).

Atualmente os trabalhos estão direcionados às técnicas de supressividade da pérola da Terra, do que a busca de substâncias químicas de erradicação. Isto porque algumas hipóteses, baseadas no histórico da praga, levam a crer que *E. brasiliensis* propicia a entrada de patógenos oportunistas como *Fusarium* sp. causador da morte da videira. Sob este olhar, a Embrapa Uva e Vinho, no período de 02/2015 e 01/2019 avaliou e propôs um manejo sustentável de plantio de mudas de videiras em áreas com histórico de pérola da terra. Esta proposta se mostrou eficiente e de baixo impacto ambiental, porém com dificuldades de replicabilidade junto aos viticultores. A partir destes experimentos, algumas empresas de insumos biológicos lançaram no mercado, pacotes de controle da pérola da terra, com baixa eficiência. Neste mesmo contexto, insumos biológicos vêm sendo formulados por agricultores seguindo os preceitos de elaboração de insumos caseiros para a agricultura orgânica. Observando empiricamente que alguns destes insumos também apresentam possíveis potenciais para o controle da pérola da terra, com a vantagem de serem mais acessíveis e de fácil domínio por parte destes, o que garantiria um uso mais efetivo “comunicação pessoal”.

Entendendo que com o advento da regulamentação por parte do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento da produção dos insumos biológicos por parte dos agricultores, os ditos “insumos *on farm*” (Portaria 110/2020), vemos a necessidade de testá-los e avaliá-los tanto em sua eficiência, custo e seguridade. O objetivo deste trabalho será de avaliar a eficiência de diferentes componentes biológicos na supressão de *E. brasiliensis* na cultura da videira, a fim de garantir manejo sustentável de vinhedos com histórico da praga.

### **3. Métodos de Controle de *Eurhizococcus brasiliensis***

#### **3.1 O Controle químico de *Eurhizococcus brasiliensis***

A pérola da terra é a principal e mais problemática praga de videiras pela dificuldade de controle de suas populações (Botton *et al.*, 2010). Diversas investigações têm evidenciado variações na mortalidade da praga em função da forma de aplicação e o ingrediente ativo utilizado (Botton *et al.*, 2013). Ninfas de *E. brasiliensis* têm corpo globoso e revestido por uma carapaça espessa (cisto), que normalmente lhes confere alta resistência, quer seja a adversidades climáticas ou a nutricionais (Gallotti 1976). Este fato,

aliado ao hábito subterrâneo do inseto, tornam os métodos convencionais de controle praticamente inócuos contra a praga (Gallotti 1976, Soria & Gallotti 1986).

Os principais inseticidas químicos já avaliados para o controle da *E. brasiliensis* são: vamidothion, imidacloprido, tiametoxam, spirotetramate, fipronil e azadiractina, todos com baixos níveis de controle em médio e longo prazos, apresentando efeitos paliativos de controle de curto prazo. A aplicação de inseticidas via irrigação (insetigação), especialmente por encharcamento, tem sido aventada como uma alternativa para o controle de pragas de solo, uma vez que resultaria na infiltração do ingrediente ativo no perfil do solo, atingindo assim o inseto alvo (Hickel *et al.*, 2010). Esta técnica, apesar de maior eficiência de controle, também se restringe ao curto prazo e com uma maior dificuldade de efetivação de sua aplicação, visto a necessidade de uso de pelo menos 20 litros de calda por metro quadrado.

### **3.2 Produtos Fitossanitários Alternativos para o Controle de *Eurhizococcus brasiliensis***

O uso de produtos fitossanitários alternativos pode permitir a proteção da planta contra o ataque de patógenos, através da ativação de mecanismos de defesa (Schwan-Estrada *et al.*, 2000). Estes produtos também são usados para o controle de várias pragas das culturas, ou ainda como fertilizantes, para melhorar a nutrição e evitar a incidência de doenças e pragas e, portanto, podendo atuar na ativação de rotas de defesa metabólicas nos insetos (Lorencetti, 2013).

Os produtos fitossanitários como Azamax®, Base Nim®, Fortneem® tem em sua formulação a Azadiractina, um limonoide encontrado no Nim (Martinez, 2003). Este composto está associado à ação supressora de apetite, inibidora de crescimento e desenvolvimento (Viegas, 2003), e interfere na reprodução (Viana *et al.*, 2006).

De acordo com (Botton *et al.*; 2013), o produto Azamax®, quando testado sobre o inseto-praga da videira, conhecido como *E. brasiliensis* (Hemiptera: Margarodidae), a pérola da terra provocou redução de 50% na infestação desta praga

### **3.3 Biofertilizantes**

Os biofertilizantes incluem extratos de plantas com ou sem a adição de esterco, que contêm células vivas de diferentes microrganismos. Os microrganismos presentes nestes compostos biológicos destinam-se a habitar inclusive a rizosfera das plantas, facilitando assim a entrega de nutrientes do solo à cultura com maior eficiência (Raja 2013, Fatimah *et al.*, 2021, Abioye *et al.*, 2023).

Entre as práticas sustentáveis com possibilidades de utilização junto aos agricultores de base agroecológica estão os biofertilizantes ou biofermentados *on farm*. De acordo com (Guazzelli *et al.*, 2012), os biofertilizantes são adubos líquidos ou sólidos produzidos a partir da mistura de matéria orgânica e/ou inorgânica com água ou outro produto líquido para garantir um certo teor de umidade, que passam por processo aeróbico e/ou anaeróbico durante a fase de maturação, para serem utilizados em adubação de plantio, de cobertura e manejo foliar. Tem sido verificado que o uso de determinados biofertilizantes (biofermentados) *on farm* agem de maneira positiva no crescimento e o rendimento das culturas, afetam a quantidade de matéria orgânica, no desenvolvimento da parte aérea e das raízes (Sugiyarto *et al.*, 2023).

Segundo Alfa *et al.*, (2014), os biofertilizantes são o resultado final da decomposição de compostos orgânicos que contem células vivas ou latentes de microrganismos. Seu preparo é realizado a partir da fermentação aeróbia ou anaeróbia de resíduos orgânicos (Marrocos *et al.*, 2012). Segundo Malusà & Vassilev (2014), um biofertilizante “poderia ser definido como o composto elaborado contendo um ou mais microrganismos que melhoram o status nutricional de crescimento e rendimento de plantas cultivadas facilitando o acesso das plantas aos nutrientes”.

Segundo a Instrução Normativa 46, de 6 de outubro de 2011, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2011), os biofertilizantes são produtos que contêm componentes ativos ou agentes biológicos, que melhoram o desempenho do sistema de produção e que são isentos de substâncias proibidas pela regulamentação de orgânicos (Lei 10.831/03).

A composição química do biofertilizante varia de acordo com o método de preparo, tempo de decomposição, população microbiológica, temperatura, pH do composto e o material que o origina. Porém, a principal característica do produto são os microrganismos que o compõe, que são responsáveis pela decomposição da matéria orgânica e liberação de metabólitos, enzimas, vitaminas, toxinas, fenóis, ésteres, ácidos e antibióticos, assim como, promover o crescimento vegetal ao se integrar à planta após a sua aplicação (Marrocos *et al.*, 2012). No mais, os biofertilizantes atuam aumentando a resistência sistêmica das plantas às pragas e doenças, sendo que os agrotóxicos atuam reduzindo a população de fitoparasitas, porém fragilizando o vegetal (Medeiros; Lopes, 2006). Adicionalmente, o produto possui potencial para controlar diretamente pragas através de substâncias com ação fungicida, bactericida e inseticida presentes em sua composição (Vessey, 2003).

Atualmente no Brasil, diversos biofertilizantes têm sido utilizados em diversas culturas, destacando-se o Agrobio (Fernandes *et al.*, 2006), Supermagro (Lopez *et al.*,

2016); Vairo e Bokashi, (Guazzelli *et al.*, 2012), biofertilizantes à base de plantas (Paes, 2015), Biogeo (Leite & Meira, 2016); o Hortbio (Fontenelle *et al.*, 2017); o biofertilizante enriquecido com mamona (Stuchi, 2015) e o biofertilizante enriquecido com microrganismos eficientes - EM (Bonfim; Fontenelle, 2017), biofertilizantes a base de esterco bovino (Cavalcante *et al.*, 2019), dentre outros. Os mesmos são tecnologias sociais, ou seja, práticas de fácil produção, utilizadas principalmente por agricultores familiares e em distintas culturas agrícolas (Nunes Costa *et al.*, 2023).

#### **4. Produção de compostos biológicos “on farm”**

A produção “on farm”, também conhecida como “produção caseira de microrganismos” ou “produção nas fazendas”, consiste na multiplicação de espécies bacterianas ou de fungos, que serão utilizados dentro da propriedade agrícola, com função de controlar doenças e pragas agrícolas, ou atuar na indução de resistência em plantas cultivadas. A multiplicação de microrganismos *on farm* tem aumentado principalmente junto à agricultura familiar, cujo uma das principais estratégias é coletar solo ou substrato do tipo serrapilheira como fonte de diversidade de microrganismos, adicionar fontes nutricionais e conduzir para o processo de maturação (fermentação).

As principais técnicas de fermentação podem ocorrer em estado sólido ou estado líquido para obter biomassa microbiana ou esporos, e produção de metabólitos. Também é importante estabelecer a relação entre carbono e nitrogênio. As fontes de glicose, sacarose, lactose e outros açúcares simples são necessários e de fácil aquisição. O uso de farinhas de semente de mamona, soja, aveia ou trigo são indicados para aumentar o teor de nitrogênio (Vassileva *et al.*, 2021).

Outro elemento importante é o fosfato, pois afeta de maneira positiva a produção de biomassa e metabólitos por vários organismos. Em condições naturais, fontes inorgânicas de P são a parte mais importante do meio de fermentação com um forte efeito limitante de crescimento de microrganismos (Sanchez, & Demain, 2002). Foi evidenciado, que o uso de P estimula a produção de enzimas extracelulares em aproximadamente 10 vezes, particularmente fosfatases alcalinas e ácidas (Vassilev *et al.*; 2014, Subramaniam *et al.* 2018, Vassileva *et al.*, 2021).

A fermentação sólida, tem sido mais atraente, por se tratar de um processo natural, com elevado potencial econômico, que pode ser facilmente realizado em condições laboratoriais e industriais para produzir diversos produtos, incluindo biofertilizantes, ao mesmo tempo que recicla resíduos agroindustriais (Pandey *et al.*, 2007).

É importante mencionar que apenas uma pequena porcentagem dos microrganismos que habitam o solo e as zonas circundantes às raízes das plantas pode ser cultivados, enquanto o restante é declarado não cultiváveis em meios de cultivo padrão (Barret *et al.*, 2013). Então, uma das estratégias de multiplicação de determinados microrganismos do ambiente é capturá-los e propagá-los via fermentação *on farm* para produção de biofertilizantes na agricultura sustentável.

No que diz respeito aos metabólitos produzidos pelos microrganismos, estes são substâncias químicas produzidas pelo metabolismo de distintos organismos, que pode variar de acordo com o meio ou mudança ambiental (Brown *et al.*, 2022). Essa diversidade metabólica é essencial para o desenvolvimento do organismo, interações com o meio e manutenção de uma comunidade diversa, frequentemente ocupando uma infinidade de nichos metabólicos e ambientais (Brown *et al.*, 2024).

Segundo (Jones *et al.*, 2014, Brown *et al.*, 2021, Withers *et al.*, 2020), os metabólitos, desempenham um papel central na compreensão fundamental das interações ambientais e da qualidade ambiental, como avaliação de mudanças funcionais e da qualidade do solo.

Neste sentido, os biofertilizantes “*on farm*” podem desempenham um papel fundamental na reposição da diversidade microbiana, fertilidade do solo, metabólitos, mobilização de macro e micronutrientes para ampliar a sua eficácia e disponibilidade. Estes biofertilizantes, podem ser considerados fertilizantes orgânicos ecológicos que promovem a segurança alimentar e asseguram para uma produção agrícola mais sustentável.

#### **4.1 Multiplicação de complexos microbianos e seus metabólitos – CMM**

A estratégia do CMM é multiplicar diferentes táxons microbianos utilizando como substrato uma fonte de carbono, açúcar, leite e serrapilheira a fim de estabelecer um consórcio funcionalmente bem-sucedido. O CMM, segundo (Sartori & Venturin, 2016), é um biofermentado é popularmente conhecido como “fermento crioulo”, termo genérico dado a um processo de fermentação que utiliza serrapilheira, uma fonte de carbono (farelo), uma fonte de açúcar e leite, passando por duas etapas de elaboração. Na primeira etapa, estágio sólida, consiste em coletar uma quantidade aproximada de 20 litros de folhas ou fragmentos de galhos em decomposição, a chamada serrapilheira. Acrescentar a mesma quantidade de farelo de trigo ou arroz, 0,5 kg de melaço ou açúcar mascavo, 0,5 L de leite e 0,5 kg de pó de basalto (opcional), que após a mistura homogênea, é adicionada água até obter umidade de 40-50%, aproximadamente. O

resultado desta primeira etapa é armazenado em recipiente de 20 L, compactada levemente de forma a retirar a maior parte do oxigênio. Posteriormente este fermentado é vedado com plástico para evitar a entrada de oxigênio, e permanecendo por 30 dias em local protegido da luz e do calor. O resultado deste processo é um material sólido com odor e textura que lembram a silagem de milho fermentado. A segunda etapa deste biofertilizante, chamada de fase líquida, necessita de um recipiente de 200 L, onde é adicionado o produto fermentado da primeira etapa, 40 L de água, 20 kg de farelo de trigo, 1 kg de melaço ou açúcar mascavo, 2 L de leite. E, após o início da fermentação acrescentado água até completar os 200 L. O mesmo permanece fermentando por 15 dias e poderá ser utilizado. A dosagem recomendada consiste em 100 ml do produto em 1 L de água por planta a cada mês, por seis meses.

#### **4.2 Microrganismos Eficientes Nativos– EMN**

Outro complexo microbiano multiplicado *on farm* é conhecido como microrganismos eficientes nativos. O mesmo utiliza como substrato atrativo arroz elaborado com 70% de água, mantido por aproximadamente 15 min por processo de cocção. Este biofertilizante reproduz o produto comercial (EM), conhecido como Microrganismos Eficazes, cujo produto composto por fungos e bactérias isolados do solo e capazes de coexistir em meio líquido fermentativo (Bonfim *et al.*, 2011). Esses microrganismos foram isolados pela primeira vez no Japão pelo Dr. Teruo Higa, que os chamou de “Microrganismos Eficazes”, mas atualmente, várias famílias de agricultores já produzem seus próprios microrganismos eficazes (Bonfim *et al.*, 2011).

O EM Nativo, consiste em coletar do ambiente de mata nativa, microrganismos do solo (serrapilheira), utilizando como substrato isca arroz cozido, multiplicá-los e estender para uma nova área. É elaborado em duas diferentes etapas, sendo uma a captura dos EMN utilizando arroz sem nenhum tipo de aditivo. E a segunda etapa, consiste na ativação destes microrganismos adicionando água e uma fonte de açúcar, e deixá-los fermentar por um período aproximado de 10 dias (Sartori & Venturin, 2016).

Depois de prontos, os biofertilizantes são usados diluídos em água, normalmente numa concentração de 1% a 12% e numa frequência variável dependendo da cultura, estágio de desenvolvimento e período do ano (Silva *et al.*, 2016). Estes biofertilizantes são aplicados diretamente ao solo anterior ao plantio ou via pulverizações foliares (Wang *et al.*, 2022).

O uso destes biofermentados se dá via inoculação em culturas agronômicas (solo ou sobre culturas agrícolas) para gerar ambientes favoráveis ao desenvolvimento das

plantas (Olle & Williams 2013). A interação dos EMs com o ecossistema solo planta promove antagonismo a patógenos, fornecimento de nutrientes a partir da decomposição de substratos orgânicos, solo equilíbrio da microbiota, aumento da germinação das sementes e crescimento das plantas (Bonfim *et al.*, 2011).

Alvarez-Vera *et al.*, (2019) destacam que a população microbiana nativa da rizosfera, que estão adaptadas com as circunstâncias locais, tende a aumentar fundamentalmente devidos às condições propícias ao seu desenvolvimento existente na zona de crescimento das raízes, na qual obtêm os nutrientes necessários ao seu sustento. De acordo com (Cargnelutti *et al.*, 2021) os EM são agentes benéficos, tanto para as plantas quanto para o solo, pois promovem a melhoria da sua qualidade estrutural e a saúde das plantas, de modo a se tornar uma ferramenta indispensável na potencialização da ciclagem de nutrientes e no favorecimento dos processos naturais dos ecossistemas de uma propriedade. Estes complexos microbianos atuam coletivamente na transformação da matéria orgânica do solo, contribuindo para a manutenção da microbiota, a saúde e o equilíbrio do ambiente deste solo, ao atuarem na agregação, qualidade e sanidade do solo, manutenção dos poros, liberação dos nutrientes, fixação de nitrogênio e produção de substâncias protetoras das plantas (Mares Guia, 2018).

Silva *et al.*, (2020) salientam que a presença de EM torna o solo mais biodiverso, tornando plena a capacidade natural de produção do solo. Com isso, acrescentam a melhoria no metabolismo das plantas, da capacidade fotossintética, do crescimento radicular, florescimento, frutificação e maturidade de grãos e frutos (Andrade, 2020). Microrganismos que podem coexistir em culturas mistas e são fisiologicamente compatíveis. Os efeitos positivos de cada uma dessas culturas são substancialmente amplificados quando combinados com o meio ambiente de forma sinérgica (Bajwa, 2005). O termo “microrganismos efetivos” significa um inoculante microbiano que contém numerosas variedades de micróbios benéficos que são encontrados na natureza (Chrispaul *et al.*, 2010).

Esses compostos bioestimulantes (consórcios) podem desempenhar um papel potente frente a outros microrganismos benéficos que podem melhorar a fertilidade do solo, a produtividade das culturas e a qualidade do produto final e atuam na supressividade de fungos e pragas de importância agrícola.

## 5. Material e Métodos

O bioensaio foi realizado no município de Pinto Bandeira, Rio Grande do Sul (Localização: 29° 9'44.59"S; 51°26'23.65"O), situado a uma altitude geométrica de 698 m (SIRGAS 2000), durante o período de setembro de 2020 a junho de 2022. O tipo de clima é Cfb, de acordo com a classificação de Köppen, indicando um clima subtropical úmido de terras altas com verões amenos.

### 5.1 Preparação da Área de Cultivo e Desenho Experimental

O experimento foi conduzido em área de vinhedos com histórico de presença de pérola da terra e com aptidão para replantio de mudas de *Vitis vinifera*. As mudas utilizadas foram da variedade chardonnay enxertadas sobre porta-enxerto paulsen 1103. Toda a área passou por adequada correção de fertilidade, a partir de análise química completa de solo segundo (Silva *et al.*, 1999) e recomendação de correção segundo estabelecido pelo ROLAS. Foram utilizadas mudas de videiras com raízes nuas, em plenas condições sanitárias. O delineamento experimental utilizado no experimento foi de blocos ao acaso compostos por 20 mudas, distribuídas em 4 linhas de 5 mudas, conforme espaçamento usual proposto para o vinhedo. A cada bloco foi aplicado o manejo proposto no berço das mudas, conforme especificidade para cada tratamento.

As coletas de solo para análise biológica dos microrganismos cultiváveis foram realizadas com apoio de um trado calador, na profundidade 0-20 cm, segundo Silva *et al.*, (1999), em abril de 2022. Foram coletadas vinte subamostras nas linhas de plantio para cada diferente tratamento, totalizando 5 amostras. A segunda amostragem de solo, para análise metagenômica, foi realizada em setembro de 2022.

Todas as amostras foram acondicionadas em saquinho plástico devidamente identificado e transportados ao Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas do Instituto de Biotecnologia.

**5.2 Elaboração de produtos “on farm”:** Foram desenvolvidos os compostos (1) complexos microbianos e seus metabólitos – CMM, (2) microrganismos eficientes nativos (EMN), seguindo a metodologia Sartori & Venturin (2016).

#### 5.2.1 Produção do biofertilizante tipo EMN on farm

O EMN caseiro foi produzido a partir de microrganismos capturados a partir da serrapilheira na Mata de Araucária utilizando arroz cozido (700 g) colocado no solo como

isca. Após a captura, o arroz com microrganismos foi acondicionado em uma garrafa plástica e adicionado melão (200 mL) e água (1.800 mL), em temperatura ambiente, e submetido a um processo de fermentação natural por cinco dias (Bonfim *et al.*, 2011).

### **5.2.2 Produção de complexo de microbianos e seus metabólitos – CMM on farm**

A formulação do biofertilizante CMM envolveu a utilização de materiais locais em proporções específicas (v/v): serrapilheira (50%), farelo de trigo (50%), leite (0,01%), açúcar mascavo (0,01%), e água até atingir 50% de umidade, seguindo a metodologia Sartori & Venturin (2016).

### **5.2.3 Microgeo**

O Microgeo (Microgeo Biotecnologia Agrícola) é um condicionador biológico de solo, que propulsiona o início do Processo de Compostagem Líquida Contínua (CLC). Para a elaboração deste composto, o mesmo recebe esterco bovino, portanto ao final do processo deste composto, este apresenta grande diversidade de microrganismos sendo que 89% de bactérias, cujo os principais filos estão dentro dos grupos das Actinobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacterias, Firmicutes e Proteobacterias. O Microgeo é um produto comercial e precisa ser ativado para seu uso. Para tal foi ativado usando 25 kg de Microgeo, 25 kg de esterco fresco de gado, 2 kg de açúcar mascavo e 500 litros de água.

### **5.2.4 Fertilizante de mamona**

A formulação do extrato de mamona (JS Adubos Orgânicos) é produzido a partir de resíduos de sementes de mamona. Foi utilizado 40 kg de fertilizante de mamona em 200 litros de água por 48 horas, com agitação três vezes ao dia. Além das características nutricionais deste produto, este biofertilizante atua no controle de formigas.

### **5.2.5 Outros Insumos**

Outros insumos como hidrogel, Compost Aid e Nem Out também foram utilizados no manejo de *V. vinifera* no berço de plantio.

O hidrogel (Formifuu), é um polímero de origem natural ou sintética com grande capacidade de absorção e retenção de água. Usado especialmente com auxiliar na redução do impacto em estiagens pois quando o solo reduz a disponibilidade de água, o gel formado libera água no solo. O produto usado neste experimento é um polímero natural, oriundo da celulose, com capacidade de absorver 1 litro de água a cada 5g do

produto. Junto com a água absorve quais outras substâncias em solução como nutrientes e microrganismos em meio líquido ou até extratos vegetais e oleosos.

O Compost Aid (Improcrop Do Brasil Ltda.) trata-se de um complexo de microrganismos e enzimas selecionadas, usado como acelerador de compostagem atuando sobre a decomposição da matéria orgânica e como facilitador da multiplicação de microrganismos. Conforme o fabricante sua composição é a base de *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, celulase e amilase.

O produto comercial Nem Aut tem a mesma ação que o Compost Aid, porém sua composição, segundo o fabricante é a base de *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma longibrachiatum*, além de enzimas como celulase, protease e xilanase.

### **5.3 Caracterização e quantificação de microrganismos do solo e de biofermentados em área de vinhedo sob manejo regenerativo**

#### **5.3.1 Análises microbianas dos organismos cultiváveis**

As análises microbiológicas das amostras dos biofertilizantes e solo coletadas envolveram a determinação da contagem total de bactérias heterotróficas, actinobactérias (Ac) e fungos filamentosos (F): 10 gramas de amostras foram diluídas em 90 ml de salina esterilizada e homogeneizadas por quatro horas em agitador orbital (15 rpm). As amostras foram imediatamente diluídas em salina nas diluições  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$  e plaqueadas. Para avaliação de bactérias as amostras foram plaqueadas em meio LB contendo 50 mg/L de natamicina. Para avaliação de fungos as amostras foram plaqueadas em meio Batata Dextrose Agar contendo 50 mg/L de cloranfenicol, 100 mg/L de ampicilina e 50 mg/L de estreptomicina. As placas bacterianas foram incubadas a 28°C em condição microaerofílica, enquanto as placas para fungos foram incubadas a 28°C com fotoperíodo de 16 horas-luz. As contagens foram realizadas quando as colônias apresentaram desenvolvimento compatível para contagem e isolamento (2 a 5 dias).

#### **5.3.2 Identificação de microrganismos por sequenciamento genético**

A classificação dos isolados bacterianos (três isolados de cada morfologia colonial) foi realizada através da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR- *Polymerase Chain Reaction*) e posterior sequenciamento do gene 16S rDNA parcial ou ITS. Os produtos de PCR foram tratados com as enzimas *exonuclease I* (0,5 U/ $\mu$ L) e *shrimp alkaline phosphatase* (0,05 U/ $\mu$ L) antes do sequenciamento. A reação de sequenciamento foi realizada com o kit *BigDye Terminator v3.1 Sequencing Kit* (Thermo Fisher Scientific)

seguindo as recomendações do fabricante e adicionando 0,25 µM dos *primers forward* ou *reverse* e aproximadamente 100 ng de produto de PCR purificado. As amostras foram amplificadas em termociclador, após as amostras foram purificadas com o *BigDye X Terminator Purification Kit* (Thermo Fisher Scientific), conforme especificado pelo fabricante e analisadas no sequenciador 3500 *Genetic Analyzer* (Thermo Fisher Scientific). Os dados foram coletados pelo programa *Data Collection* (Thermo Fisher Scientific). Para a identificação dos isolados as sequências obtidas foram comparadas com sequências depositadas no banco de dados GenBank (sentidos *forward* e *reverse*). As sequências obtidas foram editadas (por meio da comparação das sequências *forward* e *reverse*) utilizando o programa de alinhamento de sequências biológicas BioEdit 7.7 *Informer Technologies, Inc.* Em seguida, as mesmas foram comparadas com as sequências depositadas no GenBank NCBI (*National Institute of Health – NIH*) através da similaridade entre as regiões de nucleotídeos avaliadas e a significância estatística entre elas por meio do programa nBLAST (*Basic Local*).

### **5.3.3. Metagenômica das amostras**

A análise metagenômica foi realizada em duas amostras selecionadas para dados comparativos: tratamento controle (apenas solo) e amostra T5 (sistema alternativo II). Estas amostras foram coletadas dezoito meses após a amostragem e avaliação da microbiota cultivável.

Assim, o solo das amostras foi misturado mecanicamente e uma alíquota de 250 mg foi utilizada para extração do DNA total. Esta extração se deu com uso de kits DNeasy 96 PowerSoil Pro Kit, da QIAGEN e posterior análise de sequenciamento pela técnica dPCR. A partir deste DNA, foram amplificados os genes 16S rRNA (para análise de bactérias) e ITS (para análise de fungos) por meio da plataforma Illumina MiSeq (Illumina, Inc., San Diego, USA). As sequências genéticas obtidas foram processadas e comparadas a bancos de dados de fungos e bactérias para a identificação e quantificação das espécies presentes na amostra a partir da Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria (CBMAI) da Unicamp e do MicroBioBank da Central de Recursos Microbianos da Unesp (CRM-UNESP).

Os resultados são expressão em abundância relativa (*ar*) definido pelo percentual. São consideradas relativas por corresponderem à proporção daquele microrganismo dentre todos do grupo a que ele pertence, sendo, portanto, a quantidade de indivíduos de uma espécie em relação ao número total de indivíduos de todas as espécies em uma amostra. A abundância relativa (em percentual) é considerada significativa quando seus

valores são 3 vezes superiores aos encontrados nos bancos de dados de solos brasileiros.

#### 5.4 Tratamentos e variáveis analisadas

Foram avaliados os tratamentos:

(T1) Controle, com plantio de mudas sem nenhum insumo biológico;

(T2) Sistema proposto por empresas produtoras de insumos biológicos: Plantio de mudas com aplicação de *Trichoderma* sp por imersão do sistema radicular em dosagem de 1 ml/litro e aplicação de *Metarhizium* sp + *Beauveria bassiana* + *Paecilomyces fumosoroseus* no berço em dosagem de 1ml/litro de cada. Aplicação de um litro por planta e repetição dos 3 mensalmente após o transplante, por 6 meses.

(T3) Sistema adaptado ao proposto pela Embrapa Uva e Vinho, com plantio de mudas com aplicação de Hidrogel® 5 g/planta + açúcar 50 g / L + bioinseticida a base de Neem 2 ml/L, por imersão do sistema radicular. Aplicação de no berço de Compost Aid® 3 g/planta + Nem Out® 3 g/planta + *Trichoderma* 0,6 m / planta e Microgeo® 1l/planta, posteriormente aplicação mensal por 6 meses;

(T4) Sistema alternativo I. Plantio de mudas com aplicação de *Trichoderma* sp por imersão do sistema radicular em dosagem de 1ml/litro e com aplicação de Hidrogel® 5g/planta + bioinseticida a base de Neem 2 ml/litro, no berço de plantio. Aplicação no plantio e após, nos meses de novembro de 2020, janeiro, março, setembro e novembro de 2021, e janeiro e março de 2022 de multiplicação de complexos microbianos e seus metabólitos – CMM, 100ml/litro + EMN 10ml/litro, aplicando 1litro por planta

(T5) Sistema alternativo II. Plantio de mudas com aplicação de *Trichoderma* sp por imersão do sistema radicular em dosagem de 1ml/litro e com aplicação de Hidrogel® 5 g/planta + bioinseticida a base de Neem 2 ml/litro, no berço de plantio. Aplicação no plantio e após, nos meses de novembro de 2020, janeiro, março, setembro e novembro de 2021, e janeiro e março de 2022 de multiplicação de complexos microbianos e seus metabólitos – CMM, 100ml/litro + Extrato de Torta de Mamona 50 g/litro + Microgeo® 1l / planta. Associado a aplicação de *Metarhizium* + *Beauveria bassiana* + *Paecilomyces fumosoroseus* no berço em dosagem de 1ml/litro de cada. Aplicação de um litro por planta e repetição dos 3 mensalmente após o transplante, por 6 meses.

Tratamentos	Imersão de raízes	Inoculação no berço de plantio	Aplicações mensais/periódicas
T1	-	-	-
T2	<i>Trichoderma</i> sp	<i>Metarhizium</i> sp + <i>Beauveria bassiana</i> + <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	<i>Metarhizium</i> sp + <i>Beauveria bassiana</i> + <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
T3	Hidrogel® + açúcar bioinseticida	Compost Aid® + Nem Out® + <i>Trichoderma</i> sp e Microgeo®	Compost Aid® + Nem Out® + <i>Trichoderma</i> sp e Microgeo®
T4	<i>Trichoderma</i> sp + Hidrogel®	CMM + EMN	CMM + EMN
T5	<i>Trichoderma</i> sp	<i>Trichoderma</i> sp + bioinseticida	CMM + Extrato de Mamona + Microgeo® + <i>Metarhizium</i> + <i>Beauveria bassiana</i> + <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>

**Figura 1.** Diferentes tratamentos na avaliação da supressividade de *Eurhizococcus brasiliensis*

#### 5.4.1 Variáveis avaliadas a campo

Foi avaliado o desenvolvimento vegetativo das plantas teste, com medições e contagem de folhas a cada 15 dias até o final do ciclo vegetativo. Para tal foi utilizada a metodologia proposta por (Borghazan *et al.*, 2011), onde foi selecionado um ramo por muda e selecionadas 10 mudas por bloco. Nos ramos selecionados foi medido o comprimento total, estabelecendo a média de crescimento por bloco e apresentado ao final na forma de curva de crescimento. Foram avaliadas possíveis manifestações de sintomas visuais de clorose internerval, característica de consequência do ataque da pérola da terra, conforme descrito por (Naves, 2005). Para tanto, nas plantas selecionadas para a medição do desenvolvimento vegetativo, as folhas sintomáticas foram avaliadas a cada 30 dias. Foi também avaliado a quantidade de cistos de pérola-da-terra nas plantas junto aos distintos tratamentos.

#### 5.5 Avaliação da população da pérola da terra

A população de cistos da pérola da terra nas raízes das plantas de videira foi avaliada na segunda quinzena de abril de 2022. Este período do ano foi escolhido para avaliação, pois os cistos estão mais desenvolvidos, facilitando a contagem (Teixeira *et al.*, 2002). No experimento, foram avaliadas dez plantas por repetição. Para tal procedimento, as plantas foram arrancadas com pá de corte, sendo retirado um bloco de 20 cm X 20 cm X 30 cm, onde estava a planta e o maior número de raízes. As plantas, com a terra, foram colocadas numa base escura para facilitar a contagem das ninfas da pérola da terra nas raízes e no solo.

**5.6 Análise estatística:** A análise estatística será realizada com auxílio do programa computacional Sistema para Análise de Variância SISVAR (Ferreira, 2000). Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de Levene (homocedasticidade) e ao Teste de Shapiro-Wilk (normalidade dos resíduos), seguido de Análise de Variância (ANOVA). Posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro utilizando o software AgroEstat® (Brasil).

## 6. Resultados e discussão

Os destaques da avaliação dos microrganismos cultiváveis das amostras dos diferentes biofermentados estão apresentados nas Tabela 1 e 2. Estes resultados exibem a caracterização dos microrganismos cultiváveis de toda a comunidade microbiana das diferentes formulações e de amostras de solo do vinhedo.

Na identificação dos fungos cultiváveis da comunidade microbiana do composto EMN, observou-se que as colônias de fungos foram classificadas principalmente pelo gênero *Mucor*. Até o momento, são escassos os trabalhos sobre investigação da diversidade de microrganismos a partir de biofermentados *on farm*. (Santos *et al.*, 2020) identificaram diferentes espécies de fungos, a partir de biofermentados EMN de diferentes procedências, e foram identificados os gêneros *Candida* (98%), *Penicillium* (2%), *Uwebraunia* (2%), *Fusarium* (1%), *Peniophora* (1%) e alguns não foram identificados.

Tabela 1. Número total e diversidade de espécies de fungos identificadas a partir de diferentes biofermentados *on farm* ou produtos comerciais utilizados no manejo da videira

Gêneros	Total UFC/g de amostra				
	CMM 2,5 x 10 <sup>3</sup>	EMN 3,5 x 10 <sup>4</sup>	Solo 13,0 x 10 <sup>4</sup>	Solo + MCM+EMN 10,5 x 10 <sup>4</sup>	Solo +MCM + Microgeo 11,13 x 10 <sup>4</sup>
<i>Aureobasidium pullulans</i>	-	-	1,0 x 10 <sup>4</sup>	-	-
<i>Clonostachys rosea</i>	-	-	1,0 x 10 <sup>3</sup>	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	2,0 x 10 <sup>4</sup>	-	2,5 x 10 <sup>4</sup>
<i>Fusarium solani</i>	-	-	-	8,5 x 10 <sup>4</sup>	-
<i>Mucor circinelloides</i>	-	1,0 x 10 <sup>4</sup>	-	1,0 x 10 <sup>4</sup>	2,0 x 10 <sup>3</sup>
<i>Mucor fragilis</i>	-	1,0 x 10 <sup>4</sup>	-	1,0 x 10 <sup>4</sup>	6,0 x 10 <sup>3</sup>
<i>Mucor racemosus</i>	-	1,5 x 10 <sup>4</sup>	3,0 x 10 <sup>4</sup>	-	3,0 x 10 <sup>4</sup>
<i>Mucor</i> sp.	-	-	-	-	5,0 x 10 <sup>4</sup>
<i>Trichoderma</i> sp.	-	-	2,0 x 10 <sup>4</sup>	-	-
N determinado	-	-	5,0 x 10 <sup>4</sup>	-	1,0 x 10 <sup>4</sup>

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

A partir da metodologia de análise dos microrganismos não foi isolado nenhum fungo das amostras de CMM. (Tabela 1). Este dado pode ser justificado devido à quantidade reduzida ou nula de oxigênio durante o primeiro processo de fermentação deste biofertilizante. Deffur *et al.*, (2024), verificaram que a baixa concentração de oxigênio interfere sobre o desenvolvimento de fungos filamentosos.

O gênero *Fusarium* foi identificado em todos os tratamentos das amostras de solo (tratamento controle com 2,0 x 10<sup>4</sup> UFC/g *Fusarium oxysporus*), tratamento Solo + CMM+EMN apresentando 8,5 x 10<sup>4</sup> UFC/g da espécie *Fusarium solani* e tratamento Solo

+CMM + Microgeo com  $2,5 \times 10^4$  UFC/g da espécie *Fusarium oxysporus*. Apesar do elevado número de colônias de *F. solani*, nenhuma das mudas de videira apresentou sintomas de fusariose. No tratamento controle (solo) foram identificados fungos antagônicos dos gêneros *Trichoderma* sp., *Aureobasidium pullulans* e *Clonostachys rosea*, o que pode justificar a ação supressiva sobre possíveis fungos fitopatogênicos.

Na avaliação da diversidade da microbiota fúngica do composto caseiro EMN, foram identificadas espécies de fungos do grupo *Zygorulasporea*, como *Z. florentina*, *P. nakasei*, *H. uvarum*, *Mortierella* sp., *Pichia nakasei*, *Hanseniaspora uvarum* e *Mortierella* sp durante processos fermentativos do EMN caseiro. Também foi verificado que espécies dos gêneros *Pichia* (Fleet, 2003) e *Zygorulasporea* (Lencioni *et al.*, 2016) afetam o crescimento de *S. cerevisiae*, tanto pela competição quanto pela produção de compostos inibitórios.

Espécies do gênero *Mucor* são reconhecidos por produzirem uma ampla gama de enzimas que lhes conferem a capacidade de degradar a matéria orgânica a partir de diferentes biomassas. Este gênero possui elevado potencial reprodutivo para exploração bem-sucedida em áreas com condições ricas em nutrientes, até mesmo em estágios iniciais da sucessão ecológica. (Voigt *et al.*, 2016), (Morin-Sardin *et al.*, 2017). Estas características ecológicas do gênero *Mucor* explicam a prevalência desta espécie nas amostras que receberam tratamentos com Complexos Microbianos e seus Metabólitos (CMM), Microrganismos Eficientes Nativos (EMN), Extrato de Torta de Mamona e Microgeo.

A quantificação e identificação de bactérias podem ser observadas na tabela 2. A menor quantidade e diversidade de bactérias foi amostrada no biofermentado CMM ( $2,5 \times 10^3$  UFC/g), representada pelos gêneros *Bacillus mycoides* e *Acinetobacter dispersus*.

No biofermentado EMN o número de bactérias identificadas foi de  $25,5 \times 10^6$  UFC/g representadas principalmente pelo gênero *Lactobacillus lactis* ( $16,0 \times 10^6$  UFC/g), seguida por espécies de *Bacillus* (Tabela 1). Possivelmente o substrato a base de arroz utilizado para capturar microrganismos da serrapilheira foi altamente eficiente para selecionar a elevada quantidade de *L. lactis* deste ambiente.

Segundo Bonfim *et al.*, (2011) bactérias lácticas são comumente encontradas em ambientes fermentativos de produtos EM comercial. Este dado também corrobora com os resultados identificados no presente trabalho, com relação a quantidade de bactérias lácticas.

Diering *et al.*, (2022), avaliaram a diversidade da microbiota proveniente da tecnologia caseira de captura e multiplicação de microrganismos nativos eficientes (EMN), e verificaram maior diversidade microbiana quando comparado ao produto comercial

EM1®, foram identificadas quatro espécies de fungos e 33 espécies de bactérias nas amostras do EMN, e no produto comercial EM1 uma espécie de fungo (levedura) e duas espécies de bactérias lácticas.

Preparações de inoculantes caseiros, baseadas em métodos eficientes para captura microrganismos, podem conter diversas espécies no chamado complexo microbiano. Por exemplo, (Higa e Wididana, 1991) observaram mais de 80 espécies de 10 gêneros diferentes de microrganismos em uma preparação de EM. Em trabalhos realizados no Brasil, há variação na diversidade microbiana dos inoculantes. (Santos *et al.*, 2020).

Tabela 2. Número total e diversidade de espécies de bactérias identificadas a partir de diferentes biofermentados *on farm* ou produtos comerciais no manejo da videira

Gêneros	Total UFC/g de amostra				
	CMM 2,5 x 10 <sup>3</sup>	EMN 25,5 x 10 <sup>6</sup>	Solo 13,35 x 10 <sup>6</sup>	Solo + CMM+EMN 21,7 x 10 <sup>6</sup>	Solo +MCM + Microgeo 69,35 x 10 <sup>6</sup>
<i>Acinetobacter bohemicus/A. kyonggiensis</i>	-	-	-	-	4 x 10 <sup>6</sup>
<i>Acinetobacter dispersus</i>	1,5 x 10 <sup>2</sup>	-	-	18,5 x 10 <sup>6</sup>	-
<i>Acinetobacter johansonii</i>	-	-	-	0,75 x 10 <sup>6</sup>	-
<i>Bacillus aryabhatai</i>	-	-	2,0 x 10 <sup>4</sup>	-	-
<i>Bacillus horikoshii</i>	-	-	-	0,75 x 10 <sup>5</sup>	-
<i>Bacillus megaterium</i>	-	-	2,5 x 10 <sup>6</sup>	-	-
<i>Bacillus megaterium/B. aryabhatai</i>	-	-	-	-	1,5 x 10 <sup>6</sup>
<i>Bacillus mycooides/ B. thuringiensis</i>	-	-	-	5,0 x 10 <sup>5</sup>	2,5 x 10 <sup>6</sup>
<i>Bacillus mycooides</i>	2,5 x 10 <sup>3</sup>	2,5 x 10 <sup>6</sup>	-	-	-
<i>Bacillus pumilus</i>	-	-	8,5 x 10 <sup>6</sup>	-	-
<i>Bacillus simplex</i>	-	-	-	1,0 x 10 <sup>6</sup>	43,0 x 10 <sup>6</sup>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	-	5,5 x 10 <sup>5</sup>	-	-	-
<i>Comamonas sp.</i>	-	-	-	-	17,0 x 10 <sup>6</sup>
<i>Kuyvera sp.</i>	-	-	-	-	1,75 x 10 <sup>6</sup>
<i>Lactobacillus lactis</i>	-	16,0 x 10 <sup>6</sup>	-	-	-
<i>Microbacterium aerolatum</i>	-	-	-	3,5 x 10 <sup>5</sup>	-
<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	-	-	1,0 x 10 <sup>4</sup>	-	-
<i>Pseudomonas vancoverensis/P. fluorescens</i>	-	-	-	6,5 x 10 <sup>5</sup>	-

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

As análises da composição de microrganismos mostram que a microbiota das diferentes formulações é dominada por espécies do domínio Bactéria compreendendo mais de 99% do perfil taxonômico neste grupo. (Guo *et al.*, 2019) relataram a presença dos gêneros bacterianos mais abundantes, como *Flavobacterium*, *Sphingobacterium*, *Bacillus* e *Methylothera* na fase final da compostagem de resíduos.

Na avaliação do estágio de maturação de EMN, fermentação do composto pode inibir bactérias patogênicas e favorecer a sobrevivência de bactérias benéficas, em particular a abundância relativa de bactérias benéficas. Normalmente o gênero *Bacillus* é uma bactéria dominante na fase termofílica, e está intimamente associado ao metabolismo de aminoácidos (Zhang *et al.*, 2018).

É importante enfatizar que nenhuma das amostras analisadas continha gêneros bacterianos patogênicos como *Escherichia* sp., *Klebsiella* sp., *Salmonella* sp. ou *Clostridium* sp. Este resultado ressalta a eficácia do processo de fermentação aeróbica e anaeróbia nas amostras de EMN e CMM. Isto também poderia sugerir a ausência potencial de contaminantes biológicos nos diferentes substratos utilizados (Tabela 1).

Nas amostras de solo foi identificado um valor expressivo de *Bacillus pumilus* ( $8.5 \times 10^6$  UFC/g). O mesmo é uma bactéria Gram-positiva formadora de esporos, que comumente ocorre em vários ambientes, incluindo sedimentos de águas profundas e solo (Yakovleva *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022). Apresenta resistência significativa a estresses ambientais (Nicholson *et al.*, 2000). é classificado como uma bactéria promotora do crescimento de plantas (De-Bashan *et al.*, 2010; Kaushal *et al.*, 2017). Atua na promoção de crescimento das plantas, a partir da produção de auxinas, por exemplo, ácido indol-3-acético e outros metabólitos (Bessai *et al.*, 2022; Mirskaya *et al.*, 2022). Esta espécie é utilizada no controle de doenças de plantas, cujo o seu modo de ação dessa espécie é baseado em competição por nutrientes e espaço, também podendo estimular o sistema de defesa da planta. *B. pumilus* age de forma preventiva e busca impedir o progresso da doença, principalmente contra o desenvolvimento de oídios, míldios, ferrugens e outros patógenos em cereais, frutíferas, hortaliças e uva (Coping, 2009, Bargabus *et al.*, 2004).

A bactéria *Bacillus thuringiensis* ( $5,5 \times 10^5$  UFC/g) foi identificada apenas no complexo microbiológico de EMN. *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) é uma bactéria Gram-positiva, aeróbia, em forma de bastonete e esporulante que foi isolado em uma grande diversidade de ecossistemas, incluindo solo, água, e insetos mortos. As cepas *Bt* produzem uma grande variedade de proteínas ativas com atividade inseticida. Isso fez com que os produtos à base de *Bt* se tornassem os inseticidas biológicos mais vendidos no mundo (Palma *et al.*, 2014).

Uma quantidade representativa de *Bacillus simplex* ( $43 \times 10^6$  UFC/g) foi isolada de amostras de Solo +CMM + Microgeo. *B. simplex* é uma bactéria Gram-positiva, em forma de bastonete, móvel e formadora de esporos que vive no solo. As células em crescimento formam uma formação semelhante a uma cadeia e estruturas adormecidas chamadas endósporos (esporos). Filogeneticamente é mais semelhante a *B. megaterium* e *B. muralis* (Liu *et al.*, 2016), ambos os quais podem ser isolados globalmente do solo.

Observou-se que *B. simplex* possui propriedades de promoção do crescimento de plantas (Al-Sman *et al.*, 2019 e Hansen *et al.*, 2020).

O gênero *Comamonas* sp. ( $17 \times 10^6$  UFC/g) foi isolada do tratamento Solo +CMM + Microgeo. Estas bactérias são bacilos Gram-negativos não fermentadores. O habitat natural destas bactérias é o solo, águas residuais/lodos, água doce, como lagoas e rios, e o microbioma intestinal animal. Eles também foram isolados de ambientes industriais, como lodo ativado e solo poluído. *Comamonas* spp. estão associados à biorremediação ambiental e são considerados uma bactéria ambiental importante (Ryan *et al.*, 2022).

A maior quantidade de bactérias identificadas em amostras de Solo + CMM+EMN corresponde a *Acinetobacter dispersus* ( $18,5 \times 10^6$  UFC/g). *A. dispersus* pertence a classe proteobactéria, e compreende bactérias saprófitas Gram-negativas, aeróbias, crescem em distintos ambientes, necessitando de poucas condições para seu crescimento, já que utiliza uma larga variedade de substratos como fontes de carbono. A maioria das espécies de *Acinetobacter* são onipresentes no meio ambiente (solo, água, lodos, sementes, plantas, várias espécies de animais), (Nemec *et al.*, 2015, Rooney *et al.*, 2016, Meier-Kolthoff *et al.*, 2022).

A prevalência de *Bacillus simplex* e *Comamonas* sp ocorreu apenas nas amostras de solo que receberam os compostos MCM, Microgeo®, Hidrogel e Extrato de Torta de Mamona. Este resultado pode estar envolvido devido a elevada quantidade de complexos microbianos. Sugere-se que a introdução de uma fonte adicional de biomassa teve um efeito estimulante sobre o número de microrganismos do solo caracterizados pela capacidade de decompor orgânicos complexos.

A maior diversidade do gênero *Bacillus* foi identificada nas distintas amostras de solo. Segundo Mehta *et al.*, (2014), microrganismos associados a produtos compostados são frequentemente encontrados na camada superficial do solo e, normalmente a maioria das bactérias e fungos do composto são detectados após incorporação no solo (Luo *et al.*, 2022). O gênero *Bacillus*, também pertencente ao filo Firmicutes, é muito bem estudado pelo efeito benéfico no crescimento das plantas e pelo antagonismo a espécies fitopatogênicas, além de produzir ácidos orgânicos e hormônios vegetais (Kumar *et al.* 2012).

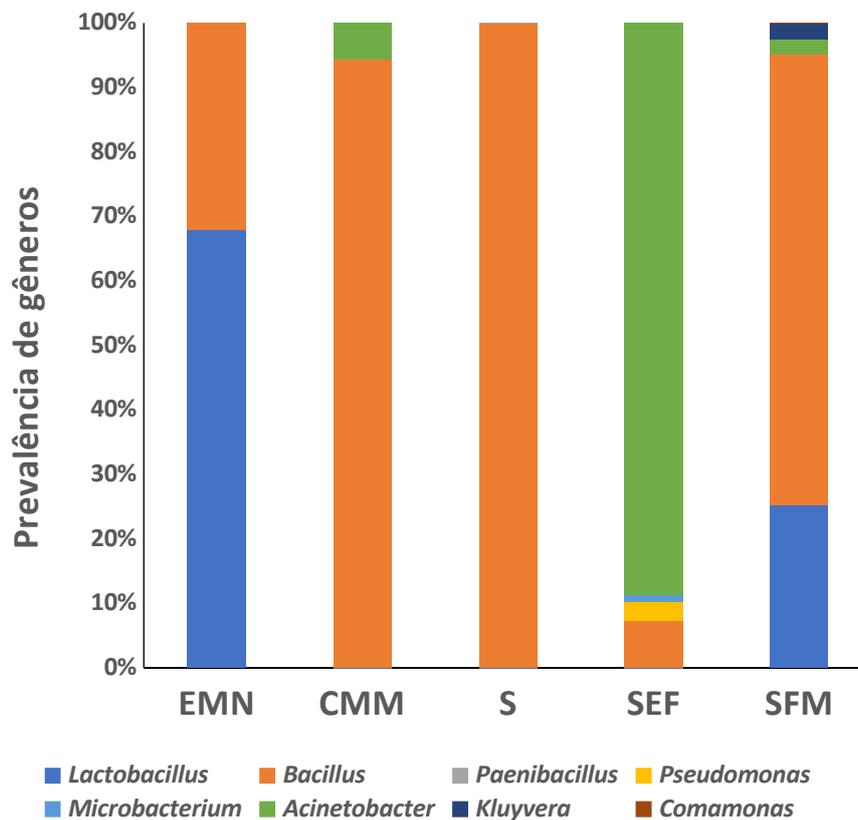


Figura 2. Diversidade de gêneros de bactérias identificadas nos diferentes tratamentos. Microrganismos +Eficientes (EM), multiplicação de complexos microbianos e seus metabólitos (CMM=FC), Solo (S), SEF= Solo + EMN+CMM, SFM= Solo +CMM + Microgeo

Os principais grupos identificados nas amostras de EMN (EM), CMM (FC), solo, SEF e SFM (Microgeo) estão representados principalmente pelos filos Firmicutes, Proteobacteria, seguidos por *Mycobacterium* e Pseudomonadota dentre outros. No filo Firmicutes foram identificados os gêneros *Bacillus*, *Lactobacillus* e *Paenibacillus*. (Figura 1). Segundo os resultados obtidos por Gaggia *et al.*, (2013) na avaliação via sequenciamento do EM•1® em que foram identificadas cepas de *Lactobacillus*. Essas bactérias lácticas são comumente encontradas nos produtos comerciais de EM, e são habituais de ambientes fermentativos.

Também foram identificados os gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Comamonas*, representantes do Filo Proteobacteria, seguidos pelo gênero *Mycobacterium* – Filo Actinomycetota e *Kluyvera* Filo Pseudomonadota.

Na amostra solo manejado com complexos microbianos e seus metabólitos e microrganismos eficientes nativos, foi identificado principalmente o gênero *Acinetobacter*. Segundo Muleshkova *et al.*, (2024), as bactérias do gênero *Acinetobacter* possuem alta adaptabilidade aos diferentes nichos ecológicos, são amplamente distribuídos em vários ambientes, incluindo solos férteis e não férteis, água doce, resíduos sólidos dentre outros substratos, além de laticínios. Carvalheira *et al.*, (2017), Valizade *et al.*, (2014). Esta característica pode explicar a elevada quantidade deste gênero identificado no presente

trabalho. Espécies do gênero *Acinetobacter* também são reconhecidas como solubilizadoras de fosfato (Ogut & Kandemir 2010), promotores do crescimento das plantas Kour *et al.*, (2023), responsáveis pelo processo de fermentação (Şanlıer *et al.*, 2019). E segundo Yin *et al.*, (2024), o gênero *Acinetobacter*, possui bactérias dominantes na fase de fermentação aeróbica.

Mendes & Reis Junior (2003) verificaram que bactérias lácticas, como o gênero *Lactobacillus* presente em NEM e EM1® comercial, atuam como solubilizadores de fósforo e que P favorece o crescimento de diversos microrganismos. Este resultado pode explicar o número expressivo do gênero *Bacillus* identificado nas diferentes amostras deste trabalho.

A mudança da composição da microbiota do solo foi favorecida de maneira positiva a partir do uso de complexos microbianos. Isto leva a um favorecimento sobre a resiliência, dos microrganismos nativos do solo, especialmente em solos argilosos e solos com alta diversidade microbiana e conteúdo de matéria orgânica (Mayer *et al.*, 2010; Messiha *et al.*, 2007).

As actinobactérias são conhecidas pela capacidade de produzir uma grande variedade de enzimas extracelulares, proteínas e fitohormônios (Barka *et al.*, 2015). Dentro do filo Actinobacteria, os membros da ordem Actinomycetales são importantes produtores de antibióticos (Barka *et al.*, 2015).

O filo Proteobacteria, incluindo a ordem Burkholderiales, é formado por bactérias promissoras ao setor agrícola pela capacidade de produzir reguladores de crescimento, sideróforos e exoheteropolissacarídeo (Ring *et al.*, 2016). Neste estudo encontramos bactérias da família Pseudomonadaceae, filo Proteobacteria, importantes no controle biológico e na produção de AIA (Dharni *et al.*, 2014).

Assim, a produção de preparados a base de EMN ou CMM por meio da tecnologia caseira, não permite que seja exercido uma captura totalmente eficiente da diversidade de organismos que se deseja multiplicar, além do que, a diversidade de microrganismos do produto final vai depender das características do local de captura e dos cuidados no momento da seleção das colônias a serem multiplicadas. Muito embora sejam seguidas as recomendações técnicas a respeito das práticas de captura e multiplicação de EM por meio da tecnologia caseira, é comum constatar-se significativas diferenças na diversidade de espécies de microrganismos presentes em inoculantes caseiros oriundos de diferentes localidades.

Por meio da avaliação criteriosa do índice de Simpson foi possível determinar e quantificar a diversidade dos ecossistemas avaliados, verificando que a amostra SFM possuiu a maior diversidade de microrganismos cultiváveis (0,447). De forma similar o

índice de diversidade de Shannon mostrou que o substrato SFM possui a maior diversidade de microrganismos cultiváveis entre as amostras avaliadas (0,778), enquanto a amostra que continha somente solo apresentou a menor diversidade (0,006). Segundo a avaliação da equabilidade de Pielou para determinar a uniformidade da diversidade dos microrganismos cultiváveis, o presente estudo mostrou maior uniformidade (90,6%) na amostra ENM e menor uniformidade na amostra contendo somente solo (0,9%). (Tabela 3).

Tabela 3: Índice de diversidade dos microrganismos cultiváveis. EMN= Microrganismos eficientes nativos. CMM= Complexos microbianos e seus metabólitos (fermento crioulo). S= Solo. SEF= Solo + EMN + CMM. SFM= Solo + CMM + Microgeo.

	<b>Simpson (1-D)</b>	<b>Shannon (H')</b>	<b>Equibilidade de Pielou (J)</b>
EMN	0,436	0,628	0,906
CMM	0,107	0,218	0,314
S	0,002	0,006	0,009
SEF	0,209	0,454	0,327
SFM	0,447	0,778	0,483

Assim, a redução da diversidade no ecossistema da amostra contendo somente o solo foi mostrada pelos índices de Simpson e Shannon, além da menor uniformidade apresentado pela equabilidade de Pielou (índice derivado do Shannon). Além disso, nestes índices, prevalece a avaliação em consideração ao número de espécies e também as espécies dominantes, o que nos mostra a maior diversidade em substratos como SFM e EMN.

Os resultados das análises metagenômicas estão apresentados na Tabela 4. Os mesmos representam os resultados de amostras de solo (tratamento controle) e tratamento T5, que recebeu uma diversidade de complexos nutricionais e microbianos, e não foram identificadas folhas com sintomas de doença nas mudas de *Vitis vinifera*. Dessa maneira, esse foi o principal motivo para a escolha dessas amostras para a análise de sequenciamento genético.

Cabe ressaltar que foram identificadas sequências genéticas de organismos relacionados ao biocontrole de pragas nessa amostra controle com ação fungicida e bactericida, como pode ser visto na Tabela 4.

Tabela 4. Abundância relativa dos principais microrganismos identificados via sequenciamento genético do tratamento controle e T5

	Solo	T5
<b>Bactérias fixadoras de nitrogênio</b>		
<i>Rhodomicrobium</i> sp <sup>*pc</sup>	-	0,81
<i>Hyphomicrobium zavarzinii</i> <sup>*pc</sup>	-	0,70
<i>Clostridium</i> sp <sup>*pc</sup>	0,63	0,63
<i>Bradyrhizobium</i> sp <sup>*pc, *pf</sup>	0,55	0,55
<i>Hyphomicrobium</i> sp <sup>*pc</sup>	-	0,46
<i>Microvirga</i> sp	-	0,35
<i>Paenibacillus</i> sp	-	0,21
<i>Rhizobium</i> sp	-	0,10
<b>Bactérias solubilizadoras de nutrientes</b>		
<i>Streptomyces</i> sp <sup>*pf</sup>	-	1,55
<i>Priestia</i> sp	1,02	1,02
<i>Micromonospora</i> sp	0,91	0,91
<i>Bradyrhizobium</i> sp <sup>*pf</sup>	0,55	0,56
<i>Streptomyces griseocarneus</i>	-	0,35
<b>Fungos solubilizadoras de nutrientes</b>		
<i>Aspergillus</i> sp <sup>*pf</sup>	2,26	2,26
<i>Mortierella capitata</i>	2,16	2,16
<i>Mortierella elongata</i>	1,01	1,01
<i>Penicillium menorum</i>	-	0,48
<i>Trichoderma</i> sp	0,19	0,19
<b>Bactérias produtoras de sideróforos</b>		
<i>Mycobacterium</i> sp <sup>*pf</sup>	0,68	0,58
<b>Fungos produtores de sideróforos</b>		
<i>Rhizopus arrhizus</i> <sup>*pf</sup>	6,25	6,25
<i>Aspergillus</i> sp <sup>*pf</sup>	-	2,26
<i>Mortierella capitata</i> <sup>*pf</sup>	-	2,16
<i>Mortierella elongata</i> <sup>*pf</sup>	-	1,01
<i>Trichoderma</i> sp	0,19	0,19
<b>Bactérias promotoras de crescimento</b>		
<i>Nocardioides</i> sp	-	1,86
<i>Streptomyces</i> sp <sup>*pf</sup>	1,55	1,55
<i>Nocardioides cynanchi</i>	-	1,14
<i>Priestia</i> sp	-	1,02
<i>Micromonospora</i> sp	-	0,91
<i>Rhodomicrobium</i> sp <sup>*pc</sup>	-	0,81
<i>Hyphomicrobium zavarzinii</i>	0,70	-
<i>Clostridium</i> sp	0,63	-
<i>Bradyrhizobium</i> sp <sup>*pf</sup>	0,55	-
<i>Hyphomicrobium</i> sp	0,46	-
<i>Streptomyces griseuscarneus</i>	0,35	-

<b>Fungos promotores de crescimento</b>		
<i>Chaetomium</i> sp	7,42	7,42
<i>Mortierella capitata</i> <sup>*pf</sup>	2,16	2,16
<i>Mortierella elongata</i> <sup>*pf</sup>	1,01	1,01
<b>Bactérias com atividade de biocontrole</b>		
<i>Nocardioides</i> sp	1,86	1,86
<i>Streptomyces</i> sp	-	1,55
<i>Nocardioides cynanchi</i>	1,14	1,14
<i>Micromonospora</i> sp	0,91	0,91
<i>Clostridium</i> sp <sup>*pc</sup>	0,63	0,63
<b>Fungos com atividade de biocontrole</b>		
<i>Chaetomium</i> sp	7,42	7,42
<i>Aspergillus</i> sp <sup>*pf</sup>	2,26	2,26
<i>Mortierella capitata</i> <sup>*pf</sup>	2,16	-
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	1,08	1,08
<i>Mortierella elongata</i> <sup>*pf</sup>	1,01	-
<i>Phialophora cyclaminis</i>	-	0,47
<b>Fungos fitopatogênicos</b>		
<i>Fusarium oxysporum</i>	7,11	-
<i>Fusarium</i> sp	5,72	-
<i>Gibellulopsis piscis</i>	5,24	-
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	1,08	
<i>Nigrospora</i> sp	-	1,08
<i>Nigrospora oryzae</i>	-	0,55

\*pc= promotores de crescimento, pf= produtores de fitormônios

Assim, apesar de a amostra controle não ter contaminação, o sequenciamento genético (16S rDNA e ITS) determinou a presença de 38 gêneros de microrganismos considerados patogênicos. Destes, os mais abundantes no controle, foram: I- *Fusarium* sp (abundância relativa (ar)=5,72\*) que causa a fusariose em diversas culturas e II- *Gibellulopsis piscis* (ar=4,24\*) causador da murcha de *Verticillium* em muitas cultivares. Enquanto a amostra T5 identificou por meio do sequenciamento genético apenas 17 gêneros de microrganismos fitopatogênicos e nenhum com abundância estatística considerável quando comparada ao valor médio para a espécie no banco de dados. Este fato nos remete aos dados da identificação microbiológica e filogenética deste estudo, onde foi possível determinar que a amostra T5 possui atividade supressiva a organismos fitopatogênicos. O \* se refere a resultados específicos para a amostra e com abundância relativa considerável (acima de 3).

Como era esperado, a amostra controle apresentou uma variedade de bactérias benéficas para a saúde da planta. Muitas delas são fixadoras de nitrogênio atmosférico,

facilitando a absorção de nutrientes da planta diretamente do solo pelas raízes. Destas, a mais prevalente em comparação com amostra de solo sem contaminação foi a *Clostridium* sp (ar=0,63\*). Além disso, o sequenciamento determinou que a amostra T5 também contou com muitos microrganismos fixadores de nitrogênio atmosférico e de forma mais prevalente que o controle. Os mais abundantes na avaliação em comparação com o banco de dados foram: I- *Clostridium* sp (ar=0,63\*), II- *Hyphomicrobium zavarzinii* (ar=0,70\*) e III- *Rhodomicrobium* sp (ar=0,81\*). Esses dados são corroborados por outros estudos onde também foram determinados que a presença de complexos microbianos no solo e na cultura permitem maior fixação de nitrogênio atmosférico e fósforo, aumentando os nutrientes para a planta (Hu and Qui 2013)

Além disso, também foram encontrados microrganismos solubilizadores de nutrientes no solo, em especial *Mortierella capitata*, no controle e na amostra T5 com a mesma abundância relativa para ambas (ar=2,16\*). Também foram encontrados na amostra controle, bactérias e fungos produtores de sideróforos (disponibilização de íons metálicos para a planta), com destaque para o fungo *Rhizopus arrhizus* (ar=6,25\*). O mesmo resultado foi estipulado para o T5, porém com a presença do fungo produtor de sideróforo *M. capitata* (ar=2,16\*) e *R. arrhizus* (ar=6,25\*). Tais dados corroboram com outras pesquisas que determinam que certos microrganismos podem auxiliar para a obtenção de condições com elevados nutrientes para as plantas, mesmos em estágios iniciais de sucessão ecológica da degradação de matéria orgânica, como ocorre no sistema alternativo II (T5) (Voigt *et al.*, 2016, Morin-Sardin *et al.*, 2017).

Além disso e de forma muito importante, encontrou-se no tratamento controle, por meio dos dados de ITS e do sequenciamento gênico, microrganismos promotores de crescimento que auxiliam na modulação hormonal, defesa contra patógenos e disponibilização de nutrientes, como o *Clostridium* sp, *H. zavarzinii*, *Chaetomium* sp e *Mortierella capitata* (ar=0,63\*, ar=0,70\*, ar=7,42\* e ar=2,16\*, respectivamente), bem como alguns produtores de fitohormônios (*R. arrhizus* ar=6,25\* e *M. capitata* ar=2,16\*). Estes dados também são relatados em outros trabalhos (Bianco, 2024; Connors *et al.*, 2024).

Na amostra T5 também foi possível verificar microrganismos promotores de crescimento: *Clostridium* sp, *H. zavarzinii*, *M. capitata*, *Nocardioides cynanchi*, *Rhodomicrobium* sp, *Chaetomium* sp (ar=0,63\*, ar=0,70\*, ar=2,16\*, ar=1,14\*, ar=0,81\*, ar=7,42\*, respectivamente). É importante definir que os 3 primeiros microrganismos listados são encontrados em ambas as amostras avaliadas no estudo (controle e T5), porém o T5 possui maior quantidade de microrganismos benéficos para a cultivar, definindo que o sistema alternativo pode cooperar para aumentar a saúde da planta e o rendimento do plantio, possuindo maior atividade supressiva a fungos patogênicos.

Outros estudos determinaram que o uso de sistemas alternativos com biocompostos e microrganismos em cultivares provocam mudanças positivas e aceleram a decomposição da matéria orgânica, facilitando a absorção dos nutrientes e inibindo o crescimento de patógenos nocivos, além de auxiliarem na decomposição de substâncias tóxicas para as plantas, tornando o solo um ambiente favorável para o cultivo (Li *et al.*, 2024).

Assim, pode-se determinar que a amostra do sistema alternativo II, com a presença de *Trichoderma* sp e complexos microbianos e seus metabólitos apresentou menor abundância relativa de patógenos e contaminação e maior abundância relativa de microrganismos benéficos para o solo e a planta. Definindo assim, ser um tratamento eficaz como promotor de crescimento da planta e ação contra patógenos. Assim como nosso estudo, em pesquisa avaliando cultivar de beterraba por meio do biofertilizante do tipo Bokashi também foi identificada abundância relativa elevada de microrganismos promotores de crescimento da planta (Kruker *et al.*, 2023).

Várias bactérias conferem características multifuncionais como promotoras de crescimento, fixadoras de nitrogênio, solubilizadoras de nutrientes. (Bianco, 2024; Connors *et al.*, 2024, Gómez-Godínez *et al.*, 2023). Da mesma forma, neste trabalho também foram verificados fungos que apresentam atributos multifuncionais Li *et al.*, 2023, Shi *et al.*, 2024).

Os dados referentes ao desenvolvimento dos ramos, número de folhas, sintomas de doenças, e número de cistos de *Eurhizococcus brasiliensis* estão mostrados nas tabelas 5 a tabela 8.

Verificou-se um maior comprimento de ramos nos tratamentos T3, T4 e T5. Nestes tratamentos ocorreu uma maior suplementação de matéria orgânica e complexos microbianos quanto comparados aos tratamentos T2 e T1.

Tabela 5 – Comprimento de ramos de videira após diferentes formas de manejo. Período 2020/2022

Tratamento	Comprimento de ramo (cm) - <i>Vitis vinifera</i> cultivar chardonnay			
	12/20	03/21	12/21	03/22
T1	21,3±3,1 d	41,7±8,1 d	48,7±2,9 c	68,5±6,6 d
T2	27,8±3,9 c	79,5±8,5 c	51,5±4,6 bc	98,3±6,0 c
T3	35,2±4,0 b	106,5±11,8 b	51,5±4,8 bc	185,7±10,12 b
T4	40,0±2,8 ab	109,2±8,6 b	56,3±4,6 ab	216,8±10,4 a
T5	42,0±3,0 a	128,3±9,4 a	60,1±4,2 a	235,0±103, a
Valor F	38,83	77,48	7,10	62,90
Valor-p	<0,0001	<0,0001	0,0006	<0,0001
CV <sup>1</sup> (%)	10,19	10,04	7,84	14,13

<sup>1</sup> – CV: coeficiente de variação. Médias em colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

Resultados semelhantes ao comprimento de ramos foram observados nas avaliações quanto ao número total de folhas de videira (Tabela 6).

Tabela 6 – Número total de folhas de videira após diferentes formas de manejo. Período 2020/2022

Tratamento	Número total de folhas - <i>Vitis vinifera</i> cultivar chardonnay			
	12/20	03/21	12/21	03/22
T1	5,0±0,6 b	11,5±1,8 b	6,5±1,0 ab	9,8±0,8 c
T2	7,7±1,0 a	17,3±1,0 a	5,7±0,8 b	11,2±1,7 b
T3	7,5±1,0 a	17,7±1,6 a	6,7±0,8 ab	22,2±3,0 a
T4	7,5±1,0 a	16,7±1,9 a	7,0±0,6 ab	21,8±2,1 a
T5	8,0±1,3 a	16,7±1,5 a	7,5±0,5 a	23,5±2,3 a
Valor F	8,34	15,33	4,39	58,24
Valor-p	0,0002	<0,0001	0,0080	<0,0001
CV <sup>1</sup> (%)	14,39	9,93	11,87	12,00

<sup>1</sup> – CV: coeficiente de variação. Médias em colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

Foi possível verificar resultados favoráveis quanto a suplementação dos diferentes compostos de microrganismos sobre o desenvolvimento de *Vitis vinifera* e também acerca da supressividade de cistos de *E. brasiliensis*. (Tabelas 1, 2 e 8)

O maior comprimento de ramos e número de folhas podem ser atribuídas à presença de compostos bioativos e a uma mistura equilibrada de macro e micronutrientes presentes nas formulações utilizadas. A introdução de comunidades de microrganismos exógenos no solo através dos compostos orgânicos utilizados neste trabalho, podem ter atuado de maneira positiva no aumento da taxa de produção de ácidos orgânicos, fitohormônios e enzimas extracelulares dentro do sistema. Além disso, pode ter influenciado diretamente a ciclagem da matéria orgânica, fornecendo assim nutrientes essenciais à planta e à biomassa microbiana. Segundo Egamberdieva *et al.*, (2017), o complexo microbiano e diversidade de metabólitos indicam que os nutrientes presentes no substrato e na matéria orgânica são utilizados pelos microrganismos, e à medida que esses microrganismos morrem, os nutrientes que assimilaram são gradualmente liberados no meio ambiente, tornando-se assim disponíveis para absorção e promovendo o aumento de biomassa fotossintetizante na planta.

Apesar do uso do EMN, CMM e outros compostos serem baseados na atividade das células microbianas vivas, e não somente na composição nutricional dos mesmos, a aplicação destes pode afetar o conteúdo de diversos elementos e compostos químicos no solo. No estudo de Hu e Qi (2013) no uso de composto com adição de EM levou a um aumento no teor de matéria orgânica, nitrogênio total e formas disponíveis de fósforo e potássio, em comparação ao solo de parcelas fertilizadas com composto tradicional. Esse fenômeno pode ser decorrente da atividade de microrganismos contidos no preparo, que

aceleraram a decomposição dos compostos orgânicos e a liberação de nutrientes do solo. Isto pode justificar o maior comprimento de ramos (Tabela 3), número de plantas sadias (vivas) e atividade supressiva contra fungos patogênicos.

Segundo Pragna *et al.*, (2012) EMN, além de conter maior diversidade de microrganismos, também pode beneficiar a diversidade de outros organismos do solo, permitindo maior disponibilidade de nutrientes da cobertura vegetal para as plantas. É essencial manter a composição microbiana e o material vegetal, principalmente durante o crescimento vegetativo.

A avaliação de microrganismos eficientes (EM), no manejo de culturas agrícolas tem sido relatada. Segundo Pugas *et al.*, (2013), o incremento de microrganismos eficientes junto ao solo contribui significativamente para o aumento da diversidade microbiológica, atuando como indutores da decomposição da matéria orgânica e por consequência na disponibilização dos nutrientes às plantas, tornando estas mais resistentes ao ataque de patógenos, os quais poderiam comprometer a produtividade da cultura. De modo geral, a utilização de EM favorece e beneficia os agricultores e o cultivo de diversas culturas, dentre as quais, Calero-Hurtado *et al.*, (2019) destacam estudos com hortaliças, milho e feijão.

EMs podem degradar e fomentar o processo de fermentação da porção orgânica, transformando-a num húmus contendo nutrientes e liberando compostos que promovem o crescimento das plantas. Através do sistema radicular, esses microrganismos fornecem às plantas hormônios, nutrientes e minerais em uma forma que possam ser utilizados. Além disso, eles auxiliam na estruturação do solo, permitindo reter nutrientes e umidade Kengo, Xu (2000). A produção agrícola é significativamente influenciada pelas condições do solo, refletindo uma complexa rede de interações biológicas, químicas e físicas alimentadas por microrganismos.

EM geralmente consistem em bactérias lácticas, leveduras, actinomicetos, e fungos fermentadores. Os EMs melhoram a estrutura do solo, aumentam a sua fertilidade, aumentam drasticamente a diversidade biológica, suprimem os agentes patogênicos transmitidos pelo solo, melhoram a qualidade do solo, aumentam os minerais benéficos nos compostos orgânicos e aumentam o vigor das plantas Joshi *et al.*, (2019)

Em geral, a aplicação de EMs comercial, melhora as características físicas e químicas do solo e promove o desenvolvimento e a eficácia de microrganismos simbióticos, como rizóbios fixadores de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares Javaid (2009).

O maior número de folhas com sintomas de doença ocorreu de maneira mais expressiva no tratamento testemunha. Em contrapartida, no tratamento T5, que recebeu

uma diversidade de complexos nutricionais e microbianos, não foram identificadas folhas com sintomas de doença (Tabela 7).

Tabela 7 – Número de folhas com sintomas de doenças a partir de diferentes formas de manejo. Período 2020/2022

Tratamento	Número de folhas doentes - <i>Vitis vinifera</i> cultivar chardonnay			
	12/20	03/21	12/21	03/22
T1	0,3±0,1	4,8±1,0 a	3,5±0,5 a	6,2±0,8 a
T2	0,0±0,0	3,7±0,8 a	1,0±0,9 b	3,3±0,5 b
T3	0,0±0,0	1,0±1,0 b	0,3±0,8 b	2,0±2,1 bc
T4	0,0±0,0	0,3±0,8 b	0,2±0,4 b	1,5±1,8 bc
T5	0,0±0,0	0,0±0,0 b	0,0±0,0 b	0,0±0,0 c
Valor F	2,50 <sup>NS</sup>	39,81	32,54	18,54
Valor-p	0,0681	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV <sup>1</sup> (%)	46,41	42,54	62,18	50,83

<sup>1</sup> – CV: coeficiente de variação. <sup>NS</sup> – Não significativo. Médias em colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

Segundo Younas *et al.*, (2022), as bactérias lácticas melhoram a absorção de determinados nutrientes e a resistência a doenças em plantas são garantidos com EM. A matéria orgânica é mais eficaz como fertilizante quando é tratada com EM, microrganismos benéficos introduzidos nos solos e plantas através do seu uso. Este resultado corrobora sobre o maior desenvolvimento das folhas e ramos, e sobre a atividade supressiva a doenças neste experimento com *Vitis vinifera*.

De acordo com Breza-Boruta *et al.*, (2023), a adição de microrganismos benéficos e naturais são consideradas uma alternativa segura aos pesticidas e fertilizantes tradicionalmente utilizados, promovendo a estrutura e o funcionamento do ecossistema do solo e planta. Segundo Abd El-Mageed *et al.*, (2022), o EM comercial, quando adicionados ao solo ou aplicados diretamente na superfície das plantas, melhoram a estrutura, a fertilidade e a saúde do solo, estimulam os processos de transformação da matéria orgânica e outros nutrientes e promovem o crescimento das plantas

Segundo Madigan *et al.*, (2019), Gao *et al.*, (2023), o processo de fermentação também pode ser caracterizado pelo acúmulo de ácidos graxos (como ácidos acéticos). Este processo ocorre por microrganismos fermentadores como *Lactobacillus* spp.), e segundo Iriti *et al.*, (2019) o gênero *Lactobacillus* tem a capacidade de controlar o desenvolvimento de determinados fungos e espécies bacterianas aeróbicas. No presente trabalho, um dos gêneros mais expressivos que foi identificado foram espécies de *Lactobacillus*, o que pode ter contribuído para a supressividade de doenças na cultura da videira. (Tabela 2, Figura 3)

A utilização de comunidades microbianas através dos biofertilizante CMM, EMN e outros complexos microbianos, quando aplicado ao solo, podem efetivamente estimular o

crescimento das plantas e ter influenciado de maneira positiva sobre outras populações microbiológicas, incluindo atividade supressiva a fungos fitopatogênicos. Segundo Hayat *et al.*, (2010), Filipp *et al.*, (2009), esses complexos microbianos têm múltiplas funções no apoio ao desenvolvimento das plantas e são reconhecidos como probióticos de plantas ou microrganismos promotores de crescimento. Esses mecanismos abrangem diversas ações, como a capacidade de bactérias e fungos específicos de facilitar a absorção de nutrientes pelas plantas. Isso ocorre através de processos como a solubilização de nutrientes (por exemplo, bactérias solubilizadoras de P e K, bactérias solubilizadoras de Zn) e fixação de nitrogênio (Jacoby *et al.*, 2017), (Khan & Malik, 2021) a síntese de fitohormônios e a produção de compostos com propriedades antipatogênicas, que melhoram os sistemas de defesa das plantas contra fitopatógenos (Egamberdieva *et al.*, 2017).

Tabela 8 – Número de cistos de *E. brasiliensis* e porcentagem de plantas mortas em videiras tratadas com diferentes formas de manejo. Período 2022

Tratamento	Número de cistos	Plantas mortas (%)
T1	35,7±6,7 a	66,7
T2	25,5±4,0 b	33,3
T3	9,0±6,5 c	16,7
T4	4,2±2,0 cd	0,0
T5	0,0±0,0 d	0,0
Valor F	63,62	11,25
Valor-p	<0,0001	0,0239*
CV (%)	31,25	-

\* - valor-p inferior a 0,05 indicam que há diferença estatística significativa entre as porcentagens de mortalidade em relação à testemunha (T1) pelo teste qui-quadrado a 5 % de probabilidade de erro. Médias em coluna (número de cistos) seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

A redução do número de cistos foi observada principalmente no tratamento T3, sendo que nos tratamentos T4 e T5 não foram identificados a presença de cistos de *E. brasiliensis*. Sugere-se um efeito supressivo dos diferentes complexos microbianos destes bioinsumos sobre o desenvolvimento de *E. brasiliensis*.

A literatura tem mostrado o uso do chamado EM no manejo da cultura em pepinos cultivados organicamente diminuiu a infestação por *Diaphania nitidalis*. Golec *et al.*, (2007). Devido a comportamentos competitivos e/ou antagônicos dos micróbios contidos no inoculante EM, doenças e pragas são reduzidas ou controladas Olle & Williams (2013).

Com base em Siegel *et al.*, (1990) e Abdullah *et al.*, (2011). EMs incluem bactérias lácticas, bactérias fotossintéticas, leveduras, actinomicetos e fungos fermentadores, que foram relatados como indutores de crescimento de plantas Zayed *et al.*, (2022), Fincheira

& Quiroz (2018). O efeito dos EMs em diferentes concentrações na porcentagem de redução do número de ovos depositados/fêmea de *S. littoralis*.

A literatura tem apresentado resultados com relação a captura de microrganismos do solo, e/ou da serrapilheira disponíveis *in situ*, multiplicação deste consórcio e seus protagonistas para manejo cultural de doenças ou pragas agrícolas. Caetano (2020). Estes microrganismos podem ser multiplicados e suplementados ao sistema visando o aumento da diversidade microbiana, de metabólitos, ou enzimas por estes produzidos. A suplementação de microrganismos pode atuar de maneira positiva no ambiente agrícola (Caetano, 2020), (Sousa *et al.*, 2020), (Silva *et al.*, 2020), (Andrade, 2020), (Husson *et al.*, 2021). Estes resultados corroboram com o presente trabalho, pois foi possível verificar que a inoculação de microrganismos benéficos pode potencializar a ecologia do solo, promovendo significativamente o desenvolvimento das videiras, ampliando as características de supressividade a doenças.

De acordo com Avila *et al.*, (2021), as diferentes espécies que integram o grupo dos microrganismos eficientes produzem ácidos orgânicos, hormônios vegetais (giberelinas, auxinas e citocininas), além de vitaminas, antibióticos e polissacarídeos, tais produtos influenciam positivamente no desenvolvimento das plantas de forma direta ou indireta.

E segundo, Ram *et al.*, (2022), os consórcios microbianos, que compreendem duas ou mais espécies microbianas vivendo juntas, interferem de maneira positiva junto as interações bióticas e abióticas com as plantas, e esses consórcios muitas vezes, atuam dentro de interações simbióticas favorecendo as múltiplas funções ecológicas desta diversidade de microrganismos.

Podemos sugerir que a diversidade de microrganismos presentes nos compostos microbianos EMN, CMM e outros produtos utilizados no presente trabalho para manejo da videira e supressão da pérola da terra, agem como probióticos junto ao sistema radicular e solos coexistindo com outros fungos e bactérias úteis. Segundo Hu e Qi, (2013), a produção de ácidos orgânicos, assim como as bacteriocinas, são poderosos controladores de patógenos de solo. As bacteriocinas, podem ser combinadas com água e fertilizante podem ser aplicadas no solo ou pulverizadas nas plantas em qualquer momento durante todo o ciclo de crescimento (Iriti *et al.*, 2019).

São muitos os benefícios trazidos pelos biofertilizantes ao solo e às plantas cultivadas: aumento na atividade microbiana do solo; fornecimento equilibrado dos elementos essenciais às plantas superiores; aumento da resistência a estresses ambientais, pragas e doenças; melhoria do desenvolvimento vegetal em todas as suas etapas e aumento da produção em quantidade e qualidade. Além disso, ele é um produto

orgânico, não proveniente de energia fóssil e que não causa impacto ao meio ambiente (Sousa *et al.*, 2017; Cardoso *et al.*, 2020; Abdelhafez *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2022).

Esse consórcio de microrganismos e seus metabólicos podem desempenhar um papel potente fonte de microrganismos benéficos que podem melhorar a fertilidade do solo, a produtividade das culturas e a qualidade do produto final. biofermentados *on farm* são uma estratégia de baixo e atuam na supressividade de organismos fitopatogênicos. Estas práticas podem ser vistas como “soluções baseadas na natureza”, e podem também ser tratadas como tecnologias sociais utilizadas principalmente por pequenos agricultores familiares.

## 7. Conclusões

A maior diversidade de microrganismos foi identificada nos tratamentos representados por produtos fermentados e consórcios de microrganismos.

Os complexos microbianos interferiram de maneira positiva sobre as características agronômicas de *Vitis vinifera* cultivar chardonnay, especialmente em seu desenvolvimento.

O maior comprimento de ramos, número de folhas e redução de cistos de *E. brasiliensis* ocorreu nos tratamentos que receberam complexos microbianos.

O manejo do solo com aplicação intensiva de complexos microbianos pode representar uma alternativa viável ao cultivo de videiras em solos com presença intensa da pérola da terra, principalmente em sistemas de cultivo orgânico.

## 8. Referências Bibliográficas

ABDELHAFEZ, A. A.; EID, K. E.; EI-ABEID, S. E.; ABBAS, M. H. H.; AHMED, N.; MANSOUR, R. R. M. E; ZOU, G.; IQBAL, J.; FAHAD, S.; ELKELISH, A.; ALAMRI, S.; SIDDIQUI, M. H.; MOHAMED, I. Application of soil biofertilizers to a clayey soil contaminated with *Sclerotium rolfsii* can promote production, protection and nutritive status of *Phaseolus vulgaris*. **Chemosphere**, v. 271, e129321, 2021.

ABD EL-MAGEED, T.A.; GYUSHI, M.A.H.; HEMIDA, K.A.; EL-SAADONY, M.T.; ABD EL-MAGEED, S.A.; ABDALLA, H.; ABUQAMAR, S.F.; EL-TARABILY, K.A.; ABDELKHALIK, A. Coapplication of Effective Microorganisms and Nanomagnesium Boosts the Agronomic, Physio-Biochemical, Osmolytes, and Antioxidants Defenses Against Salt Stress in *Ipomoea batatas*. **Front. Plant Sci.** 2022, 13, 883274.

ABDULLAH, M. M. A. B.; MA'RADZI, A. H.; SALEH, N. A. M.; KAMAL, A. Z.; YAACOB, N. D. Production of effective microorganism using halalbased sources: A review. **Afr. J. Biotechnol.** 2011, 10, 18649–18652.

ABIOYE, OLUWASEYI & OLASEHINDE, DAVID & ABADUNMI, TAIWO. The Role of Biofertilizers in Sustainable Agriculture: An Eco-Friendly Alternative to Conventional Chemical Fertilizers. **Applied Science and Engineering Progress**. (2023). 10.14416/j.asep.2023.07.001.

ANDA - Associação Nacional para Difusão de Adubos. Pesquisa Setorial 2022, Macro Indicadores do Mercado de Fertilizantes No Brasil. Available online: [http://anda.org.br/pesquisa\\_setorial/](http://anda.org.br/pesquisa_setorial/) (accessed on 10 jan 2024)

ANDZEIEWSKI, S., NONDILLO, A., PACHECO-DA-SILVA, V. C., LOECK, A. E., FIALHO, F. B., BUENO, O. C., & Botton, M. (2022). Indirect control of the ground-pearl *Eurhizococcus brasiliensis* (Wille, 1992) (Hemiptera: Coccoomorpha: Margarodidae) using ants toxic baits. **Entomological Communications**, 4, ec04037. <https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec04037>

AL ABBOUD, M. A.; GHANY, T. A.; ALAWLAQI, M. M. Role of biofertilizers in agriculture: A brief review. **Mycopath** 2013, 11, 95–101.

AL-SMAN, K.M., ABO-ELYOUSR, K., ERAKY, A. et al. Potential activities of *Bacillus simplex* as a biocontrol agent against root rot of *Nigella sativa* caused by *Fusarium camptoceras*. **Egypt J Biol Pest Control** 29, 79 (2019). <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0191-z>.

ALFA, M. I. 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, 2014.

- ALVAREZ-VERA, M. S., et al. . Obtenção de consórcios microbianos benéficos e sua incidência na população microbiana nativa da rizósfera de plantas de fresa (*Fragaria* sp.), **Polo del conocimiento**. 4(11), 149-179. (2019)
- ANDRADE, F. M. C.. Caderno Dos Microrganismos Eficientes (E.M.): Instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM. Universidade Federal de Viçosa /Departamento de Fitotecnia. (3a ed.). 31 p. 2020.
- AVILA, G. M. A., et al. Use of efficient microorganisms in agriculture. **Research, So-ciety and Development**, 10(8), 1-13. 2021.
- BAJWA, R. Effects of arbuscular mycorrhizae (AM) and effective microorganisms (EM) on various plants under allelopathic stress. **Allelopath. J.** 2005, 16, 261–271.
- BARKA, E. A, VATSA P, SANCHEZ L, GAVEAU-VAILLANT N, JACQUARD C, MEIER-KOLTHOFF J. P, KLENK H.P, CLÉMENT C, OUHDOUCH Y, VAN WEZEL G.P. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. **Microbiol Mol Biol Rev.** 2015 Nov 25;80(1):1-43. doi: 10.1128/MMBR.00044-16. PMID: 26609051; PMCID: PMC4711186.
- BARRET, M.; TAN, H.; EGAN, F.; MORRISSEY, J. P.; REEN, J.; O’GARA, F. Exploiting new systems-based strategies to elucidate plant– bacterial interactions in the rhizosphere. In **Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere**; de Bruijn, F.J., Ed.; Wiley Blackwell: Hoboken, NJ, USA, 2013; Volume 1, pp. 57–68.
- BARGABUS, R. L.; ZIDACK, N.K.; SHERWOOD, J. E. e JACOBSEN, B. J. Screening for the identification of potential biological control agents that induce systemic acquired resistance in sugar beet. **Biological Control**, p. 342-350, 2004
- BESSAI, S. A., BENSIDHOUM, L., AND NABTI, E. H. (2022). Optimization of IAA production by telluric bacteria isolated from northern Algeria. **Biocatal. Agric. Biotechnol.** 41:102319. doi: 10.1016/j.bcab.2022.102319
- BIANCO, C. Plant-Growth-Promoting Bacteria. *Plants* **2024**, 13, 1323. <https://doi.org/10.3390/plants13101323>
- BONFIM, C. A.; FONTENELLE, M. R. Microrganismos benéficos em biofertilizantes. Brasília: Embrapa, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/22865878/microrganismos-beneficos-em-biofertilizantes>. Acesso em: 20 fev. 2023.
- BONFIM, F. P. G., et al. Caderno Dos Microrganismos Eficientes (EM): Instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM. Universidade Federal de Viçosa /Departamento de Fitotecnia. (2a ed.). 32 p. 2011
- BORGHEZAN M et al. Comportamento vegetativo e produtivo da videira e composição da uva em São Joaquim, Santa Catarina. Pesquisa Agropecuária Brasileira 46: 398-405. 2011.

- BOTTON, Marcos, BERNARDI, Daniel, EFROM, Caio F. S., & BARONIO, Cleber A. Eficiência de inseticidas no controle de *Eurhizococcus brasiliensis* (Hemiptera: Margarodidae) na cultura da videira. **BioAssay**, Piracicaba – SP, v.8, n. 5, p. 1-5, 2013.
- BOTTON, et al. Efeito da cobertura vegetal sobre a pérola-da-terra (Hemiptera: Margarodidae) na cultura da videira. **Acta Scientiarum**. Agronomy Maringá, v. 32, n. 4, p. 681-684, 2010
- BRASIL. Instrução Normativa N o 46, de 6 de outubro de 2011. Estabelece o regulamento técnico para os sistemas orgânicos de produção, bem como as listas de substâncias e práticas permitidas para uso nos sistemas orgânicos de produção. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 7 out. 2011. Seção 1, v. 194, p. 4.
- BREZA-BORUTA, B; BAUZA-KASZEWSKA, J. Effect of Microbial Preparation and Biomass Incorporation on Soil Biological and Chemical Properties. **Agriculture**. 2023, 13, 969. <https://doi.org/10.3390/agriculture13050969>
- BROWN, R. W., REAY, M. K., CENTLER, F., CHADWICK, D. R., IAN D. BULL, JAMES E. MCDONALD, RICHARD P. EVERSHERD, DAVEY L. JONES. Soil metabolomics - current challenges and future perspectives. **Soil Biology and Biochemistry**, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2024.109382>.
- BROWN, R. W., Chadwick, D.R., Bending, G.D., Collins, C.D., Whelton, H.L., Daulton, E., Covington, J.A., Bull, I.D., Jones, D.L., 2022. Nutrient (C, N and P) enrichment induces significant changes in the soil metabolite profile and microbial carbon partitioning. **Soil Biology and Biochemistry** 172, 108779. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2022.108779>.
- BROWN, R. W., BULL, I. D., JOURNEAUX, T., CHADWICK, D. R., JONES, D. L., 2021. Volatile organic compounds (VOCs) allow sensitive differentiation of biological soil quality. **Soil Biology and Biochemistry** 156, 108187. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2021.108187>.
- CAETANO, L. A., et al. (2020). Microrganismos eficientes na decomposição de resíduos de soja e milho. Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia, São Cristóvão, 15(2).
- CARGNELUTTI, D., et al. (2021). Soluções tecnológicas emergentes para uma agricultura sustentável: microrganismos eficientes. In: García, L. M. H. Agroecologia: princípios e fundamentos ecológicos aplicados na busca de uma produção sustentável, Canoas: Mérida Publishers, 31-62.
- CALERO-HURTADO, A., et al. Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol. **Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, 17(1), 25-33. 2019.

- CARDOSO, A. da S.; JUNQUEIRA, J. B.; REIS, R. A.; RUGGIERI, A. C. How do greenhouse gas emissions vary with biofertilizer type and soil temperature and moisture in a tropical grassland. **Pedosphere**, v. 30, n. 5, p. 607-617, 2020.
- CHAVARRIA, G.; SANTOS, H. P. Cultivo protegido de videira: manejo fitossanitário, qualidade enológica e impacto ambiental. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2013.
- CARVALHEIRA, A.; CASQUETE, R.; SILVA, J.; TEIXEIRA, P. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* spp. isolated from meat. **International Journal of Food Microbiology** 2017, 243, 58-63, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.001.
- CHRISPAUL, M.; DAVID, M.M.; JOSEPH, A.O.; SAMUEL, V. Effective microorganisms and their influence on growth and yield of pigweed (*Amaranthus dubians*). **ARPN J. Agric. Biol. Sci.** 2010, 5, 17–22.
- CAVALCANTE, L. F.; BEZERRA, F. T. C.; SOUTO, A. G. de L.; BEZERRA, M. A. F.; LIMA, G. S. de; GHEYI, H. R.; FERREIRA, J. F. da S.; BECKMANN-CAVALCANTE, M. Z. Biofertilizers in horticultural crops. **Comunicata Scientiae**, v. 10, n. 4, p. 415-428, 2019
- CONNERS E. M, RENGASAMY K, RANAIVOARISOA T, BOSE A. The phototrophic purple non-sulfur bacteria *Rhodomicrobium* spp. are novel chassis for bioplastic production. **Microb Biotechnol.** 2024 Aug;17(8):e14552. doi: 10.1111/1751-7915.14552. PMID: 39163151; PMCID: PMC11334908.
- COPING, L.G. The Manual of Biocontrol Agents. 4 Ed. Croydon. **British Crop Protection Council**, 2009.
- CRESSWELL, J. E; DESNEUX, N.; VANENGELSDORP, D. (2012) Traços dietéticos de pesticidas neonicotinoides como causa de declínio populacional em abelhas: uma avaliação pelos critérios epidemiológicos de Hill. **Pest Management Science**, 68(6): 819-827. doi: 10.1002/ps.3290
- DHARNI S, SRIVASTAVA A.K, SAMAD A & PATRA D.D. 2014. Impact of plant growth promoting *Pseudomonas monteilii* PsF84 and *Pseudomonas plecoglossicida* PsF610 on metal uptake and production of secondary metabolite (monoterpenes) by rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* cv. bourbon) grown on tannery sludge amended soil. **Chemosphere** 9: 117-433.
- DE-BASHAN, L. E., HERNANDEZ, J. P., BASHAN, Y., AND MAIER, R. M. *Bacillus pumilus* ES4: candidate plant growth-promoting bacterium to enhance establishment of plants in mine tailings. **Environ. Exp. Bot.** 69, 343–352. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.04.014. 2010.
- DE CÉSARO, A. Caracterizações histológica e fisiológica do ataque de pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis* Wille, 1922) (Hemiptera: Margarodidae) em videiras. 2008. 77 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Porto Alegre, RS, Brasil, 2008.

DE PONTI, T.; RIJK, B.; VAN ITTERSUM, M. K. The crop yield gap between organic and conventional agriculture. **Agric. Syst.** 2012, 108, 1–9.

DEFFUR C, DINIUS A, PAGEL J, MÜLLER H, SCHMIDEDER S, BRIESEN H, KRULL R. Oxygen Consumption in Filamentous Pellets of *Aspergillus niger*: Microelectrode Measurements and Modeling. **Biotechnol Bioeng.** 2024 Nov 4. doi: 10.1002/bit.28874. Epub ahead of print. PMID: 39497268.

DIERING, N. L.; ULRICH, A.; SCAPINI, T.; MÜLLER, C.; GASPARETTO, I. G.; REICHERT JÚNIOR, F. W.; HELEN TREICHEL, MOSSI, A. M. 2022. Microbial natural bioactive formulations in citrus development. **Biotechnology Reports** 34 (2022) e00718. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00718>

DOURADO, E. R. (2018). Microrganismos eficientes (EM) no tratamento de sementes de milho. 2018. 62 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa.

EGAMBERDIEVA, D.; WIRTH, S. J.; ALQARAWI, A.A.; ABD ALLAH, E. F.; HASHEM, A. Phytohormones and beneficial microbes: Essential components for plants to balance stress and fitness. **Front. Microbiol.** 2017, 8, 2104.

ESTRADA M. M. E. Utilización de hongos entomopatógenos para el control biológico de artrópodos plagas agrícolas. **Revista Científica Agroecosistemas**, 7(1), 134-139. Recuperado de <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes> . 2019.

FATIMAH, N.; DAR, S. A.; ASHRAF, S.; RASHID, S.; MUKHTAR, Y.; MIR, S. H. “Biofertilizers for Sustainable Agriculture-An Overview,” **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, vol. 10 no. 6, pp. 1–14, 2021.

FERNANDES, M. do C. de A.; LEITE, E. C. B.; MOREIRA, V. E. Defensivos alternativos: ferramenta para uma agricultura ecológica, não poluente, produtora de alimentos saudáveis. Niterói: PESAGRO-RIO, 2006, 22 p. (PESAGRO-RIO. Informe Técnico, 34). Disponível em: <[http://www.pesagro.rj.gov.br/downloads/publicacao/IT34\\_defensivos.pdf](http://www.pesagro.rj.gov.br/downloads/publicacao/IT34_defensivos.pdf)>. Acesso em: 23 mar. 2024.

FINCHEIRA, P.; QUIROZ, A. Microbial volatiles as plant growth inducers. **Microb. Res.** 2018, 2, 63–75

FILIPP, M.; SPORNBERGER, A.; KEPPEL, H.; BRUNMAYER, R. Influence of effective microorganisms (EM) on yield and quality in organic apple production. *Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Früchteverwertung* 2009, 59, 250–258.

FODE-VAUGHAN, K. A., WIMPEE, C. F., REMSEN, C. C., & LYNNE PERILLE COLLINS, M. Detection of Bacteria in Environmental Samples by Direct PCR Without DNA Extraction. **BioTechniques**, 31(3), 598–607. <https://doi.org/10.2144/01313rr04>. 2001.

FONTENELLE, M. R.; LIMA, C. E. P.; BONFIM, C. A.; ZANDONADI, D. B.; BRAGA, M. B.; PILON, L.; MACHADO, E. R.; RESENDE, F. V. Biofertilizante Hortbio®: propriedades agronômicas e instruções para o uso. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2017. 11 p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 162).

FLEET, G. H. Yeast interactions and wine flavour, Int. **J. Food Microbiol.** 86 (2003) 11–22, [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00245-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00245-9).

GAGGIÀ F, BAFFONI L, GIOIA DD, ACCORSI M, BOSI S, MAROTTI I, et al. Inoculation with microorganisms of *Lolium perenne* L.: evaluation of plant growth parameters and endophytic colonization of roots. **N Biotechnol.** 2013;30: 695-704.

GALLOTTI, B.J. Contribuição para o estudo da biologia e para o controle químico do *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel, 1922). Curitiba: UFPR, 1976. 63p. Tese mestrado. Gallotti, G.J.M. Causas do declínio da videira. **Agropecuária Catarinense**, v.2, n.4, p.19-21, 1989.

GAO, Y., ZHENG, Z., CHENG, X., ZHANG, Y., LIU, X., HU, Y., 2023. An innovative way to treat cash crop wastes: the fermentation characteristics and functional microbial community using different substrates to produce Agricultural Jiaosu. **Environ. Res.** 227, 115727 <https://doi.org/10.1016/j.envres>. 2023.115727

GOLEC, A.F.C.; PÉREZ, P.G.; LOKARE, C. Effective microorganisms: Myth or realit. Rev. Peru. **De Biol.** 2007, 14,315–319.

GÓMEZ-GODÍNEZ, L. J.; AGUIRRE-NOYOLA, J. L.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; ARTEAGA-GARIBAY, R. I.; IRETA-MORENO, J.; RUVALCABA-GÓMEZ, J. M. A Look at Plant-Growth-Promoting Bacteria. **Plants.** 2023, 12, 1668. <https://doi.org/10.3390/plants1208166>

GUAZZELLI, M. J. B.; RUPP, L. C. D.; VENTURIN, L. Biofertilizantes. Bento Gonçalves: MDA/IBRAVIN, 2012. 13 p. (MD/IBRAVIN. Publicação Técnica, 1).

GUO, Y.; RENE, E. R.; WANG, J. MA, W. Biodegradation of polyaromatic hydrocarbons and the influence of environmental factors during the co-composting of sewage sludge and green forest waste, **Bioresour. Technol.** 297 (2019), 122434.

HAJI, F. N. P.; ALENCAR, J. A.; BARBOSA, F. R. Pragas. In: LIMA, M. T.; MOREIRA, W. A. Uva de mesa: fitossanidade. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002, p. 53-68

HATA, F. T.; DA SILVA, D. C.; YASSUNAKA-HATA, N. N.; CANCIAN, M. A. D. Q.; SANCHES, I. A.; POÇAS, C. E. P.; VENTURA, M. U.; SPINOSA, W. A.; MACEDO, R. B. Leafy vegetables' agronomic variables, nitrate, and bioactive compounds have different responses to bokashi, mineral fertilization, and boiled chicken manure. **Horticulturae** 2023, 9, 194.

- HANSEN, V., BONNICHSEN, L., NUNES, I. et al. Seed inoculation with *Penicillium bilaiae* and *Bacillus simplex* affects the nutrient status of winter wheat. **Biology and Fertility of Soils** 56, 97–109 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01401-7>
- HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: A review. **Ann. Microbiol.** 2010, 60, 579–598.
- HICKEL, E. R. & Schmitt, A. T. 1997. Prospecção do controle de pérola-da-terra, *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel), com nematódeos entomopatogênicos, *Steinernema carpocapsae* All, p.103-105. In Reunião Sul-Brasileira sobre pragas de solo, 6. Anais e ata. Santa Maria, UFSM. 183p.
- HICKEL, E. R.; BOTTON, M.; SCHUCK, E. Pragas da videira e seu controle no Estado de Santa Catarina. Florianópolis: Epagri, 2010. 137p.
- HIGA, T.; WIDIDANA, G. N. Changes in the soil microflora induced by effective microorganisms. In: Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming. US Department of Agriculture, Washington, (1991) 153–162. Available from: <https://www.infrc.or.jp/knf/PDF%20KNF%20Conf%20Data/C1-5-020.pdf>
- HUSSON, O.; SARTHOU, J.P.; BOUSSET, L.; RATNADASS, A.; SCHMIDT, H.P.; KEMPF, J.; HUSSON, B.; TINGRY, S.; AUBERTOT, J.N.; DEGUINE, J.P. Soil and plant health in relation to dynamic sustainment of Eh and pH homeostasis: A. review. **Plant. Soil**, 2021, 466, 391–447.
- HU C and Qi, C. Long-term effective microorganisms application promote growth and increase yields and nutrition of wheat in China. **Europ J Agronomy**., 46:63-67. 2013.
- IRITI M, SCARAFONI A, PIERCE S, CASTORINA G AND VITALINI S. Soil Application of Effective Microorganisms (EM) Maintains Leaf Photosynthetic Efficiency, Increases Seed Yield and Quality Traits of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Plants Grown on Different Substrates. **Int J Mol Sci.**, 20: 23-27. 2019.
- JACOBY, R.; PEUKERT, M.; SUCCURRO, A.; KOPRIVOVA, A.; KOPRIVA, S. The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition-current knowledge and future directions. **Front Plant Sci.** 2017, 8, 1617.
- JAVAID, A.: Beneficial Microorganisms for Sustainable Agriculture. In Genetic Engineering, Biofertilisation, Soil Quality and Organic Farming; Sustainable Agriculture Reviews 4; Lichtfouse, E., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2010; pp. 347–369.
- JONES, O. A. H., SDEPANIAN, S., LOFTS, S., SVENDSEN, C., SPURGEON, D. J., MAGUIRE, M. L., GRIFFIN, J. L., 2014. Metabolomic analysis of soil communities can be used for pollution assessment. **Environmental Toxicology and Chemistry** 33, 61–64. <https://doi.org/10.1002/ETC.2418>.

JOSHI H, SOMDUTTAND C. P and MUNDRA S. L. Role of effective microorganisms (EM) in sustainable agriculture. **Int. J. Cur. Microbiol. App Sci.**, 8(3): 172-81. 2019.

KAUSHAL, M., KUMAR, A., and KAUSHAL, R. *Bacillus pumilus* strain YSPMK11 as plant growth promoter and biocontrol agent against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biotech** 7, 90–99. doi: 10.1007/s13205-017-0732-7. 2017.

KHAN, S.T.; MALIK, A. Microbial Biofertilizers and Micronutrient Availability: The Role of Zinc in Agriculture and Human Health; Springer International Publishing: Berlin/Heidelberg, Germany, 2021.

KOUR, D.; KAUR, T.; DEVI, R.; CHAUBEY, K.K.; YADAV, A.N. Co-inoculation of nitrogen fixing and potassium solubilizing *Acinetobacter* sp. for growth promotion of onion (*Allium cepa*). **Biologia** 2023, 78, 2635-2641, doi:10.1007/s11756-023-01412-8.

KENGO, Y.; XU, H.L. Properties and applications of an organic fertilizer inoculated with effective microorganisms. **J. Crop Prod.** 2000, 3, 255–268.

KUMAR, K. VIJAY KRISHNA et al. Efficacy of *Bacillus subtilis* MBI 600 against sheath blight caused by *Rhizoctonia solani* and on growth and yield of rice. **Rice Science**, v. 19, n. 1, p. 55-63, 2012.

KRUKER, G.; GUIDI, E. S.; SANTOS, J. M. D. S. D.; MAFRA, Á. L.; ALMEIDA, J.A.d. Quality of Bokashi-Type Biofertilizer Formulations and Its Application in the Production of Vegetables in an Ecological System. **Horticulturae** 2023, 9, 1314. <https://doi.org/10.3390/>

LAZZAROTTO, J. J.; FIORAVANÇO, J. C. GestFrut\_Uva: sistema para avaliações econômico-financeiras da produção de uvas. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2014. 15 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 102).

LEITE, C. D.; MEIRA, A. L. Biofertilizante Biogeo. Fichas Agroecológicas – Tecnologias apropriadas para agricultura orgânica, 9. 2016. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/fichas-agroecologicas/arquivos-fertilidade-do-solo/9-biofertilizante-biogeo.pdf>. Acesso em: 12 out. 2020.

LENCIONI, L.; ROMANI, C.; GOBBI, M.; COMITINI, F.; CIANI, M.; DOMIZIO, P. Controlled mixed fermentation at winery scale using *Zygorhynchus florentina* and *Saccharomyces cerevisiae*, **Int. J. Food Microbiol.** 234 (2016) 36–44, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.004>.

LI, S.; SHEN, Y.; XIE, A.; YU, X.; QUI, L.; ZANG, L.; ZANG, Q. Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annum* L. Extract. **Green Chem.** 2007, 9, 852–858.

LI J, WEI J, SHAO X, YAN X AND LIU K. Effective microorganisms input efficiently improves the vegetation and microbial community of degraded alpine grassland. **Front. Microbiol.** 14:1330149. doi: 10.3389/fmicb.2023.1330149. 2024.

LIU, G. et al. Draft Genome Sequence of *Bacillus simplex* DSM 1321 for Setting Up Phylogenomics in Genomic Taxonomy of the Bacillus-Like Bacteria. **Genome announcements** vol. 4,3 e00574-16. 23 Jun.2016, doi:10.1128/genomeA.00574-16

LI, FANG & NIU, YINXING & ZHANG, JIABAO & LI, PEIPEI & SI, YAKUN & ZHAO, ZHANHUI & YI, WANG & LI, HUI & HAN, YANLAI. (2023). The grape string theory is inspired by Mortierella and Trichocladium species that promote soil aggregation more than indigenous microorganisms. **Geoderma**. 435. 116524. 10.1016/j.geoderma.2023.116524

LOPEZ, M. A. R.; JUNQUEIRA, A. M. R.; MEJIA, L. M. Estabilidade do biofertilizante Supermagro. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 11, n. 2, p. 152-156, 2016

LORENCETTI, Grasielle A. T.Efeito de Fungos Entomopatogênicos e Produtos Naturais sobre *Thaumastocoris peregrinus* (Hemíptera: Thaumastocoridae) e Indução de Resistência em Plantas. 2013. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). UTFPR: Pato Branco, PR. 10p. 2013.

LUO, Y., VAN VEELLEN, H. P. J., CHEN, S., SECHI, V., TER HEIJNE, A., VEEKEN, A., BUISMAN, C. J. N., BEZEMER, T.M., 2022. Effects of sterilization and maturity of compost on soil bacterial and fungal communities and wheat growth. **Geoderma** 409, 115598. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115598>. 2022.

MAYER, J., SCHEID, S., WIDMER, F., FLIEßBACH, A., Oberholzer, H.R. How effective are “Effective microorganisms® (EM)” Results from a field study in temperate climate. **Appl. Soil Ecol.** 46, 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.08.007>. 2010.

MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M., DUNLAP, P. V., CLARK, D. P., Brock-Biology of Microorganisms, 15th International Edition. 2019

MALUSÀ, E.; VASSILEV, N. A contribution to set a legal framework for biofertilisers. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 2014, 98, 6599–6607.

MARES GUIA, A. P. O. Produtividade de milho verde cultivado em sucessão a adubação verde com aplicação de microrganismos eficientes, nas condições de Matias Barbosa, MG. 2018. 63 p. Dissertação (Mestrado em agricultura orgânica) -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

MARTINEZ, S. S. O Uso do Nim no Café e em outras Culturas. **Revista Agroecologia Hoje**, n. 4., p. 13-14, 2003.

MARROCOS, S. T. P; JUNIOR, J. N; GRANJEIRO, L.C; AMBROSIO, M.M de Q; DA CUNHA, A. P. A. Composição Química e Microbiológica de Biofertilizantes em Diferentes Tempos de Decomposição. 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view/2557> . Acesso em: 17. jul. 2024

- MEIER-KOLTHOFF, J. P.; CARBASSE, J. S.; PEINADO-OLARTE, R.L.; GÖKER, M. TYGS and LPSN: A Database Tandem for Fast and Reliable Genome-Based Classification and Nomenclature of Prokaryotes. **Nucleic Acids Res.** 2022, 50, D801–D807.
- MEDEIROS, M. B. DE; LOPES, J. DA S. Biofertilizantes líquidos e sustentabilidade agrícola. **Bahia Agrícola**, v. 7, n. 3, p. 24–26, 2006.
- MENDES, I. D. C.; REIS JÚNIOR, F. B. Dos. Microrganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos Solos: uma análise crítica, Planaltina: Embrapa, Documentos 85 (2003), 24p
- MEHTA, C. M., PALNI, U., FRANKE-WHITTLE, I. H., SHARMA, A.K., Compost: its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. **Waste Manag.** 34, 607–622. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.11.012>. 2014.
- MESSIHA, N.A.S., VAN DIEPENINGEN, A.D., FARAG, N.S., ABDALLAH, S.A., JANSE, J.D., VAN BRUGGEN, A.H.C., 2007. *Stenotrophomonas maltophilia*: a new potential biocontrol agent of *Ralstonia solanacearum*, causal agent of potato brown rot. **Eur. J. Plant Pathol.** 118, 211–225. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9136-6>.
- METSON, G.S.; MACDONALD, G.K.; HABERMANA, D.; NESME, T.; BENNETT, E.M. Feeding the corn belt: Opportunities for phosphorus recycling in U.S. agriculture. **Sci. Environ.** 2016, 542, 1117–1126.
- MORIN-SARDIN, S.; PATRICE NODET, EMMANUEL COTON, JEAN-LUC JANY, Mucor: A Janus-faced fungal genus with human health impact and industrial applications, **Fungal Biology Reviews**, Volume 31, Issue 1, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.11.002>.
- MIRSKAYA, G. V., KHOMYAKOV, Y. V., RUSHINA, N. A., VERTEBNY, V. E., CHIZHEVSKAYA, E. P., CHEBOTAR, V. K., et al. Plant development of early maturing spring wheat (*Triticum aestivum* L.) under inoculation with *Bacillus* sp. V2026. **Plan. Theory** 11:1817. doi: 10.3390/plants11141817. 2022.
- MULESHKOVA, T.; BAZUKYAN, I.; PAPADIMITRIOU, K.; GOTCHEVA, V.; ANGELOV, A.; DIMOV, S. G. Exploring the Multifaceted Genus *Acinetobacter*: The Facts, the Concerns and the Opportunities. Preprints 2024, 2024070683. <https://doi.org/10.20944/preprints202407.0683.v1>.
- NAVES, R. de L. Diagnose e manejo de doenças causadas por fitonematóides na cultura da videira. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. 2005. 12 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica. 57).
- NEMEC, A.; KRIZOVA, L.; MAIXNEROVA, M.; Sedo, O.; Brisse, S.; Higgins, P.G. *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 2015, 65, 934–942

- NICHOLSON, W. L., MUNAKATA, N., HORNECK, G., MELOSH, H. J., AND SETLOW, P. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. **Mol. Biol. Rev.** 64, 548–572. doi: 10.1128/MMBR.64.3.548-572. 2000.
- NUNES COSTA, M. M. M.; LEMOS DE BARROS, M. A.; MENDES FREIRE, R. M. Biofertilizantes - Documentos / Embrapa Algodão 292, ISSN 2966-0343. Campina Grande, 2023. PDF (27 p.)
- OLLE, M.; WILLIAMS, I.H. Effective microorganisms and their influence on vegetable production—a review. **J. Hortic. Sci. Biotechnol.** 2013, 88, 380–386.
- OGUT, M.; ER, F.; KANDEMIR, N. Phosphate solubilization potentials of soil *Acinetobacter* strains. **Biology and fertility of soils** 2010, 46, 707-715.
- PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; LARROCHE, C. Current Developments in Solid State Fermentation; Asiatech Publishers Inc.: New Delhi, India, 2007; p. 517.
- PAES, L. S. O. P. Biofertilizantes e defensivos naturais na agricultura orgânica: receitas e recomendações. Antonina, PR: Ademadan, 2015. 27 p.
- PALMA L, MUÑOZ D, BERRY C, MURILLO J, Caballero P. *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. **Toxins** (Basel). 2014 Dec 11;6(12):3296-325. doi: 10.3390/toxins6123296. PMID: 25514092; PMCID: PMC4280536.
- PATHAK, D.V.; KUMAR, M.; RANI, K. Biofertilizer Application in Horticultural Crops. In Microorganisms for Green Revolution, **Microorganisms for Sustainability**; Panpatte, D.G., Ed.; Springer Nature: Singapore, 2017; Volume 6, pp. 215–227.
- PRAGANA, R. B.; NOBREGA, R. S. A.; RIBEIRO, M. R.; FILHO, J. F. L. Atributos biológicos e dinâmica da matéria orgânica em latossolos amarelos na região do cerrado piauiense sob sistema plantio direto, **Rev. Bras. Cienc. Solo.** 36 (2012) 851–858, <https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000300015>.
- PUGAS, A. S., et al. Efeito dos Microrganismos Eficientes na taxa germinação e no crescimento da Abobrinha (*Curcubita pepo* L.). **Cadernos de Agroecologia**, 8, 1-5. 2013.
- RING H.J. B, ZENTELLA, L. M. C & SIERRA L. G. T. 2016. Burkholderia tropica una bacteria con gran potencial para su uso en la agricultura. Revista Especializada en Ciencias Químico- Biológicas 19: 102-108.
- SARTORI. V. C.; VENTURIN. L. (Orgs.). Tecnologias alternativas para o fortalecimento da agricultura familiar na Serra gaúcha. Caxias do Sul: **Educs**, 2016.
- SORIA, S. J. V. & B. J. GALLOTTI. O margarodes da videira *Eurhizococcus brasiliensis* (Homoptera:Margarodidae): biologia, ecologia e controle no sul do Brasil. Bento Gonçalves, EMBRAPA/CNPUV. 22p. 1986

- SORIA, S. J., U. A. Camargo, J. C. Fráguas, D. P. Hochmuller & L. C. Braghini. 1997. Resultados de 12 anos de pesquisa no controle da pérola-da-terra no sul do Brasil, p.50-59. In Reunião Sul-Brasileira sobre pragas de solo, 6. Anais e ata. Santa Maria, UFSM. 183p.
- SOUZA, J. DE L. Pré-colheita e colheita de uvas na Serra gaúcha (Cooperativa Vinícola Aurora de Bento Gonçalves/RS) e Legislação de bebidas derivadas da uva e do vinho no MAPA-SC. Trabalho de conclusão, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 52 p. 2013.
- SCHWAN-ESTRADA, Kátia R. F.; STANGARLIN, José R.; CRUZ, Maria E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v.30, n. 1-2, p. 129-137, 2000.
- SHI, M., HAO, S., WANG, Y. *et al.* Plant growth-promoting fungi improve tobacco yield and chemical components by reassembling rhizosphere fungal microbiome and recruiting probiotic taxa. **Environmental Microbiome** **19**, 83 (2024). <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00629-7>
- STOFFEL EFROM, C. F; BOTTON, M.; DE ANDRADE, M. G. Pérola-da-terra causando danos em amoreira-preta, framboeseira e mirtilheiro no Brasil. **Ciência Rural**, <http://revistas.bvs-vet.org.br/crural>, v. 42, n. 9, p. 1545-1548, maio 2014. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/crural/article/view/21504>>. Acesso em: 26 jun. 2020.
- TEIXEIRA, I.; BOTTON, M.; LOECK, A. E. Avaliação de inseticidas visando ao controle de *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel) (Hemiptera: Margarodidae) em novos plantios de videira. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 457-461, 2002.
- VASSILEVA, M.; MENDES, G.D.O.; DERIU, M.A.; BENEDETTO, G.D.; FLOR-PEREGRIN, E.; MOCALI, S.; MARTOS, V.; VASSILEV, N. Fungi, P-Solubilization, and Plant Nutrition. **Microorganisms** **2022**, *10*, 1716. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091716>
- VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and soil**, v. 255, p. 571–586, 2003.
- VIEGAS JÚNIOR, Cláudio. Terpenos Com Atividade Inseticida: Uma Alternativa Para O Controle Químico De Insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.
- VIANA, Paulo A.; PRATES, Hélio T.; RIBEIRO, Paulo E. A. Uso do Extrato Aquoso de Folhas de NIM para o Controle de *Spodoptera frugiperda* na Cultura do Milho. **Circular técnica** **88**, Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 5 p.
- RAJA, N. "Biopesticides and biofertilizers: Ecofriendly sources for sustainable Agriculture," **Journal of Biofertilizers & Biopesticides**, vol. 4, no. 1, 2013, Art. no. 1000E112.

ROONEY, A. P.; DUNLAP, C. A.; FLOR-WEILER, L. B. *Acinetobacter lactuca* sp. nov., isolated from iceberg lettuce (Asteraceae: *Lactuca sativa*). **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 2016, 66, 3566–3572

Ram, R. M., Debnath, A., Negi, S., Singh, H. B., 2022. Use of microbial consortia for broad spectrum protection of plant pathogens: regulatory hurdles, present status and future prospects. **Biopesticides** 319–335. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823355-9.00017-1>

RYAN, M. P.; SEVJACHOVA, L.; GORMAN, R.; WHITE, S. The Emergence of the Genus *Comamonas* as Important Opportunistic Pathogens. **Pathogens** 2022, 11, 1032. <https://doi.org/10.3390/pathogens11091032>

SANCHEZ, S.; DEMAIN, A. Metabolite regulation of fermentation processes. **Enz. Microb. Technol.** 2002, 31, 895–906.

SANTOS, L. F. D., LANA, R. P., SILVA, M. C. S. D., VELOSO, T. G. R., KASUYA, M. C. M., & RIBEIRO, K. G. (2020). Effective microorganisms inoculant: Diversity and effect on the germination of palisade grass seeds. **Anais Da Academia Brasileira De Ciências**, 92, e20180426. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020180426>

ŞANLIER, N.; GÖKCEN, B. B.; SEZGIN, A. C. Health benefits of fermented foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 2019, 59, 506-527.

SHARMA, A.; SHARMA, R.; ARORA, A.; SHAH, R.; SINGH, A.; PRANAW, K.; NAIN, L. Insights into rapid composting of paddy straw augmented with efficient microorganism consortium. **Int. J. Recycl. Org. Waste Agric.** 2014, 3, 54.

SIEGEL, M. R.; LATCH, G. C. M.; BUSH, L. P.; FANIN, F. F.; ROWAN, D. D.; TAPPER, B. A.; BACON, C. W.; JOHNSON, M. C. Fungal endophyteinfected grasses: Alkaloid accumulation and aphid response. **J. Chem. Ecol.** 1990, 16, 3301–3316

SILVA, W. O.; STAMFORD, N. P.; SILVA, E. V. N.; SANTOS, C. E. R. S.; FREITS, A. D. S.; SILVA, M. V. The impact of biofertilizers with diazotrophic bacteria and fungi chitosan on melon characteristics and nutrient uptake as an alternative for conventional fertilizers. **Scientia Horticulturae**, v. 209, p. 236-240, 2016.

SILVA, J. W.; RODRÍGUEZ, W.; ROSAS, G. Caracterización física y química de bokashi y lombricompost y su evaluación agronómica em plantas de maíz. **Ing. Amazon.** 2015, 7, 5–16.

SILVA, J., et al. Produção de pimentão em ambiente protegido sob diferentes concentrações de microrganismos eficientes. **Enciclopédia Biosfera**, 17(34). 2020.

SILVA, F. C. de (Org.) Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes Brasília: Embrapa comunicação para transferência de tecnologia, 1999, 370p

SOUSA, W. S., PONTES, J. R. V. & MELO, O. F. P. Efficient Microorganisms in lettuce cultivation. **Revista Agrogeoambiental**, 12(2). 2020.

SOUSA, G. G.; FIUSA, J. N.; LEITE, K. N.; SOARES, S. C.; SILVA, G. L. Água salina e biofertilizante de esterco bovino na cultura do gergelim. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 38, n. 3, p. 116-125, 2017.

STUCHI, J. F. Biofertilizante: um adubo químico de qualidade que você pode fazer. Brasília: Embrapa, 2015. 16 p.

SUBRAMANIAM, R.; THIRUMAL, V.; CHISTOSERDOV, A.; BAJPAI, R.; BADER, J.; POPOVIC, M. High-density cultivation in the production of microbial products. **Chem. Biochem. Eng. Q.** 2018, 32, 451–464.

SUGIYARTO, S; FIRGIYANTO; CARDILAC, D; SALIM, A (2023). Response of Green Lettuce (*Lactuca Sativa* L.) by Granting of Biochar Types and Dosage of NPK Ferti.. Agrobi: **J. Agroekoteknologi**, 16(1), 17–21. DOI.Org/10.21107/Agrovigor.V16i1.16756

SZYMANEK, M.; DZIWULSKA-HUNEK, A.; ZARAJCZYK, J.; MICHĄŁEK, S.; TANA'S, W. The Influence of Red Light (RL) and Effective Microorganism (EM) Application on Soil Properties, Yield, and Quality in Wheat Cultivation. **Agronomy**. 2020, 10, 1201.

THIESSEN-MERTENS, J. R.; ENTZ, M. H.; WONNECK, M. D. Review: Redesigning Canadian Prairie cropping systems for profitability, sustainability, and resilience. **Can. J. Plant Sci.** 2015, 95, 1049–1072.

VASSILEV, N.; MENDES, G.; COSTA, M.; VASSILEVA, M. Biotechnological tools for enhancing microbial solubilization of insoluble inorganic phosphates. **Geomicrobiol. J.** 2014, 31, 751–763.

VALIZADE, K. M.; REZAZAD, B. M.; MEHRNOOSH, F.; ALIZADE, K. A. M. A research on existence and special activities of *Acinetobacter* in different cheese. **International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research**. 2014.

VASSILEVA, M.; MALUSÀ, E.; SAS-PASZT, L.; TRZCINSKI, P.; GALVEZ, A.; FLOR-PEREGRIN, E.; SHILEV, S.; CANFORA, L.; MOCALI, S.; VASSILEV, N. Fermentation Strategies to Improve Soil Bio-Inoculant Production and Quality. **Microorganisms** 2021, 9, 1254. <https://doi.org/10.3390/microorganisms906125>

Voigt, K. *et al.* (2016). 15 Genetic and Metabolic Aspects of Primary and Secondary Metabolism of the Zygomycetes. In: Hoffmeister, D. (eds) *Biochemistry and Molecular Biology. The Mycota*, vol III. Springer, Cham. Doi.org/10.1007/978-3-319-27790-5-15

WANG, B.; SUN, M.; YANG, J.; SHEN, Z.; OU, Y.; FU, L.; ZHAO, Y.; LI, R.; RUAN, Y.; SHEN, Q. Inducing banana Fusarium wilt disease suppression through soil microbiome reshaping by pineapple–banana rotation combined with biofertilizer application. **Solo**, v. 8, p. 17-29, 2022.

WITHERS, E., HILL, P. W., CHADWICK, D. R., JONES, D. L., 2020. Use of untargeted metabolomics for assessing soil quality and microbial function. **Soil Biology and Biochemistry** 143, 107758. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107758>.

YAKOVLEVA, G., KURDY, W., GORBUNOVA, A., KHILYAS, I., LOCHNIT, G., AND ILINSKAYA, O. (2022). *Bacillus pumilus* proteome changes in response to 2, 4, 6-trinitrotoluene-induced stress. **Biodegradation** 33, 593–607. doi: 10.1007/s10532-022-09997-8

YANG, L-Y.; ZHOU, S-Y-D.; LIN, C-S.; HUANG, X-R.; NEILSON, R.; YANG, X-R. Effects of biofertilizer on soil microbial diversity and antibiotic resistance genes. **Science of the Total Environment**, v. 820, e153170, 2022.

YOUNAS, T., UMER, M., HUSNAIN GONDAL, A., AZIZ, H., KHAN, M. S., JABBAR, A., SHAHZAD, H., PANDURO-TENAZOA, N., JAMIL, M., & ORE ARECHE, F. (2022). A Comprehensive Review on Impact of Microorganisms on Soil and Plant, **Journal of Bioresource Management**, 9 (2).

YIN H J, ZENG J F, FANG C, HE X Q, SU Y, XIONG J P, et al. Succession of bacteria communities during production and application of dairy bedding by membrane-covered aerobic fermentation. **Int J Agric & Biol Eng**, 2024; 17(1): 232–240

ZAYED, M. S.; TAHA, E.-K. A.; HASSAN, M. M.; ELNABAWY, E.-S.M. Enhance systemic resistance significantly reduces the silverleaf whitefly population and increases the yield of sweet pepper, *Capsicum annuum* L. var. annuum. **Sustainability** 2022, 14, 6583.

ZHANG, L. L., LI, L. J., PAN, X. G., SHI, Z. L., FENG, X. H., GONG, B., LI, J., WANG, L.S., 2018. Enhanced growth and activities of the dominant functional microbiota of chicken manure composts in the presence of maize straw. **Front. Microbiol.** 9, 1131.

ZHANG, Q., LIN, Y., SHEN, G., ZHANG, H., AND LYU, S. (2022). Siderophores of *Bacillus pumilus* promote 2-keto-L-gulonic acid production in a vitamin C microbial fermentation system. **J. Basic Microbiol.** 62, 833–842. doi: 10.1002/jobm.202200237