

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL E SOCIOECONOMIA
RURAL

**Tratamentos biológicos na produção de mudas e produtividade de
pimentão (*Capsicum annuum* L.)**

Fernanda Ticianelli de Castro

**Araras
2024**

Fernanda Ticianelli de Castro

**Influência de tratamentos biológicos na produção de mudas e na
produtividade de pimentão (*Capsicum annuum* L.)**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito parcial para
a obtenção do título de Bacharel em
Agroecologia pela Universidade Federal
de São Carlos.

Orientador: Prof. Dr. Victor Augusto Forti

Coorientador: Prof. Dr. Renato Nallin
Montagnolli

Araras

2024

**Influência de tratamentos biológicos na produção de mudas e na
produtividade de pimentão (*Capsicum annuum* L.)**

Fernanda Ticianelli de Castro

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em
Agroecologia pela Universidade Federal
de São Carlos.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Agradecimentos

Assim como para criar uma criança é preciso uma aldeia, também para o desenvolvimento de uma pesquisa é preciso uma comunidade. Antes mesmo de chegar perto de ter resultados, já tinha muitos agradecimentos a fazer.

Mas, como TCC é também encerramento de ciclo, os agradecimentos não se restringem apenas às/aos envolvidos nesse projeto, mas ao projeto maior de conhecer e viver Agroecologia. Os primeiros a serem agradecidos só poderiam ser meus pais, Carla Cristina Rinardo de Castro e Denilton Odair de Castro, que nunca questionaram a viabilidade de largar um trabalho para fazer outra faculdade, integral, em outra cidade e sempre me apoiaram nessa baita empreitada. O segundo só podia ser o Diego, que esteve comigo durante todos esses anos, com diferentes status, mas sempre parceiro. Assim como outras pedrinhas preciosas encontradas pelo leito desse rio, com margens a perder de vista e redemoinhos inesperados, Ana Catarina, Cinthia e Júlia.

A Embrapa Meio Ambiente, na pessoa do meu ex-chefe Tavico, que me apresentou o Assentamento Sepé Tiaraju, que foi minha porta de entrada, na graduação, para os Assentamentos da Reforma Agrária e o trabalho com agricultores/as. A todos os meus colegas que vieram antes e depois, Tailaine, Lucas Lima, Montezuma, Palmirinha, Karen, Gariba, Miquéas, Jessica, Lúcio, Ariel, Artur, Beatriz, Pâmela, (uns tantos) Pedro(s), Sophia, Eduardo, Felipe, Mari....ao Coletivo Pés Vermelhos, e tantas outras pessoas maravilhosas com quem tive o privilégio de poder trocar ao longo desses quase seis anos, que engrandecem a Agroecologia, e com quem aprendi tanto ou mais do que na sala de aula, obrigada!

Para que essa pesquisa pudesse acontecer, os apoios que recebi foram de muitas ordens, houve apoios instrumentais, como o carro da Ana Catarina e do Diego arrastando dezenas de quilos de palha seca para cobrirmos os canteiros, carregar para cima e para baixo bandejas semimortas de plântulas inadequadas para plantio após dois meses de sementeiras, com Rafael, Jackeline e Victor, o orientador. Mais uma manhã carregando mais palhada para os

canteiros, com Jacke, Rafael e João – palhada que a Seção Agrícola da UFSCar com muito empenho transportou para um local mais próximo à área de plantio. E sem dizer das incontáveis caronas de Diego e Ana Catarina, durante todo o acompanhamento do campo.

Os insumos gentilmente cedidos para adubar as mudas em campo pela Provaso e pela Yoorin – que só pudemos receber porque a UFSCar cedeu seus carros e motoristas – seu Paulo e Mário – para buscá-los. Os próprios microrganismos objeto desse estudo foram enviados pelas empresas que os produzem Koppert e Vittia, e as bandejas, parte do substrato de plantio e estufa emprestadas pelo Gehort. O Lamam, pela acolhida da etapa microbiológica de laboratório, a toda paciência e ajuda dada pelo Guilherme Geraldo, pela Fernanda, estagiária do laboratório, e pelo Renato, o coordenador.

As horas passadas agachadas, plantando, debaixo de sol, realizando capina seletiva – arrancando com toda a paciência as tiriricas para extirpá-las com raiz e depois retirá-las da área, as dores nas costas compartilhadas nos dias seguintes por Ana Catarina, Júlia, Cinthia, Bianca, Ivana e Diego. As horas compartilhadas molhando os canteiros com uma única mangueira, revezando-a junto com as picadas de mosquitos, com Diego, Júlia e Ana Catarina.

O apoio intelectual, a discussão dos processos e melhores métodos, compartilhamento e leitura de textos, a conversa que sempre nos amplia horizontes e é talvez o objetivo final oficial de uma pesquisa, que tive principalmente com Victor e Renato, os orientadores, mas também com o Diego, Rafael e Ana Catarina, sobre adubação, arranjos de plantio, etc. Uns tantos conselhos sobre pimentões recebidos da Bruna, agricultora em Araras, que eu devia ter procurado antes e a quem dedico o meu prefácio.

Mas, principalmente, o apoio emocional, quando as coisas não caminham como gostaríamos ou planejamos, a possibilidade de desanuiar ou só desabafar, com Victor, quase sempre o otimismo em pessoa, Diego, meu amor, companheiro de vida e presentinho da vinda para a UFSCar em Araras.

E por fim, mas não menos importante, é claro, à FAPESP que forneceu as condições materiais para que essa pesquisa se desenvolvesse, possibilitando uma sorte de aprendizados dessas várias ordens, acadêmicas, comunitárias e até filosóficas que esse emaranhado de seres, humanos e não humanos, envolvidos no projeto nos suscita.

Prefácio ou “isso não é uma pesquisa em agroecologia”

Apresentar os resultados de um trabalho na forma de relatório científico é sempre um desafio, pois, muitas vezes, nem todos os percalços e reflexões fundamentais para alavancar o pensamento científico e crítico têm espaço para serem apresentados. E essa é a principal motivação desse prefácio, compartilhar as reflexões que talvez não sejam adequadas a esse formato, mas que são fruto da pesquisa e não poderiam não aparecer ou parecerem desatreladas dela.

Desde o primeiro momento em que a possibilidade de experimento em campo foi apresentada, muitas foram as dúvidas e os questionamentos – dada a complexidade e dificuldade de controle das variáveis que viríamos a encontrar. A opção pela manutenção das etapas em campo adveio justamente da premissa de que os microrganismos – disponibilizados em produtos formulados, ou coletados e selecionados de acordo com técnicas agroecológicas – não vivem em ambientes controlados, e utilizá-los nesses ambientes poderia enviesar os resultados que almejávamos alcançar.

Entretanto, uma nova questão se impôs ao longo da pesquisa. Quando falamos de pesquisa de campo, em agroecologia, existe um olhar fundamental que todo o tempo esteve de fora: o olhar do/a agricultor/a. É claro que a agroecologia, enquanto campo da ciência, não se faz apenas em um projeto de iniciação científica por doze meses, mas é um processo contínuo de diálogos e construções coletivas. De qualquer forma, a ausência de um/a agricultor/a ao longo do processo de elaboração e acompanhamento da pesquisa, e especialmente do campo, foi, na minha opinião, decisivo para a intensificação das dificuldades e desafios encontrados nesse projeto.

Faço desse prefácio, portanto, meu *mea culpa*, por ter trabalhado e trocado com agricultores/as ao longo da graduação, mas, no momento da pesquisa, não ter buscado agregar o seu conhecimento, me atendo à bibliografia e ao olhar acadêmico. Assim sendo, essa, que apresento, é uma pesquisa das Ciências Agrárias, e teria muito mais a contribuir se fosse uma pesquisa da Agroecologia – não apenas no tema, mas também na forma.

Resumo

Alternativas eficientes para garantir a nutrição vegetal e o manejo de doenças são desafios para agriculturas de base ecológica, que não utilizam fertilizantes minerais e defensivos agrícolas convencionais. Uma das principais culturas em uso de agrotóxicos é o pimentão (*Capsicum annuum* L.), entretanto, já existem no mercado diversos insumos biológicos que podem ser utilizados no manejo da cultura. Além disso, existem técnicas agroecológicas de captura, seleção e reprodução de comunidades naturais de microrganismos eficientes presentes na natureza que podem também ser utilizadas. O presente estudo teve como objetivo comparar a eficiência de comunidades sintéticas mistas e cepas isoladas de produtos biológicos disponíveis no mercado de *Bacillus velezensis* e *Trichoderma* sp., bem como comunidades naturais de microrganismos eficientes nativos capturados próximo à área de estudo. Microrganismos isolados e dois tipos diferentes de comunidades de microrganismos foram aplicados em bandejas, para a formação de mudas, e em campo, em mudas transplantadas e avaliou parâmetros de crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas. Foi possível verificar, para o experimento com formação de mudas, destaque para o tratamento com *T. harzianum* em todos os indicadores de desenvolvimento de parte aérea (número de folhas, diâmetro da haste, altura e massa seca de parte aérea). Nas plantas em campo não se verificou diferença entre os tratamentos nos indicadores de produção de massa seca e produtividade das plantas.

Palavras-chave: bioinsumos, microrganismos eficientes, agroecologia

Lista de Figuras

Figura 1: Coleta de microrganismos eficientes em bambu com arroz cozido. a. Isca de arroz cozido sem tempero em bambu; b. Arroz colonizado, após 15 dias enterrado sob serrapilheira.....	22
Figura 2 – Cultivos em placa de Petri dos microrganismos comerciais Placas após 48h de crescimento, respectivamente com: a - Bio-Imune - <i>Bacillus velezensis</i> BV02; b - Tricho-Turbo - <i>Trichoderma asperellum</i> BV10; e c - Trichodermil - <i>Trichoderma harzianum</i> , cepa ESALQ-1306, em diferentes diluições.	24
Figura 3 – Cultivo em placa de petri dos microrganismos coletados pertencentes à comunidade natural – Acima o crescimento em meio de cultura para bactérias (após 24h), com adição de nistatina (antifúngico), e abaixo, placas com adição de tetraciclina (antibiótico) – após 48h.	25
Figura 4 – Delineamento experimental com tratamentos e aplicações de microrganismos do experimento em bandejas	26
Figura 4 – Área de plantio no Centro de Ciências Agrárias em Araras – SP. Elaborado por Julia Alves de Oliveira.....	28
Figura 5 - Precipitação e temperatura média entre novembro/2023 e abril/2024 na área experimental.....	29
Figura 6 – Canteiros de plantio após preparo do solo e aplicação de cobertura morta	30
Figura 5 – Delineamento experimental e tratamentos aplicados nas plantas no experimento realizado em campo	32
Figura 7 – Contagem de bactérias e fungos em plaqueamentos contendo a comunidade natural (EM). R = repetições	35
Figura 8 – Distribuição dos três microrganismos mais abundantes identificados na comunidade natural – EM.....	35
Figura 9 – Mudanças de pimentão (<i>C. annuum</i>) aos 60 dias para cada um dos tratamentos aplicados. A: <i>T. asperellum</i> ; B: <i>T. harzianum</i> ; C: Comunidade natural – EM; D: Comunidade sintética; E: <i>B. velezensis</i> ; F: Controle.....	37
Figura 10 – Diâmetro de haste (mm), altura de plantas (cm), número de folhas, comprimento de raiz (cm), massa de matéria seca de raiz e parte aérea	

(g) de <i>Capsicum annum</i> considerando a aplicação de diferentes tratamentos com microrganismos	39
Figura 11 – Interações possíveis e observadas na literatura e nesse estudo, entre diferentes microrganismos em condições distintas	42
Figura 12 – Vista das plantas de <i>Capsicum annum</i> por tratamento aos 75 dias após o plantio em dois blocos diferentes. TCN = tratamento comunidade natural, TCS = tratamento comunidade sintética.....	43
Figura 13 – Gráficos de caixa de altura (cm), diâmetro haste (mm), massa seca (g), número de folhas e produtividade total por área (t/ha) para cada um dos tratamentos de microrganismos aplicados em plantas de pimentão. TCN = tratamento comunidade natural, TCS = tratamento comunidade sintética.	45
Figura 14 – Planta de pimentão (<i>C. annum</i>) com sinais de ataque de ácaro.	46
Figura 15 - Planta de pimentão (<i>C. annum</i>) com sinais de ataque por formigas cortadeiras.....	46
Figura 16 – Foto superior do campo experimental e mapeamento do ataque de formigas e ácaros nas plantas de pimentão (<i>C. annum</i>)	47

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Tratamento e dosagens utilizadas na formação das mudas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>)	28
Tabela 2 – Caracterização química do solo da área experimental, na profundidade de 0-0,20 m	29
Tabela 3 - Composição Yoorin Master 1S	30
Tabela 4 – Composição química do Condicionador de Solo Provaso	31
Tabela 5 – Datas das aplicações dos tratamentos na mudas de pimentão na bandeja e em campo	33
Tabela 6 – Tratamento e dosagens utilizadas nas plantas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>) em campo	33
Tabela 7 – Quantidade e distribuição de microrganismos encontrados na comunidade natural – EM	35
Tabela 8 – Diâmetro de haste (mm), altura de plantas (cm), número de folhas, massa de matéria seca de raiz e parte aérea (g) e volume de raiz de <i>Capsicum annuum</i> considerando a aplicação de diferentes tratamentos com microrganismos.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 9 – Altura média por planta (cm), diâmetro médio da haste por planta (mm), massa seca média por planta (g), número de folhas por plantas e produtividade total por área (t/ha) para cada um dos tratamentos de microrganismos aplicados em plantas de pimentão. TCN = tratamento comunidade natural, TCS = tratamento comunidade sintética.	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO	14
2. OBJETIVOS	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
Composição da Comunidade Natural (EM)	34
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	47

1. INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

Dentre os 17 objetivos relacionados à promoção do Desenvolvimento Sustentável propostos pela Organização das Nações Unidas (ONU), pelo menos seis estão diretamente relacionados à redução do uso de fertilizantes minerais e agrotóxicos (Gomes & Ferreira, 2018), cuja produção tem alta demanda energética, e cujo impacto negativo para o meio ambiente e as populações são consideráveis.

A produção e uso de fertilizantes minerais têm potencial para ocasionar diversos danos, como a eutrofização de corpos d'água por lixiviação de nitratos e escoamento superficial de fosfatos (Cyrino de Oliveira-Filho et al., 2002), e mesmo a contaminação com elementos tóxicos, como chumbo (Pb), cádmio (Cd) e cromo (Cr) (Gonçalves; Luchese, 2000).

Além dos fertilizantes, o uso exacerbado de agrotóxicos também é uma importante fonte de riscos à saúde humana e ao meio ambiente (Carneiro et al., 2015; Lopes-Ferreira, 2022), assim como um fator de incremento do custo de produção agrícola, sendo de grande relevância o estudo de métodos de controle alternativos e eficientes.

O uso de agrotóxicos e de fertilizantes minerais também pode gerar desequilíbrios na biossíntese de proteínas e carboidratos das plantas, aumentando a quantidade de aminoácidos livres e glicídios redutores em suas células, tornando-as mais suscetíveis a ataques de herbívoros e patógenos (Athar et al., 2010; Chaboussou, 2006).

Dessa maneira, promover a agricultura sustentável, baseada em tecnologias agroecológicas, como é o caso do uso de microrganismos benéficos e demais insumos biológicos, é uma estratégia de proteção ambiental, redução de emissões de carbono e também, ou principalmente, de prover segurança alimentar e nutricional às populações humanas (Altieri, 2012), garantindo diversidade alimentar e geração de renda às famílias produtoras.

Microrganismos podem induzir resistência a estresses bióticos e abióticos em plantas, como bactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR – do inglês *plant growth-promoting rhizobacteria*, ou BPCV, em português) e agentes de controle biológico (BCA – do inglês *biological control agents*, ou em português, ACB).

Entre as bactérias promotoras de crescimento vegetal, os gêneros mais estudados são: *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* e *Serratia* (Kumari et al., 2020).

A interação microbiológica pode ocorrer de maneira direta ou indireta com as plantas (Ortiz; Sansinenea, 2021; Elnahal et al, 2022). Os mecanismos de promoção de crescimento direto são: fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fósforo, potássio e zinco presentes no solo, porém indisponíveis para absorção pelas raízes vegetais antes da ação microbiana; produção de metabólitos secundários e fitormônios que estimulam seu crescimento como ácido-indolacético (AIA), ácido absísico (ABA) e a enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase (ACCD); e produção de quelatos de ferro – sideróforos, que são estruturas estáveis contendo ferro e outros micronutrientes (Maria et al., 2002).

Estratégias indiretas de promoção do crescimento podem ser: mecanismos de aumento da resistência a stresses abióticos, como stress hídrico, por exemplo, através da indução ao fechamento de estômatos pela produção de ABA ou à produção de substâncias osmorreguladoras (Cristina et al., 2021) e competição com patógenos com maior eficiência para crescimento e absorção de nutrientes.

Fungos e leveduras, por sua vez, são mais conhecidos por sua ação como agentes de biocontrole, já que produzem toxinas que garantem eficácia no antagonismo e inibição do crescimento de outras espécies, e, principalmente, de doenças de solo (Soares, 2023).

Porém, apesar da classificação que separa os microrganismos em cada uma dessas categorias, um mesmo microrganismo pode desempenhar mais de uma função. Como leveduras que produzem toxinas killer (Rungchaiwattanakul et al., 2015) mas também são capazes de solubilizar fósforo (Xiao et al., n.d.), ou bactérias como *Bacillus subtilis*, objeto de uma série de estudos com solanáceas acerca de seu potencial como agente de biocontrole (Lee et al, 2008;

Khedher, 2015; Kilani-Feki et al., 2016; Bonaterra, 2022) e também como promotor do crescimento (Katsenios et al., 2021; Nunes et al., 2022).

Outra bactéria com ações parecidas é *Bacillus velezensis*, que possui grande similaridade genética com *Bacillus amyloliquefaciens* (algumas cepas chegam a ter 99% de similaridade) e produz metabólitos secundários que atuam como agentes de biocontrole, com função antimicrobiana, produzindo surfactantes com ação comprovada contra os gêneros *Botrytis*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Thielaviopsis* e *Botryosphaeria*, e também age como promotora do crescimento vegetal, capaz de produzir sideróforos, ácido indolacético e também solubilizar potássio (Ye et al., 2018).

As associações benéficas entre microrganismos e plantas são principalmente de dois tipos: alianças simbióticas ou mutualísticas muito específicas, muitas já têm até uma estrutura específica nas plantas para ocorrerem, como os rizóbios nas fabáceas. Ou através de simbioses associativas ou alianças cooperativas (Khosro et al., 2024), que ocorrem intencionalmente, ou seja, a planta precisa recrutar os microrganismos de interesse e estes terem interesse nessa associação.

Uma prática comum na agricultura natural, bastante disseminada no oriente e em alguns países do continente americano, é a captura e reprodução de comunidades mistas de microrganismos nativos, selecionados e reproduzidos para uso no local (Kumar; Gopal, 2015; Reyna-Ramírez et al., 2018; Keliikuli, A. et al. 2019). No Brasil, essa prática foi difundida pela Fundação Mokiti Okada, nos anos 1980, a partir de estudos realizados no Japão (Gomes et al, 2021). Na década de 90, o pesquisador Teruo Higa fez uma série de conferências divulgando esses microrganismos e seu potencial biotecnológico (Higa, 1991; Higa; Parr, 1994. Higa, 1998).

De acordo com Gomes e outros autores (2021), nessa técnica da agricultura natural, colônias de microrganismos eficientes nativos são capturadas e selecionadas, e espera-se que sejam compostas por bactérias acidoláticas, leveduras, bactérias fotossintéticas, actinomicetos, dentre outros microrganismos de interesse agrônomo.

A partir do estudo desses microrganismos presentes no meio ambiente e seus metabólitos, muitas cepas foram isoladas, reproduzidas e estão atualmente disponíveis no mercado. Dos 396 produtos microbiológicos compostos por culturas puras registrados no Brasil, 112 são de *Beauveria* sp., 95 de *Bacillus* sp., 69 de *Metarhizium* sp. e 46 de *Trichoderma* sp., sendo esses os principais grupos de microrganismos utilizados em produtos microbiológicos (Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2022).

Entretanto, alguns estudos vêm apontando a vantagem do uso de consórcios de microrganismos em lugar de cepas e espécies isoladas, tendo em vista a sinergia potencial existente entre diferentes microrganismos (Minchev et al., 2021; Daaboub et al., 2022).

Deve-se considerar, entretanto, que, assim como as interações entre microrganismos e plantas podem ou não acontecer e ter resultados variados, também a interação entre microrganismos está submetida a grande diversidade de possibilidades. Essa interação pode ser positiva ou negativa, entre as primeiras podemos destacar relações de cooperação: simbióticas, comensalistas ou mutualistas; entre as negativas, ou não-cooperativas estão parasitismo, amensalismo e predação (Nunes et al., 2024).

E mais, essas relações são complexificadas pelas capacidades adaptativas de microrganismos, de modo que um mesmo microrganismo possa ter mais de um tipo de relação com outro microrganismo a depender do meio em que se encontram (Vassilev et al., 2022).

Em estudo realizado em vasos com pimentões (*Capsicum annum* L.), resultados positivos foram obtidos a partir da inoculação de um consórcio de microrganismos com diferentes funções, como solubilizadores de fósforo e potássio e fixadores de nitrogênio (Devi et al 2022).

O pimentão é uma planta da família Solanaceae, pertencente ao gênero *Capsicum*, que é composto por pelo menos 20 espécies (Ribeiro et al, 2008) sendo o pimentão uma das mais importantes economicamente. Somente no Brasil, estima-se que a área plantada de pimentão seja da ordem de 11 mil hectares – com uma produção de mais de 500 mil toneladas anuais, e terceiro

lugar no ranking de gastos com agrotóxicos entre as hortaliças perdendo apenas para o tomate de mesa e a batata (Garcia Filho et al, 2017).

A quantidade de agrotóxicos utilizada nesse cultivo também é uma questão de saúde pública, já que é um dos cultivos com os maiores índices de resíduos de agrotóxicos acima dos limites definidos pela Anvisa (ANVISA, 2019). De acordo com o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos - PARA (ANVISA, 2019), de 326 amostras de pimentão *C. annuum* analisadas, apenas 59 não apresentaram resíduos ou apresentaram em concentrações de resíduos inferiores aos limites máximos definidos pela Anvisa. Por conta disso, o relatório evidencia a necessidade de atenção e investimento em pesquisa e assistência técnica a esse cultivo, com vistas a produções mais sustentáveis, com menor uso de agrotóxicos, sem comprometer a produtividade e a saúde de produtores e consumidores.

Para isso, pode-se considerar como estratégia os produtos biológicos com base em microrganismos que tenham ações que protejam as plantas de herbivoria e doenças fúngicas, e que sejam de baixa toxicidade para humanos e para o meio ambiente. Alguns estudos recentes apontam resultados promissores, como o realizado por Sutarman et al (2022), que observou ação antagonista de *Trichoderma asperellum* em relação a *Colletotrichum* sp, doença fúngica causadora de antracnose em plantas da família Solanaceae. A ação foi mais eficiente quando a aplicação de *T. asperellum* ocorreu antes da infecção, o que indica maior eficiência em uso preventivo, e justifica a utilização dos microrganismos antes de observada a infecção. Nesse estudo observou-se que quando a inoculação de *T. asperellum* ocorreu seis horas antes da inoculação do *Colletotrichum* sp, houve ganhos em relação ao número, tamanho e massa dos frutos, e redução da intensidade do ataque.

Já em estudo realizado na Malásia (Chin et al., 2022) sementes de acelga japonesa (*Brassica rapa*) e pimentão (*C. annuum*) foram tratadas com “biopriming” à base de agentes de biocontrole tolerantes à presença de metais pesados no solo, *T. asperellum* e *Pseudomonas fluorescens*. Neste experimento, o tratamento de sementes com microrganismos se mostrou eficiente para o

desenvolvimento de plântulas submetidas a estresses abióticos (presença de metais tóxicos no solo) e aumentou a resistência a doenças de *B. rapa*.

Também em plantas de pimentão, observou-se ação antagonista eficiente contra *Phytophthora blight*, em experimento realizado em casa de vegetação, com aplicação de inóculos isolados de *B. subtilis* em sementes, com efeitos de redução de severidade da infecção e de incidência da doença (Lee et al., 2018).

A literatura científica mais recente destaca o papel sinérgico desses microrganismos presentes no solo e de sua relação com as plantas, seja em culturas isoladas ou mistas. Porém, ainda existem poucas informações sobre seu desempenho em campo (Elnahal et al, 2022; O'Callaghan et al., 2022), inclusive em relação aos produtos comerciais registrados.

Apesar de ainda constituir campo incipiente de pesquisa, o uso de microrganismos aparece como uma alternativa interessante para a redução do uso de fertilizantes minerais e agrotóxicos utilizados no cultivo de pimentão e outras espécies, melhorar a produtividade e potencializar o uso de fertilizantes em produções de base ecológica (Saeid; Chojnacka, 2019). Para isso, é fundamental que novas pesquisas sejam realizadas com diferentes composições de microrganismos e em experimentos de campo visando a validação do seu uso em cultivos comerciais de pimentão.

2. OBJETIVOS

Geral

Comparar a eficiência de comunidades sintéticas mistas e cepas isoladas de produtos biológicos disponíveis no mercado de *Bacillus velezensis* e *Trichoderma* sp., bem como comunidades naturais de microrganismos eficientes nativos capturados próximo à área de estudo

Específicos

- Testar a influência de diferentes tratamentos de microrganismos em cultivos de pimentão a fim de verificar se eles podem levar a aumento de produtividade das plantas ;
- comparar microrganismos aplicados individualmente e em comunidades (natural e sintética);
- estudar a composição de uma comunidade natural de microrganismos, conhecida e divulgada em cartilhas agroecológicas como “EM” (effective microorganisms).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para a seleção dos microrganismos da comunidade natural, foi inicialmente realizada a coleta de microrganismos nativos, em área de mata, localizada no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, na cidade de Araras, São Paulo, latitude 25°48'95" e longitude 75°31'215", utilizando-se bambu e arroz cozido apenas em água mineral (Figura 1.a.), conforme indicado pela literatura de referência (Andrade, 2020).

Após 15 dias enterrado sob a serrapilheira, o arroz foi coletado (Figura 1.b) e os grãos visivelmente colonizados foram separados independentemente da coloração. Foi realizada uma solução de água e rapadura – em substituição ao melaço da receita original, na proporção de 100 g de rapadura para 900 ml de água. Essa solução foi levada ao fogo até levantar fervura, antes da adição do arroz colonizado. À solução já fria foi adicionado o arroz colonizado, em garrafa PET higienizada com água e sabão até metade de seu volume, a garrafa foi apertada até o máximo possível sem que o líquido escapasse. Submetido, então, a condição de restrição de oxigênio, induzindo à fermentação, até que não fossem mais produzidos gases oriundos de atividade microbiana – quando a garrafa não precisasse mais ser apertada para expulsão dos gases produzidos e manutenção da condição de restrição de oxigênio, conforme orientação de Andrade (2020). Esse processo levou cerca de 20 dias. Após esse período, a solução de microrganismos e rapadura foi coada e armazenada em garrafas plásticas em câmara fria (10°C).

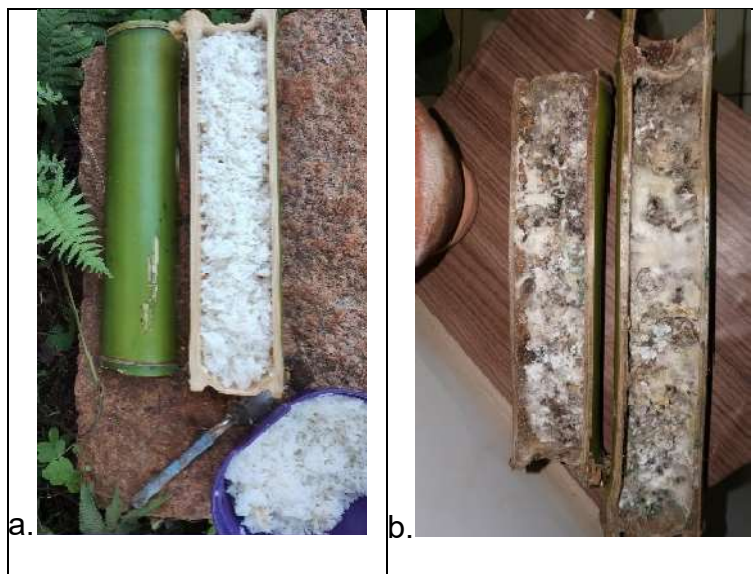


Figura 1: Coleta de microrganismos eficientes em bambu com arroz cozido. a. Isca de arroz cozido sem tempero em bambu; b. Arroz colonizado, após 15 dias enterrado sob serrapilheira.

A solução de microrganismos, após o preparo, foi enviada para análise *metabarcoding* em laboratório, realizado pela empresa Neopropecta. A identificação de bactérias foi realizada utilizando-se o sequenciamento de alto desempenho das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA, e a identificação de fungos utilizou a região ITS1 das células presentes na amostra. O equipamento utilizado para o sequenciamento genético foi o MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., USA).

Para além do tratamento com os microrganismos nativos coletados, avaliaram-se outros produtos comerciais: Bio-Imune (*Bacillus velezensis* BV02¹); Tricho-Turbo (*Trichoderma asperellum* BV10); e Trichodermil (*Trichoderma harzianum*), cepa ESALQ-1306, obtidos a partir de seus fabricantes.

Todos os produtos, bem como a solução com microrganismos nativos, foram submetidos a testes microbiológicos a fim de verificar se estavam efetivamente ativos (Figura 2). Para essa etapa, foi utilizado o método de contagem padrão, cada solução contendo os microrganismos foi diluída em

¹ O produto Bio-imune, até o final do experimento, era composto por "*B. subtilis*", entretanto, no momento da redação deste trabalho ele havia sido reclassificado para *B. velezensis* pela Vittia, motivo pelo qual esse trabalho faz referência a ambos ao longo da apresentação da bibliografia de referência.

soluções salinas contendo de 1×10^{-1} a 1×10^{-6} ml da solução original utilizada no experimento (dos produtos originais e da comunidade natural coletada) e espalhadas sobre meio de cultura sólido, disposto em placas de Petri, com alça de Drigalsky. As UFC dos plaqueamentos com diluições adequadas à contagem foram contadas após 24 horas para os cultivos bacterianos e após 48h para os fungos.

Para o plaqueamento e contagem de *B. velezensis* foi utilizada uma solução do produto Bio-Imune em diluição de 1×10^{-6} ml/ml em solução salina com 0,85% de NaCl (cloreto de sódio em cristais), realizada através de diluições seriadas. O meio de cultura utilizado para observar seu crescimento foi NA (ágar nutriente), meio indicado para cultivo bacteriano.

Para o plaqueamento dos fungos (*T. asperellum* e *T. harzianum*), a diluição utilizada foi de 10^{-4} ml/ml dos produtos que os contém, em soluções salinas de água destilada e 0,85% de NaCl. O meio de cultura utilizado foi Sabouraud-ágar, composto por 40 g/L de dextrose, 10 g/L peptona, 20 g/L ágar com pH 5,6, adicionado 0,2 ml/L de tetraciclina (antibiótico), a fim de favorecer o crescimento dos fungos na placa, e evitar o desenvolvimento de bactérias.

O meio utilizado para a contagem de UFC bacterianas da comunidade natural (microrganismos nativos coletados do "EM") foi o NA (Ágar Nutriente), composto por 5g/L de peptona de gelatina, 3g/L de extrato de carne e 15g/L de agar bacteriológico, com pH final de 6,8, em soluções salinas com 0,85% de NaCl e adicionado 2 ml/L de nistatina (antifúngico), a fim de verificar o desenvolvimento de bactérias. Para a contagem de fungos, foi utilizado o meio de cultivo Sabouraud-ágar com tetraciclina, nas mesmas proporções utilizadas para os Trichodermas, a fim de inibir o desenvolvimento de bactérias e possibilitar a contagem de fungos. A concentração de microrganismos estimada para o EM foi de $5,96 \times 10^6$ UFC por ml na solução original, a partir da contagem de UFC nas placas Petri (Figura 3).

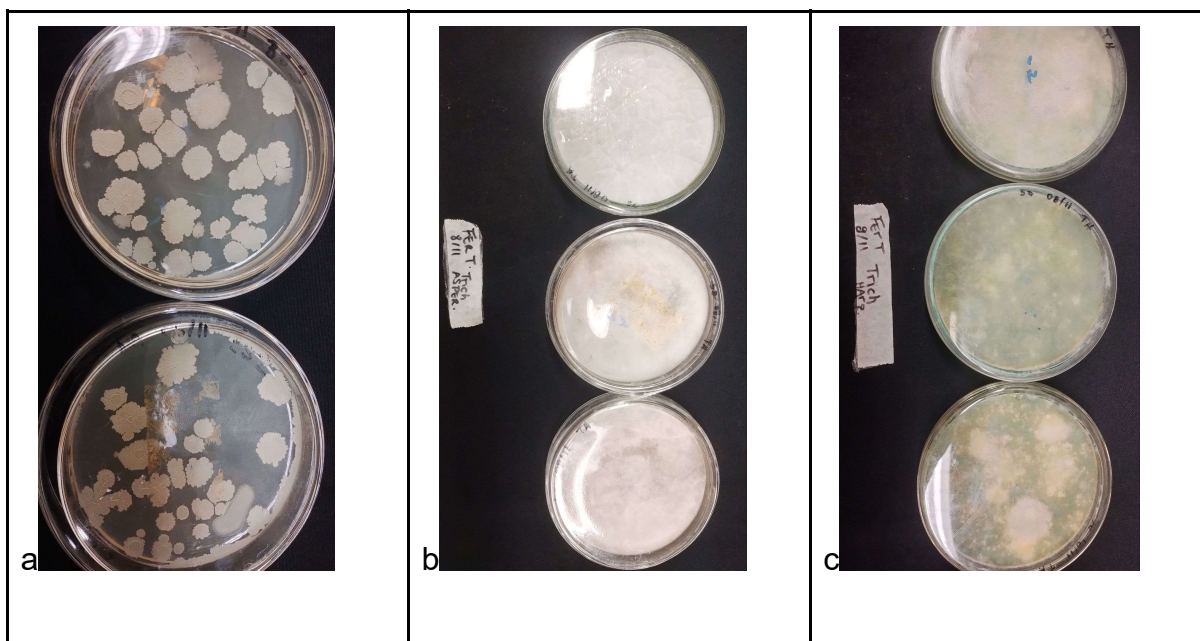


Figura 2 – Cultivos em placa de Petri dos microrganismos comerciais Placas após 48h de crescimento, respectivamente com: a - Bio-Imune - *Bacillus velezensis* BV02; b - Tricho-Turbo - *Trichoderma asperellum* BV10; e c - Trichodermil - *Trichoderma harzianum*, cepa ESALQ-1306, em diferentes diluições.



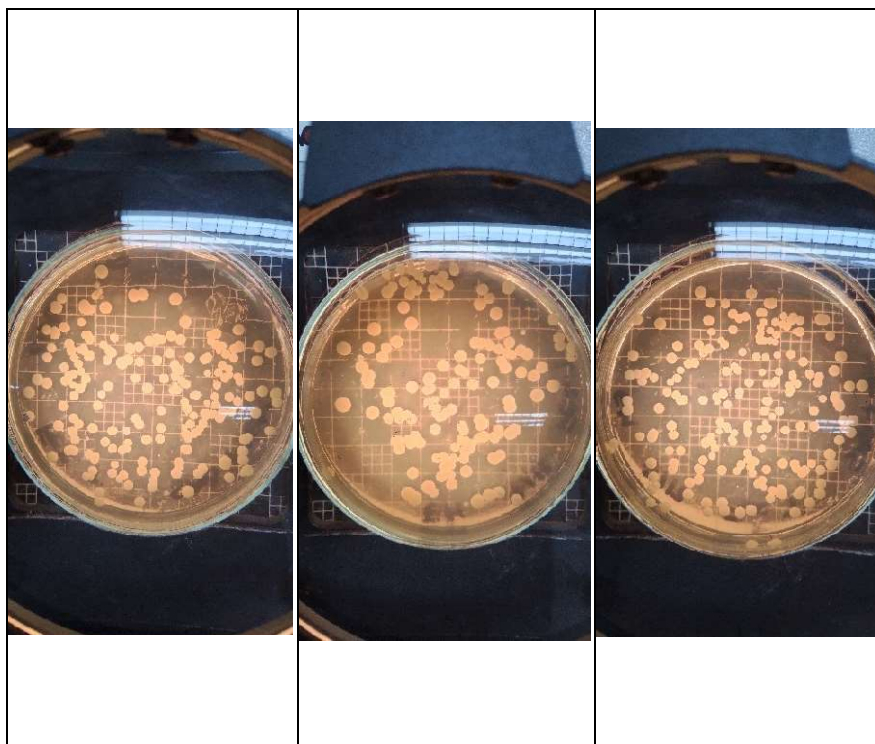


Figura 3 – Cultivo em placa de petri dos microrganismos coletados pertencentes à comunidade natural – Acima o crescimento em meio de cultura para bactérias (após 24h), com adição de nistatina (antifúngico), e abaixo, placas com adição de tetraciclina (antibiótico) – após 48h.

A aplicação dos microrganismos foi realizada em dois experimentos envolvendo a cultura do pimentão. Um realizado em condições de bandejas, para a produção de mudas, e outro em condições de campo, para avaliar o crescimento, desenvolvimento e produtividade da cultura.

No experimento realizado em bandejas, utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (Figura 4) considerando seis tratamentos: i) *B. velezensis* (TBS); ii) *Trichoderma harzianum* (TTH); iii) *Trichoderma asperellum* (TTA); iv) Comunidade sintética (*B. velezensis*, *T. harzianum* + *T. asperellum*) (TCS); v) Comunidade natural (microrganismos eficientes nativos) TCN e vi) controle. Foram realizadas quatro repetições por tratamento, com parcela útil composta por 12 mudas para cada tratamento. As bandejas de 50 células foram preenchidas com substrato “Carolina Soil - Classe V” semeando-se uma semente por célula.



Figura 4 – Delineamento experimental com tratamentos e aplicações de microrganismos do experimento em bandejas

A semente utilizada no plantio foi a de pimentão tipo lamuyo, cultivar Dahra R, produzida pela empresa Sakata. As bandejas foram cobertas com vermiculita, que depois receberam a aplicação dos microrganismos (em soluções de 2 mL por célula), para o tratamento controle foi aplicada apenas água, em todos os casos a aplicação foi realizada sobre o substrato. Ao todo foram realizadas duas aplicações – a primeira no dia da sementeira, e a segunda 30 dias após a sementeira.

Para o ajuste da quantidade de *T. harzianum* e *T. asperellum* foram observadas as orientações de aplicação dos produtos formulados em sulco de plantio, e reduzida a quantidade, já que o volume de substrato na bandeja é consideravelmente inferior ao dos canteiros de plantio. Como base para o cálculo, utilizou-se a mesma quantidade de conídios para ambos, com uma concentração dez vezes menor do que a utilizada por Yadev et al. (2021), que utilizaram essa concentração para tratarem as sementes de pimenta (*C. annuum*).

Para o ajuste da quantidade de *B. velezensis*, utilizou-se a bula de aplicação do produto e estudos similares. A recomendação do fabricante para aplicação foliar era de 5 ml de produto em 1 L para os 4 canteiros, o que corresponde a 12,5 ml por planta, contendo 2×10^8 UFC por planta. No estudo realizado por Ogugua et al. (2016), com tratamento de substrato de plantio com

*B. subtilis*² foram utilizadas 1×10^{12} unidades formadoras de colônia por ml, em vasos de 8 cm. Como as células das bandejas possuem volume inferior, optou-se por aplicar uma quantidade menor, já que não há orientação do fabricante para aplicação em solo. Dessa forma, considerou-se 3×10^6 unidades formadoras de colônias por célula da bandeja, uma vez que as aplicações de *B. velezensis* seriam recorrentes e não apenas uma, como no estudo citado. As concentrações de cada um dos tratamentos aplicados estão descritas na Tabela 1.

Para as mudas, as avaliações de número de folhas e altura de planta foram realizadas aos 40 e 60 dias após o plantio. As avaliações de diâmetro de caule, massa de matéria seca de raiz e parte aérea das mudas foram realizadas apenas 60 dias após a semeadura.

Para a contagem do número de folhas foram consideradas apenas as folhas verdadeiras. A altura de planta foi medida com uma régua milimetrada, considerando-se desde o colo da haste até a inserção da última folha, quando necessário as plantas foram movidas paralelamente à régua para realização da medida. O diâmetro do caule foi medido utilizando-se um paquímetro 150mm.

As medidas de massa de matéria seca foram realizadas apenas na segunda coleta de dados, por serem análises destrutivas. As partes verdes foram separadas em parte aérea e em raiz, e colocadas para secar em estufa de secagem com circulação de ar a 60 °C, em sacos de papel individualizados por tratamento. Após sete dias, as massas de cada um dos tratamentos foram pesadas em balança de precisão.

² No momento de definição das doses, o microrganismo do produto utilizado (Bio-Imune) ainda não havia sido reclassificado como *B. velezensis*.

Tabela 1 – Tratamento e dosagens utilizadas na formação das mudas de pimentão (*Capsicum annuum*)

Tratamento	Dosagem
TCN – Comunidade natural (Microrganismos eficientes nativos)	3 x 10 ⁵ UFC por semente/célula – em solução de 5% (v/v)
TCS – Comunidade sintética (<i>T. harzianum</i> + <i>B. velezensis</i> + <i>T. asperellum</i>)	4 x 10 ⁶ conídios <i>T. harzianum</i> + 4 x 10 ⁶ conídios <i>T. asperellum</i> + 3 x 10 ⁶ UFC de <i>B. velezensis</i> por semente/célula
Controle	Água (2 ml por célula)

O experimento de campo, para a avaliação dos microrganismos no crescimento, desenvolvimento e produtividade da cultura do pimentão, foi conduzido na área experimental do Laboratório de Agricultura orgânica, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, Campus Araras (Figura 5), em Argissolo Vermelho Distrófico latossólico (Yoshida; Rubismar, 2016), latitude 25°48'95" e longitude 75°31'215", entre os meses de novembro de 2023 e abril de 2024. A temperatura média e a precipitação desse período estão apresentadas na Figura 6.



Figura 5 – Área de plantio no Centro de Ciências Agrárias em Araras – SP. Elaborado por Julia Alves de Oliveira

Inicialmente, antes da instalação do experimento, procedeu-se com a análise de solo (Tabela 2), da camada de 0-20 cm, através de amostra composta por solo dos quatro canteiros de plantio, foram retiradas três amostras de cada

canteiros, utilizando-se cavadeira, homogeneizadas e separada uma fração para análise.

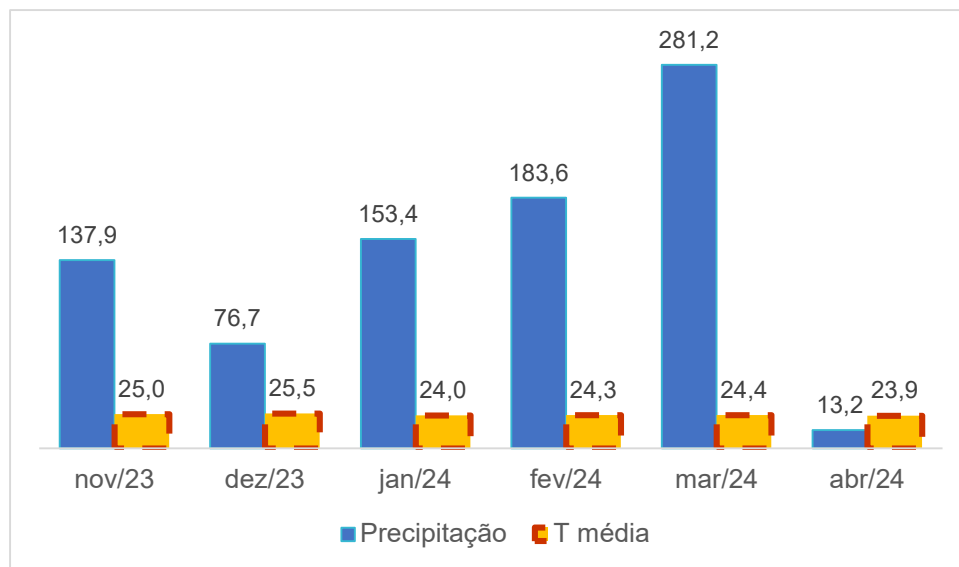


Figura 6 - Precipitação e temperatura média entre novembro/2023 e abril/2024 na área experimental

Tabela 2 – Caracterização química do solo da área experimental, na profundidade de 0-0,20 m

Determinações	Unidade	Amostra	Determinações	Unidade	Amostra
pH CaCl ₂	-	5,72	SB	mmolc.dm ⁻³	56,7
M.O.	g.dm ⁻³	22,9	CTC	mmolc.dm ⁻³	90,2
Fósforo	mg.dm ⁻³	6	V	%	63
S	mg.dm ⁻³	11,1	M	%	0
Cálcio	mmolc.dm ⁻³	30	Boro	mg.dm ⁻³	0,31
Magnésio	mmolc.dm ⁻³	25	Cobre	mg.dm ⁻³	2,1
Potássio	mmolc.dm ⁻³	1,73	Ferro	mg.dm ⁻³	28,8
Alumínio	mmolc.dm ⁻³	< 0,1	Manganês	mg.dm ⁻³	6,5
H+Al	mmolc.dm ⁻³	33,5	Zinco	mg.dm ⁻³	0,8

O campo experimental foi preparado 30 dias antes do plantio, com uma gradagem leve e foi utilizada encanteiradora para formação dos quatro canteiros de plantio, com 20 m de comprimento e 1,2 m de largura cada. Os canteiros

foram capinados e aplicado Yoorin Master S (Tabela 3), e posteriormente cobertos com palha seca a fim de conter espécies espontâneas até o plantio e evitar que o termofosfato fosse perdido por efeito do vento (Figura 7).



Figura 7 – Canteiros de plantio após preparo do solo e aplicação de cobertura morta

O cálculo da quantidade de Yoorin Master S (

Tabela 3) foi definido com base na necessidade de fósforo da cultura - Tabela 4 (Aguiar, 2014), e aplicado um mês antes do plantio. A quantidade aplicada foi de 0,275 kg por metro linear de canteiro (1,2 m²) – totalizando 22 kg nos quatro canteiros.

Tabela 3 - Composição Yoorin Master 1S

Nutriente	Composição em %
P2O5	12,00%
Ca	16,00%
Mg	6,50%
S	6,00%
B	0,10%
Cu	0,05%
Mn	0,30%
Si	9,00%

Zn	0,55%
----	-------

Tabela 4 – Necessidades de adubação e condições do solo para *Capsicum sp*

Nutriente/Condição	Valor de referência
pH	5,5 a 6,8
V%	80%
Mg (min)	8 mmolc dm-3
N	30 a 40 kg ha-1
P2O5	120 a 360 kg ha-1
K2O	40 a 120 kg ha-1

Fonte: Boletim 200 (Aguiar et al., 2014)

Procedeu-se também à aplicação do condicionador de solo classe A “Provaso” (Tabela 5), utilizando-se cerca de 900 g dele por planta.

Tabela 5 – Composição química do Condicionador de Solo Provaso

Nutriente	Condicionador de Solo Provaso
N	2,80%
P2O5	1,15%
K2O	0,54%
Mg	0,29%
S	0,29%
B	0,02%
Zn	0,11%

No experimento em campo, não foram utilizadas as mesmas mudas obtidas no experimento em bandejas. As mudas foram compradas de produtor comercial e foram realizados três tratamentos: i) comunidade sintética (*B. velezensis*, *T. harzianum* + *T. asperellum*) - TCS; ii) comunidade natural (microrganismos eficientes nativos) - TCN e iii) controle. Neste caso, houve

redução do número de tratamentos por conta de contratempos³ que ocorreram na produção de mudas e em campo, necessitando dessa redução para a obtenção de informações mais assertivas. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (Figura 8), considerando quatro blocos, em três parcelas por bloco. Cada parcela foi composta por oito plantas e a parcela útil correspondia às quatro plantas centrais.

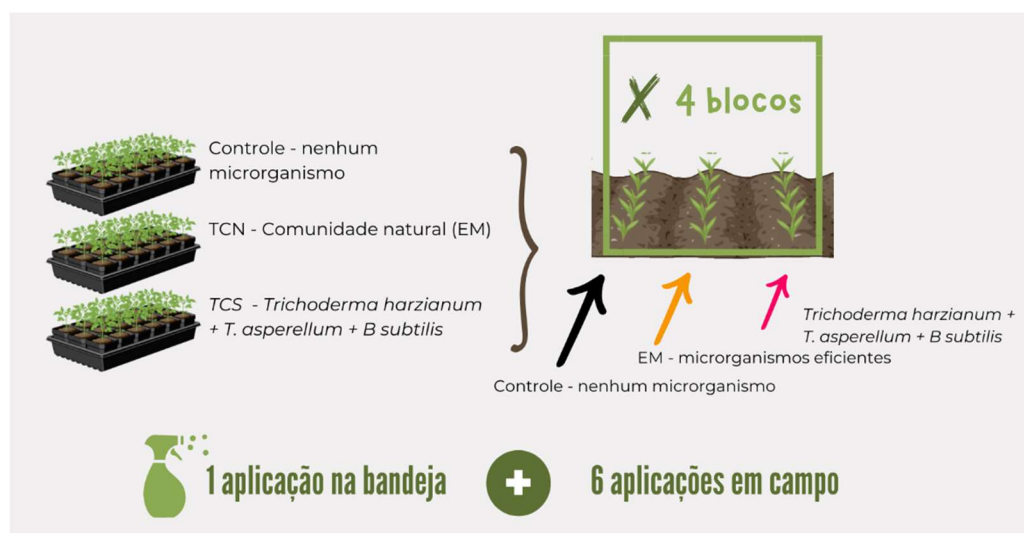


Figura 8 – Delineamento experimental e tratamentos aplicados nas plantas no experimento realizado em campo

³ As taxas de emergência observadas nos tratamentos, inclusive no controle, foram consideravelmente mais baixas do que o informado pela empresa responsável pelas sementes (92%), chegando a 25% para o tratamento controle. Por esse motivo essa etapa de formação de mudas foi realizada três vezes. A primeira vez em 04 de novembro de 2023, a segunda em 18 de dezembro de 2023 – ambas utilizaram sementes de pimentão lamuyo Wallace, da Feltrin, e ambas tiveram baixas taxas de germinação. O terceiro plantio ocorreu em 3 de abril, pois foi necessário esperar a chegada da nova semente, bandejas e substrato, o que inviabilizou a utilização dessas mudas para a etapa de campo.

Em campo, também foram realizados dois plantios, pois houve perda de mais da metade das mudas plantadas por *dumping off*. O primeiro transplante foi realizado em 9 de fevereiro, e o segundo em 19 de fevereiro, não foi possível manter os seis tratamentos, pois os viveiros que conseguimos contactar não tinham mudas suficientes para manter todos os tratamentos, o que levou à redução de seis para três tratamentos.

Foi realizada uma aplicação dos tratamentos das bandejas um dia antes do transplante, e outras seis aplicações ao longo dos 2,5 meses (Tabela 6) em que as plantas estiveram em campo, seguindo as orientações da bula dos produtos comerciais (Tabela 7). Para realização da aplicação em campo, as plantas foram individualizadas com proteção vinílica, e a solução pulverizada sobre todas as folhas, uma planta por vez, utilizando-se pulverizador pressurizado manual e reduzindo-se o risco de contaminação dos tratamentos vizinhos por deriva.

Tabela 6 – Datas das aplicações dos tratamentos na mudas de pimentão na bandeja e em campo

Atividade	Data
Aplicação nas bandejas, antes do plantio	19/02/2024
Primeira aplicação em campo	06/03/2024
Segunda aplicação em campo	14/03/2024
Terceira aplicação em campo	25/03/2024
Quarta aplicação em campo	03/04/2024
Quinta aplicação em campo	19/04/2024
Sexta aplicação em campo	03/05/2024

Tabela 7 – Tratamento e dosagens utilizadas nas plantas de pimentão (*Capsicum annum*) em campo

Tratamento	Dosagem
TCN – Comunidade natural (Microrganismos eficientes nativos)	Solução de 5% (v/v)
TCS – Comunidade sintética (<i>T. harzianum</i> + <i>B. velezensis</i> + <i>T. asperellum</i>)	Solução de 0,12% (v/v) de <i>T. harzianum</i> + Solução de 0,04% (v/v) de <i>T. asperellum</i> + Solução de 0,8% (v/v) de <i>B. velezensis</i>
Controle	Nenhum

Ao todo foram realizadas cinco avaliações (altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas, número de ramos, número de botões, número de flores e frutos), realizadas quinzenalmente e houve quatro colheitas de frutos no período, respeitando-se o tamanho mínimo de 10 cm para realização da retirada dos frutos.

Para a medida da altura das plantas foi utilizada uma régua milimetrada de 60 centímetros até a quarta coleta de dados, e uma régua milimetrada de 1,2 m para as duas últimas avaliações. As plantas foram medidas desde a base até a inserção mais alta de folhas, sem movimentação das plantas. Para o diâmetro do caule considerou-se a base da haste, mais próxima ao solo, medida com paquímetro analógico 150 mm. O número de folhas, ramos, botões, flores e frutos foram obtidos através de contagem simples.

Todos os resultados foram submetidos a análise de variância e, quando verificado efeito significativo, ao teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando o programa R.4.1.1 (R Core Team, 2021) e os pacotes ExpDes.pt (Ferreira et al, 2021) e easyanova (Arnhold, 2013).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição da Comunidade Natural (EM)

A contagem da quantidade de UFC para fungos e bactérias foi realizada em meio de cultivo próprio para cada um dos grupos de microrganismos, em triplicata, donde chegou-se ao total de $5,96 \times 10^6$, conforme contagens apresentadas no gráfico da Figura 9.

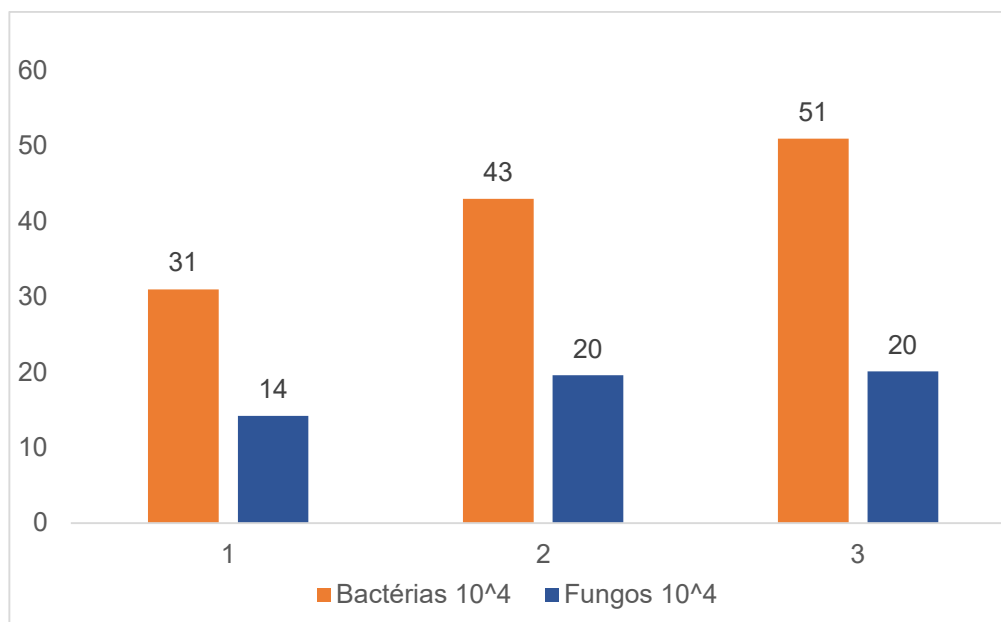


Figura 9 – Contagem de bactérias e fungos em plaqueamentos contendo a comunidade natural (EM). R = repetições

A composição microbiológica da comunidade natural (“EM”) pode ser observada na Tabela 8:

Tabela 8 – Quantidade e distribuição de microrganismos encontrados na comunidade natural – EM

Fungos	N	%	Bactérias	N	%
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	54.955	86,59%	<i>Lactobacillus casei</i>	25.607	83,19%
<i>Saccharomyces sp.</i>	7.502	11,82%	<i>Bacillus cereus</i> group	4.844	15,74%
<i>Pichiaceae sp.</i>	852	1,34%	<i>Bacillus sp.</i>	249	0,81%
<i>Mucor circinelloides</i>	105	0,17%	<i>Lactobacillus sp.</i>	55	0,18%
<i>Mucor racemosus</i>	22	0,03%	<i>Lactobacillus zeae</i>	11	0,04%
<i>Mucor bainieri</i>	13	0,02%	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	8	0,03%
<i>Fusarium oxysporum</i>	5	0,01%	<i>Priestia flexa</i>	9	0,03%
<i>Meyerozyma carpophila</i>	6	0,01%			
<i>Rhizopus oryzae</i>	8	0,01%			

Quase a totalidade da amostra pode ser representada por seis grupos de microrganismos (Figura 10). Entre as bactérias estão, por ordem de representatividade, *Lactobacillus casei*, *Bacillus cereus* e *Bacillus sp.* E entre os fungos estão *Wickerhamomyces anomalus*, *Saccharomyces sp.*, *Pichiaceae sp.*

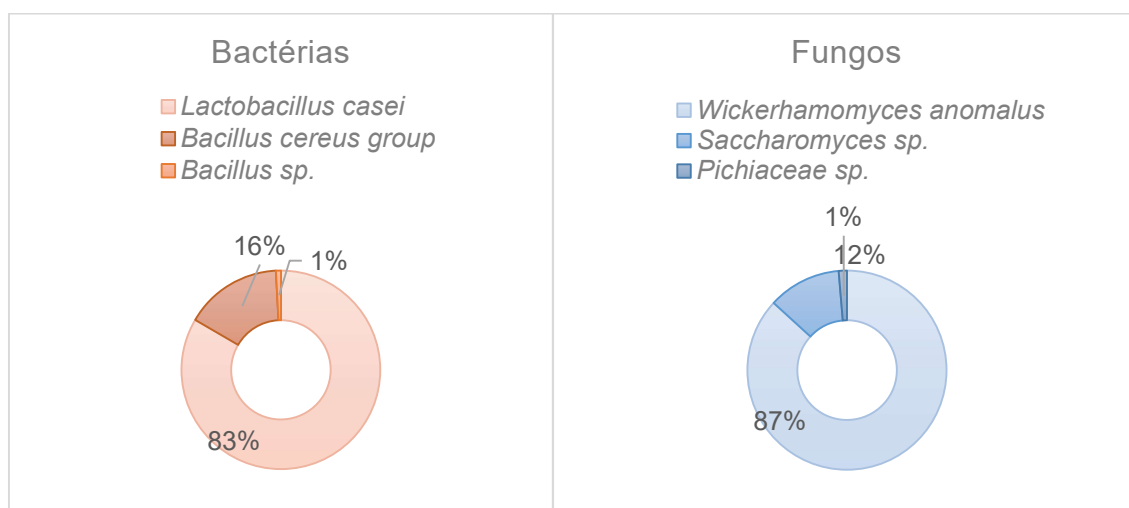


Figura 10 – Distribuição dos três microrganismos mais abundantes identificados na comunidade natural – EM

Os três principais fungos encontrados são leveduras, estudadas por terem importantes ações como agentes de biocontrole na natureza. Estudos utilizando *W. anomalus* como agente de biocontrole demonstraram ação antifúngica, em estudos *in vitro*, em relação a diferentes espécies de *Monilinia* sp (Grzegorzczuk et al., 2016).

Em estudos de pós-colheita de cacau, *W. anomalus* inibiu o desenvolvimento de fungos filamentosos de armazenamento, como *Thielaviopsis paradoxa* e *Colletotrichum gloeosporioides*, através da produção de enzimas extracelulares que inibiram seu crescimento e a germinação de esporos (Zepeda-Giraud et al., 2020). Essas enzimas são conhecidas como β -glucanases (Błaszczuk, 2017), que se ligam a receptores primários da parede celular de células alvo, depois são translocadas para receptores secundários da membrana plasmática e causam a lise osmótica e morte celular, esse mecanismo também é conhecido por produção de toxinas killer (Izgü et al., 2006). Ressalte-se que boa parte dos estudos sobre essa levedura são da área de biotecnologia de alimentos, sendo muito encontrada em alimentos fermentados e reconhecida por seu potencial antimicrobiano (Cecarini et al., 2019).

Entre as bactérias, destaca-se o grupo dos *Lactobacillus*, grupo de bactérias conhecidas por sua propriedade fermentativa, que reduz o pH do meio e inibe o desenvolvimento de bactérias patogênicas (Olle & Williams, 2015).

A segunda espécie de destaque é o *Bacillus cereus*. Em estudo realizado no México, essa bactéria foi encontrada em associação com raízes de tomateiro, a qual foi identificada, isolada e aplicada junto a esterco solarizado promovendo melhoria da produtividade (em 20%) e do desenvolvimento de plantas, especialmente raízes (46%) na comparação com o uso apenas de adubos minerais (Andrade-Sifuentes et al., 2022).

Alguns estudos, como o de Rungchaiwattanakul e outros autores (2022), apontam para a ação sinérgica como agentes de biocontrole de *W. anomalus* e *Lactobacillus* sp. na conservação de silagem de milho e redução da produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus*. Apesar de não serem evidenciados os

mecanismos dessa interação, o resultado da utilização de uma comunidade sintética foi mais interessante do que cada microrganismo isolado, já que bactérias ácido lácticas atuam na fermentação, produzindo moléculas orgânicas que reduzem o pH, e *W. anomalus* é uma levedura anaeróbia facultativa resistente a meios ácidos, e ambas produzem substâncias que inibem o desenvolvimento de outros microrganismos patogênicos.

Na produção de mudas de pimentão (*C. annuum*) foi possível observar diferença entre os tratamentos (Figura 11 e Figura 10).

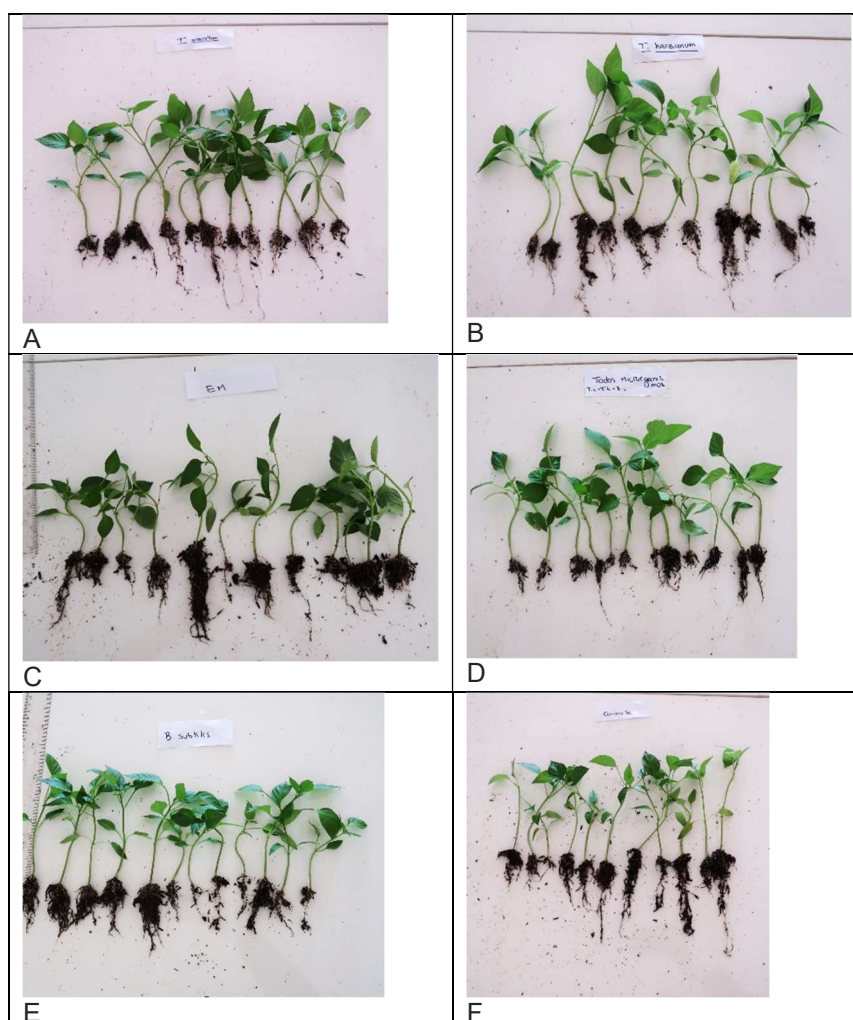


Figura 11 – Mudanças de pimentão (*C. annuum*) aos 60 dias para cada um dos tratamentos aplicados. A: *T. asperellum*; B: *T. harzianum*; C: Comunidade natural – EM; D: Comunidade sintética; E: *B. velezensis*; F: Controle.

Para diâmetro do caule houve destaque para *T. harzianum*, entretanto, sem diferença com *T. asperellum* e *B. velezensis*. Em relação à altura, *T. harzianum* e *T. asperellum* também se destacam, seguido do tratamento Controle. Para número de folhas, o mesmo ocorre com o melhor desempenho, juntamente com o *T. asperellum* e o tratamento “comunidade sintética”. A massa de matéria seca de parte aérea foi superior para o tratamento de *T. harzianum*. Para a massa de matéria seca de raiz, e volume médio de raiz, observou-se novamente destaque para o tratamento *T. asperellum*.

Sendo assim, conforme se pode observar na Figura 12, o tratamento com *T. harzianum* e com *T. asperellum* se mostraram superiores na formação de mudas de pimentão em quase todos os quesitos avaliados.

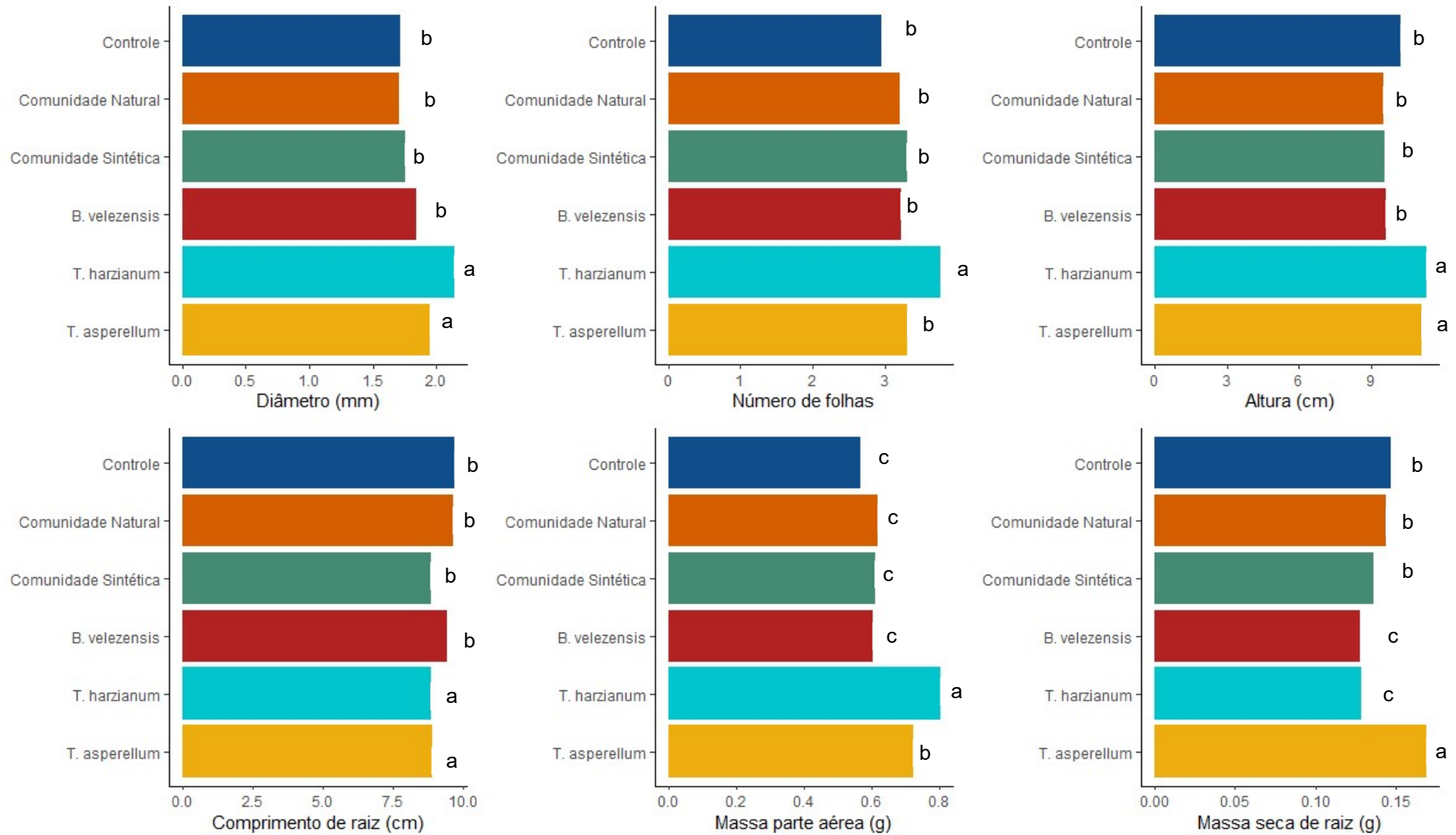


Figura 12 – Diâmetro de haste (mm), altura de plantas (cm), número de folhas, comprimento de raiz (cm), massa de matéria seca de raiz e parte aérea (g) de *Capsicum annum* considerando a aplicação de diferentes tratamentos com microrganismos

Letras minúsculas diferentes nas colunas representam diferenças estatísticas considerando-se teste de Scott-Knott com significância de 5%, para cada variável observada.

Em estudo recente, os autores avaliaram a interação entre *Trichoderma* sp e plantas de pimentão verificaram diferenças mais significativas no desenvolvimento de raízes e plantas (Yadav et al., 2021). Entretanto, o experimento realizado por Yadav et al. (2021), implicou na aplicação *in vivo* de *T. harzianum* e *T. asperellum* – isolados e em comunidade sintética (de *T. harzianum* e *T. asperellum* apenas) em sementes biocondicionadas de *C. annuum*. Os resultados obtidos no referido estudo para massa seca de raiz para ambos os microrganismos isolados foi mais de três vezes superior ao controle, e a comunidade sintética chegou a ser seis vezes superior ao último.

Uma das possíveis razões para a diferença entre os resultados obtidos pelo experimento de Yadav e o que é apresentado neste trabalho, é a diferença de tratamento – no caso do presente estudo, os microrganismos foram aplicados no substrato, enquanto no experimento conduzido por Yadav (2021) a aplicação foi diretamente nas sementes, por meio de biocondicionamento, o que pode ter intensificado os efeitos desses microrganismos por promover contato direto dos microrganismos com os tecidos da semente.

A análise dos dados referentes às mudas também indicou que a utilização da comunidade sintética composta por *T. asperellum*, *T. harzianum* e *B. velezensis* não teve desempenho superior aos tratamentos com os *Trichodermas* isolados. Diferente do observado por Yadav (2021), em que a utilização conjunta de *T. asperellum* e *T. harzianum* obteve as melhores médias para desenvolvimento de plantas e de raízes.

Possivelmente, esse resultado deveu-se à interação negativa entre *B. velezensis* e os *Trichodermas*, já que o primeiro pode produzir toxinas que inibem o crescimento de fungos. Foi realizado um plaqueamento em triplicata, utilizando placa de Petri de 150 x 25 mm, com meio de cultura PCA (composto por 5g/L de triptona 1g/L de glicose, 2,5 g/L de extrato de levedura e 15 g/L de agar, com pH igual a 7) para observação da interação entre os três microrganismos. Nesse plaqueamento pôde ser observado que todos se desenvolveram, porém, após 21 dias apenas *T. harzianum* produziu esporos. Após sete dias *T. asperellum* já apresentava hifas por toda a placa, porém não formou corpos de frutificação. Não foi possível observar o desenvolvimento de *B. velezensis*, apesar de o meio ser utilizado para o desenvolvimento de bactérias. Seriam

necessários outros ensaios com meios de cultivo distintos, porém não houve tempo hábil para realização dos demais testes.

Interações entre microrganismos diferentes podem ser positivas ou negativas, inclusive, é possível que os mesmos microrganismos tenham diferentes formas de interação em diferentes condições de cultivo.

Um exemplo disso foi observado por Vassilev (2022), em co-culturas de *T. harzianum* e *B. velezensis*, que em situação de restrição de nutrientes, apresentaram uma relação de cooperação, o que possibilitou que as duas espécies crescessem na mesma placa. Diferente do que ocorreu com o cultivo pareado em meio enriquecido, que induziu a expressão de genes que sintetizam lipopeptídeos de ação fungicida por parte de *B. velezensis* e culminou no não desenvolvimento de *T. harzianum*.

A Figura 13 ilustra algumas possibilidades de interação entre microrganismos encontradas em pesquisas consultadas ao longo do trabalho. Na condição 1 tem-se a situação observada por Vassilev (2022), que em meio com restrição de nutrientes, houve cooperação entre *T. harzianum* e *B. velezensis*, do tipo comensalista, já que *B. velezensis* se utiliza dos metabólitos de *T. harzianum* e deixa de produzir substâncias inibidoras.

A condição 2 ilustra a relação de competição e amensalismo, quando em meio de cultivo enriquecido, *B. velezensis* produz moléculas que inibem o crescimento de *T. harzianum*.

A condição 3 apresenta a situação descrita por Yadav et al. (2021), em que a utilização conjunta de *T. asperellum* e *T. harzianum* teve resultado superior à aplicação de cada um deles individualmente em plantas de *C. annuum*, indicando a possibilidade de relação cooperativa positiva entre eles.

As condições 4 e 5 apresentam as hipóteses para o resultado encontrado no presente trabalho, que demanda estudos aprofundados, em que ora houve impossibilidade de desenvolvimento de um dos microrganismos, ora alteração da proporção esperada, de maneira a impactar o efeito esperado de cada microrganismo individualmente.

Por final, a condição 6 apresenta a situação descrita por Rungchaiwattanakul e outros autores (2022), em que a presença de

Lactobacillus sp. cria um ambiente em que *W. anomalus* e *K. marxianus* conseguem crescer e se manterem no meio, porém de forma limitada, em uma relação que poderia ser comensalista ou mutualista, já que as leveduras *W. anomalus* e *K. marxianus* também produzem substâncias inibidoras de outros microrganismos.

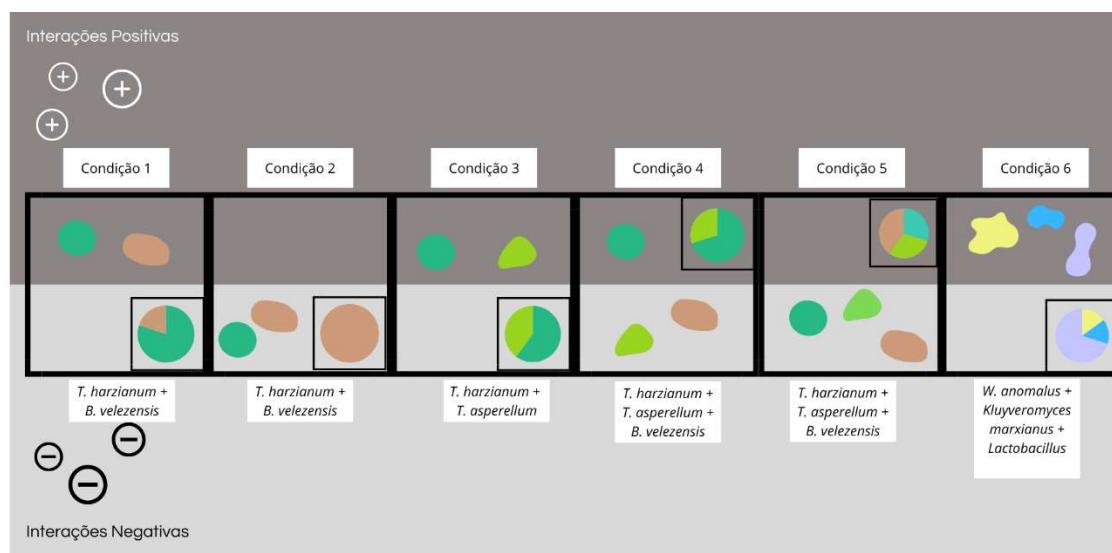


Figura 13 – Interações possíveis e observadas na literatura e nesse estudo, entre diferentes microrganismos em condições distintas

O resultado observado no experimento de Vassilev (2022) pode ser um indicativo do resultado obtido na produção de mudas de pimentão, cujos tratamentos que envolveram a aplicação de ambos os Trichodermas isoladamente apresentaram resultados positivos para quase todos os parâmetros, porém o mesmo não foi observado para as plantas do tratamento TCS (em que ambos os Trichodermas foram combinados com *B. velezensis*).

A comunidade natural (EM) não teve efeito na formação das mudas nos quesitos diâmetro da haste, altura, número de folhas, massa seca de parte aérea ou massa seca e volume médio de raiz. Entretanto, tampouco causou danos ao cultivo, além de a composição dessa comunidade, rica em leveduras, *Lactobacillus* e *Bacillus*, indicar algum potencial de biocontrole que talvez possa se expressar em outros estudos.

Além disso, é possível que se estudem outras composições de comunidades naturais com microrganismos coletados na região, adicionando-se outros nutrientes ao meio de cultura, como leite, farinha de osso e pós de rocha, possibilitando a presença de uma gama mais diversa de microrganismos.

Esse resultado, na verdade, evidencia a necessidade de estudos de campo e de laboratório com diferentes condições de crescimento e ressalta a importância de estudos como o que foi realizado e está sendo apresentado neste trabalho.

Considerando o experimento de campo (Figuras 10 e 11), não houve diferença entre os tratamentos, o que foi confirmado após a realização das análises estatísticas (Tabela 8), e a produtividade, que seria uma das principais variáveis para verificação do efeito dos tratamentos em campo, apresentou variação muito grande, chegando a um coeficiente de variação de 63,12%.

Figura 14 – Vista das plantas de *Capsicum annuum* por tratamento aos 75 dias após o plantio em dois blocos diferentes. TCN = tratamento comunidade natural, TCS = tratamento comunidade sintética.

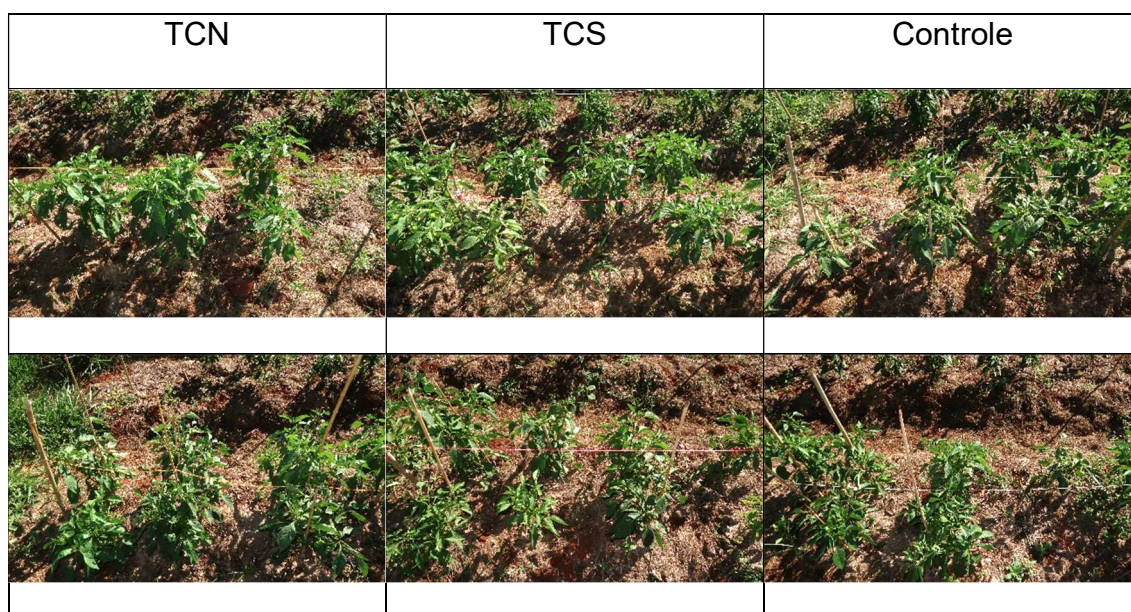


Tabela 9 – Altura média por planta (cm), diâmetro médio da haste por planta (mm), massa seca média por planta (g), número de folhas por plantas e produtividade total por área (t/ha) para cada um dos tratamentos de microrganismos aplicados em plantas de pimentão. TCN = tratamento comunidade natural, TCS = tratamento comunidade sintética.

Tratamentos	Altura	Diâmetro da haste	Massa seca	Número de folhas	Produtividade (t/ha)
TCN	53,6*	14,3*	40,38*	91,2*	5,6*
TCS	45,3*	12,9*	40,56*	77,3*	4,5*
Controle	52,5*	13,8*	36,00*	82,7*	6,3*
Média	50,3	13,6	39,25	83,8	5,4
Coefficiente de variação	21,26%	15,73%	31,26%	22,43%	63,12%

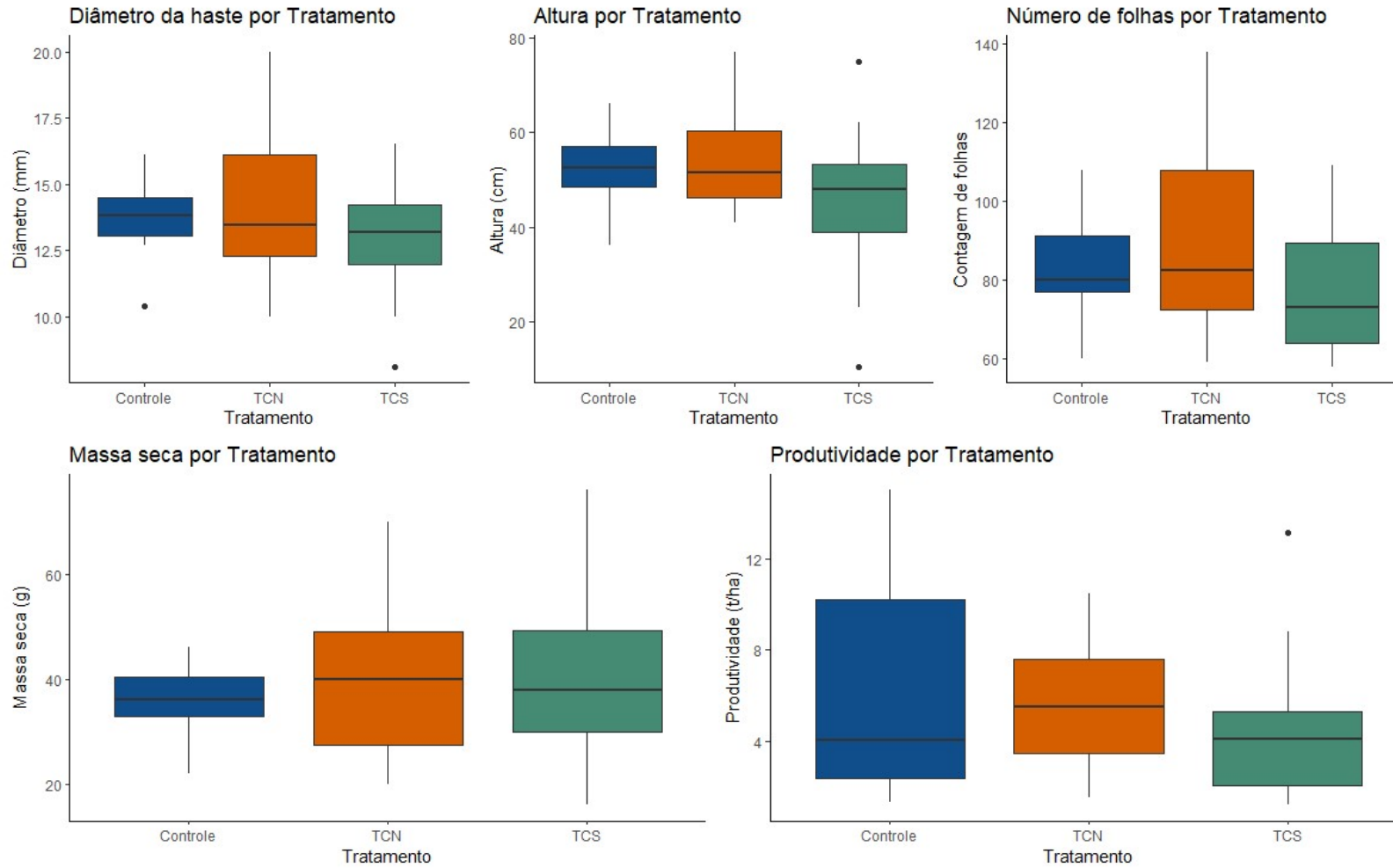
*Considerando-se a probabilidade de 0,05, não foi possível identificar diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Tukey.

Apesar de não haver diferença entre as médias dos tratamentos, os gráficos de caixa (Figura 11) permitem melhor compreensão do conjunto dos dados analisado. Nos gráficos é possível observar que para altura da planta, diâmetro da haste e número de folhas, há destaque para a comunidade natural (TCN) – apresentando, porém, maior variabilidade das informações. Exceto para produtividade, o tratamento controle apresentou maior homogeneidade nos parâmetros

O gráfico de produtividade indica que, apesar de o tratamento controle ter tido plantas mais produtivas, a mediana é a mais baixa, o que significa que metade das plantas tiveram menores produtividades em relação a TCN e TCS. A comunidade natural foi o tratamento que obteve maior mediana, e um conjunto mais homogêneo dos dados, de – 1,5 a 10,5 t/ha, apesar de uma média de produtividade mais baixa (5,6 t/ha), enquanto o controle teve variação de 1,3 a 15 t/ha – com média de 6,3 t/ha, e a comunidade sintética de 1,2 a 13,2 t/ha, e média de 4,5 t/ha.

Em todos os casos, entretanto, a amplitude das informações coletadas foi considerável, o que indica a necessidade de novos experimentos com maior número de observações para validar os resultados de campo.

Figura 15 – Gráficos de caixa de altura (cm), diâmetro haste (mm), massa seca (g), número de folhas e produtividade total por área (t/ha) para cada um dos tratamentos de microrganismos aplicados em plantas de pimentão. TCN = tratamento comunidade natural, TCS = tratamento comunidade sintética.



Em campo não houve diferenças significativas entre os tratamentos, o que aponta para a necessidade de mais estudos, com número maior de observações e mais tratamentos. Além disso, o campo sofreu com o ataque de formigas (Figura 15) e de ácaros (Figura 14), optamos por não aplicar nenhum produto ou calda a fim de ver se haveria algum efeito dos tratamentos sobre os aracnídeos, porém isso não ocorreu e os danos atingiram todos os tratamentos igualmente.



Figura 16 – Planta de pimentão (*C. annuum*) com sinais de ataque de ácaro



Figura 17 - Planta de pimentão (*C. annuum*) com sinais de ataque por formigas cortadeiras

Uma série de hipóteses podem ser aventadas a respeito da impossibilidade de comparação entre as médias obtidas, sendo o ataque generalizado a mais contundente, que afetou mais de 60% do plantio em campo.

No caso das formigas a parcela que continha o tratamento controle de um dos blocos foi completamente atacada, inviabilizando o uso dessa parcela nas análises subsequentes, que foi tratada estatisticamente como parcela perdida.



Figura 18 – Foto superior do campo experimental e mapeamento do ataque de formigas e ácaros nas plantas de pimentão (*C. annuum*)

Outra possibilidade é a adubação ter sido suficiente para as plantas não necessitarem recrutar esses microrganismos para si. Para verificar essa possibilidade seria possível promover diferentes adubações na área. A aplicação dos microrganismos foi foliar, talvez se tivesse sido feita diretamente no solo, os resultados poderiam ser distintos – para tal afirmação seria necessário estudo comparando resultado das duas formas de aplicação. A própria dosagem utilizada poderia ser modificada, ou mesmo a frequência de aplicações, e comparados os resultados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi verificada a presença de leveduras e lactobacillus na comunidade natural (EM), o que corrobora a literatura científica sobre a composição do material coletado, porém a diversidade encontrada não foi tão alta como se esperava. Sendo que quase 100% dos microrganismos pertenciam a apenas 5 grupos.

Ainda assim, esses microrganismos encontrados apresentam, de acordo com a literatura consultada, atividade antagonista com fungos patogênicos, e podem ter importância agrônômica. Por isso merecem mais estudos, inclusive

reproduzindo a coleta em diferentes épocas do ano e verificando se há alteração em sua composição.

Dentre os tratamentos utilizados na formação de mudas de pimentão (*C. annuum*), apenas *T. harzianum* e *T. asperellum* tiveram resultados de destaque dos demais. E a comunidade sintética, composta por *T. harzianum*, *T. asperellum* e *B. velezensis* teve desempenho inferior aos dois fungos aplicados isoladamente. Tal resultado desperta para as interações entre os microrganismos, que podem ser positivas ou negativas, e a necessidade de mais estudos para compreendê-las. Inclusive o teste de aplicações escalonadas – no caso da aplicação conjunta de Bacillus e fungos, já que os primeiros produzem substâncias que inibem o desenvolvimento de fungos.

Para futuras pesquisas, observou-se a necessidade de maior atenção com o campo, preferencialmente em conjunto com um/a agricultor/a, o que pode facilitar alguns manejos – desde a formação das mudas até o campo propriamente dito. Realização de testes pareados com os microrganismos que compõem a comunidade sintética em diferentes condições de substrato e meios de cultivo também podem ser interessantes para a análise dos dados.

Além disso, a análise de *metabarcoding* teve como produto um arquivo em Fastq com todos os microrganismos encontrados na amostra. O aprofundamento nesse conteúdo seria muito interessante, bem como testes de solubilização de fósforo, potássio, produção de enzimas, toxinas e sideróforos, para cada um dos microrganismos isolados.

Infelizmente, são muitas as possibilidades de estudo e pouco tempo para todas elas nos 12 meses compreendidos em um projeto de Iniciação Científica e de trabalho de conclusão de curso. A abordagem multidisciplinar pode ser interessante, com mais de um pesquisador em torno de um tema comum, porém contribuindo com diferentes olhares e especialidades, como a parte microbiológica laboratorial, a observação e cuidado com o campo e as pesquisas específicas e identificação de microrganismos e suas funcionalidades agrônômicas potenciais – atestadas ou não em campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, T. et al. Boletim 200: instruções agrícolas para as principais culturas econômicas. 7.^a Ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 2014. 452 p. (Boletim IAC, n.º 200)

Altieri, M. A. Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável. 3 ed. Ver. Apl – São Paulo, Rio de Janeiro: Expressão Popular, AS-PTA, 2012. 400 p. 2012

Andrade, F. M. C. (Rev.) Caderno dos microrganismos eficientes (EM): Instruções práticas sobre o uso ecológico e social do EM. Viçosa, MG, 2020. 31p.

Andrade-Sifuentes, A., Fortis-Hernández, M., Preciado-Rangel, P., Sáenz-Mata, J., Coria-Arellano, Y., & López, C. G. (2022). Promoción del crecimiento de tomate saladette con *Bacillus cereus* y estiércol solarizado en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(7), 1259–1270. <https://doi.org/10.29312/REMEXCA.V13I7.3120>

Arnhold, E. Package in the R environment for analysis of variance and complementary analyses. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.50, n.6, p.488-492, 2013.

Athar, Habib-ur-Rehman et al. Modulating infestation rate of white fly (*Bemisia tabaci*) on okra (*Hibiscus esculentus* L.) by nitrogen application. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 33, p. 843-850, 2011.

Błaszczyk, U. et al. Effect of *Wickerhamomyces anomalus* and *Pichia membranifaciens* killer toxins on fermentation and chemical composition of apple wines produced from high-sugar juices. *Journal of Food & Nutrition Research*, v. 56, n. 2, 2017.

Cecarini, V., Cuccioloni, M., Bonfili, L., Ricciutelli, M., Valzano, M., Cappelli, A., Amantini, C., Favia, G., Eleuteri, A. M., Angeletti, M., & Ricci, I. (2019). Identification of a killer toxin from *wickerhamomyces anomalus* with β -glucanase activity. *Toxins*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/toxins11100568>

Chaboussou, F. (2006). *Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: novas bases de uma prevenção a doenças e parasitas - a teoria da trofobiose*. Editora Expressão Popular: São Paulo, 1ª Edição. 320 p.

Chin, J. M., Lim, Y. Y., & Ting, A. S. Y. (2022). Biopriming vegetable seeds with metal-tolerant biocontrol agents to enhance tolerance to biotic and abiotic stress. *Biological Control*, 174, 105035.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2022.105035>

Cristina, A., Marta, L., Corsi, C., Filippi, D., Magri, C., Adriano, F., & Nascente, S. (n.d.). Mitigação dos estresses abióticos na agricultura mediada pela interação de microrganismos e plantas. 2021.
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Cyrino De Oliveira-Filho, E., Furquim, J. E., & Lima, W. (n.d.). *Potencial de Impacto da Agricultura sobre os Recursos Hídricos na Região do Cerrado Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Cerrados Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. 2002.

Duraisamy, K., Muthusamy, S., & Balakrishnan, S. (2018). An eco-friendly detoxification of chlorpyrifos by *Bacillus cereus* MCAS02 native isolate from agricultural soil, Namakkal, Tamil Nadu, India. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 283–290. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2018.01.001>

Gomes, J. P. A. et al. Uso de microrganismos eficientes como alternativa para agricultura sustentável: um referencial teórico. *Agroecologia: Métodos e Técnicas para uma Agricultura Sustentável*, v. 5, p. 340-355, 2021.

Gomes, M.; Ferreira, L. J. Políticas públicas e os objetivos do desenvolvimento sustentável. *Direito e Desenvolvimento*, v. 9, n. 2, p. 155-178, 3 dez. 2018.

Gonçalves, A. C., Luchese, E. B., & Lenzi, E. Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. *Química*

Nova, 23(2), 173–177. 2000. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000200006>

Higa, T. Effective microorganisms: A biotechnology for mankind. In: Proceedings of the first international conference on Kyusei nature farming. US Department of Agriculture, Washington, DC, USA. 1991. p. 8-14.

Higa, T.; Parr, J. F. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. Atami, Japan: International Nature Farming Research Center, 1994.

Higa, T. Effective Microorganisms, concept and recent advances in technology. In: Proceedings of the Conference on Effective Microorganisms for a sustainable agriculture and environment. 4th International Conference on Kyusei Nature Farming, Bellingham-Washington USA. 1998. p. 247-248.

Lopes-Ferreira, M., Luis Almeida Maleski, A., Balan-Lima, L., Thiago Gonçalves Bernardo, J., Marques Hipolito, L., Carolina Seni-Silva, A., Batista-Filho, J., Alice Pimentel Falcao, M., & Lima, C. (2022). *Citation: Lopes-Ferreira Impact of Pesticides on Human Health in the Last Six Years in Brazil*. <https://doi.org/10.3390/ijerph19063198>

Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., Nogueira D. A. (2021). ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portugues). R package version 1.2.2. <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>

Grzegorzczak, M., Restuccia, C., & Cirvilleri, G. (2016). Biocontrol activity of *Debaryomyces hansenii* and *Wickerhamomyces anomalus* killer yeast strains against phytopatogenic fungi of the species *Monilinia*. *New Biotechnology*, 33, S209. <https://doi.org/10.1016/J.NBT.2016.06.1441>

Izgü, F., Altinbay, D., & Acun, T. (2006). Killer toxin of *Pichia anomala* NCYC 432; purification, characterization and its exo- β -1,3-glucanase activity. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(4), 669–676. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2005.11.024>

Khoso, M. A., Wagan, S., Alam, I., Hussain, A., Ali, Q., Saha, S., Poudel, T. R., Manghwar, H., & Liu, F. (2024). Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective. *Plant Stress*, *11*, 100341.

<https://doi.org/10.1016/J.STRESS.2023.100341>

Kumari, S., Bharat, N. K., & Thakur, A. K. (2020). Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Bio-Control Agents (BCAs) in Crop Production. *International Journal of Economic Plants*, *7*(3), 144–150.

<https://doi.org/10.23910/2/2020.0379>

Maria, A., Benite, C., De, S., Machado, P., Da, B., & Machado, C. (2002). SIDERÓFOROS: “UMA RESPOSTA DOS MICROORGANISMOS.” In *Quim. Nova* (Vol. 25, Issue 6B).

Nunes, P. S. O., Lacerda-Junior, G. V., Mascarin, G. M., Guimarães, R. A., Medeiros, F. H. V., Arthurs, S., & Bettiol, W. (2024). Microbial consortia of biological products: Do they have a future? *Biological Control*, *188*, 105439.

<https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2024.105439>

Olle, M., & Williams, I. H. (2015). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology Effective microorganisms and their influence on vegetable production-a review*. <https://doi.org/10.1080/14620316.2013.11512979>

Reyna-Ramírez, C. A. et al. Redesign of the traditional Mesoamerican agroecosystem based on participative ecological intensification: Evaluation of the soil and efficiency of the system. *Agricultural Systems*, v. 165, p. 177-186, 2018.

Ribeiro, CS da C. et al. *Pimentas Capsicum*. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2008.

Saeid, A.; Chojnacka, K. Fertilizers: need for new strategies. In: *Organic Farming*. Woodhead Publishing, 2019. p. 91-116.

Soares, C. E. V. F. Mini Revisão: Leveduras Não-Convencionais com Potencial Biotecnológico para Aplicação de Bioinsumos. *Revista OWL*

(OWL Journal)-REVISTA INTERDISCIPLINAR DE ENSINO E EDUCAÇÃO, v. 1, n. 2, p. 197-213, 2023.

Souza, J. L. De; Resende, P. Manual de Horticultura Orgânica. 3. ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2014. 841 p.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Rungchaiwattanakul, T., Chareonpornwattana, S., & Sirisomboon, C. D. (2565). Antagonistic activity of *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus* and *Lactobacillus paracasei* against growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* in corn silage. *Agriculture and Natural Resources -- Formerly Kasetsart Journal (Natural Science)*, 056(4), 673–686. <https://doi.org/10.34044/J.ANRES.2022.56.4.02>

Sutarman, Setiorini, T., Li'aini, A. S., Purnomo, & Rahmat, A. (2022). Evaluation of *Trichoderma asperellum* Effect toward Anthracnose Pathogen Activity on Red Chili (*Capsicum annum* L.) As Ecofriendly Pesticide. *International Journal of Environmental Science and Development*, 13(4), 131–137. <https://doi.org/10.18178/ijesd.2022.13.4.1383>

Vassilev, B., Fifani, B., Steels, S., Helmus, C., Delacuvellerie, A., Deracinois, B., Phalip, V., Delvigne, F., & Jacques, P. (2022). *microorganisms Coculture of Trichoderma harzianum and Bacillus velezensis Based on Metabolic Cross-Feeding Modulates Lipopeptide Production*. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10051059>

Xiao, C., Chi, R., Pan, X., Liu, F., & He, J. (n.d.). *Rock phosphate solubilization by four yeast strains*. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0458-z>

Yadav, M., Dubey, M. K., & Upadhyay, R. S. (2021). Systemic Resistance in Chilli Pepper against Anthracnose (Caused by *Colletotrichum truncatum*) Induced by *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* and

Paenibacillus dendritiformis. *Journal of Fungi* 2021, Vol. 7, Page 307, 7(4), 307. <https://doi.org/10.3390/JOF7040307>

Ye, M., Tang, X., Yang, R., Zhang, H., Li, F., Tao, F., Li, F., & Wang, Z. (2018). Characteristics and Application of a Novel Species of Bacillus: *Bacillus velezensis*. *ACS Chem. Biol*, 13, 505. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.7b00874>

Yoshida, F. A.; Stolf, R.. Mapeamento digital de atributos e classes de solos da UFSCar-Araras/SP. *Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente*, v. 3, n. 1, p. 1-11, 2016.

Zepeda-Giraud, L. F., Olicón-Hernández, D. R., Pardo, J. P., Villanueva, M. G. A., & Guerra-Sánchez, G. (2020). Biological Control of *Thielaviopsis paradoxa* and *Colletotrichum gloeosporioides* by the Extracellular Enzymes of *Wickerhamomyces anomalus*. *Agriculture* 2020, Vol. 10, Page 325, 10(8), 325. <https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE10080325>