



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS TECNOLÓGICAS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E TECNOLOGIA AMBIENTAL

Álison Borges Leal

**Avaliação do crescimento de agentes de controle biológico e da vida útil em
fertilizantes orgânicos disponíveis no mercado**

UBERABA
2024

ÁLISSON BORGES LEAL

Avaliação do crescimento de agentes de controle biológico e da vida útil em fertilizantes orgânicos disponíveis no mercado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental

Orientadora: Prof. Dr. Mônica Hitomi Okura
Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Borella Marfil Anhê

UBERABA
2024

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

L47a Leal, Alisson Borges
Avaliação do crescimento de agentes de controle biológico e da vida útil em fertilizantes orgânicos disponíveis no mercado / Alisson Borges Leal. – 2024.
52 f. : il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2024
Orientadora: Profa. Dra. Monica Hitomi Okura
Coorientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Borella Marfil Anhô

1. Sustentabilidade. 2. Estimulantes. 3. Adubos e fertilizantes orgânicos. I. Okura, Monica Hitomi. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 52.131.1:631.8

ÁLISSON BORGES LEAL

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO E DA VIDAÚTIL EM FERTILIZANTES ORGÂNICOS DISPONÍVEIS NO MERCADO

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, para obtenção do título de mestre.

Uberaba, 26 de julho de 2024.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Monica Hitomi Okura
Orientadora - UFTM

Profa. Dra. Mariana Abrahão Assunção
Membro Titular - FAFRAM

Prof. Dr. José Luiz Rodrigues Torres
Membro Titular - IFTM



Documento assinado eletronicamente por **MONICA HITOMI OKURA, Professor do Magistério Superior**, em 26/09/2024, às 18:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art.34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 215, de 16 de julho de 2024](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARIANA ABRAHAO ASSUNCAO, Usuário Externo**, em 27/09/2024, às 08:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 215, de 16 de julho de 2024](#).



Documento assinado eletronicamente por **José Luiz Rodrigues Torres, Usuário Externo**, em 27/09/2024, às 16:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 215, de 16 de julho de 2024](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1270269** e o código CRC **F123283B**.

"A educação   a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo." - Nelson Mandela.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de expressar minha mais profunda gratidão à minha mãe, Regina Célia Borges, que sempre incentivou meus estudos desde pequeno. Sua fé em meu potencial e seu apoio incondicional foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

À minha orientadora, Monica Hitomi Okura, dedico um agradecimento especial. Sua paciência, dedicação e vasto conhecimento abriram novos horizontes de pesquisa para mim. Aprendi imensamente com você, e sou eternamente grato por todas as lições e orientações.

À minha co-orientadora, Ana Carolina, e também professora de graduação, estendo meu sincero agradecimento. Seu apoio e ensinamentos foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço também à minha família, que esteve ao meu lado em todos os momentos, e em especial ao meu companheiro, Jason Cesar, cujo amor e compreensão tornaram esta jornada mais leve. Aos meus amigos, cada um com sua particularidade, que tornaram esta jornada possível, deixo minha gratidão. Em especial, ao amigo João Vitor Sicari, que me impulsionou a voltar à vida acadêmica e me ajudou em todos os momentos. Sua amizade e apoio foram indispensáveis.

À Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), agradeço imensamente pela oportunidade de estudar e crescer na área acadêmica. Sem essa instituição, nada disso seria possível.

Por fim, um agradecimento especial à empresa FERTAGRO, cujo apoio financeiro e fornecimento de amostras de fertilizantes orgânicos foram essenciais para a realização desta pesquisa. Sem sua colaboração, este trabalho não teria sido possível.

A todos meu muito obrigado

RESUMO

A transição para uma agricultura sustentável é essencial para mitigar os impactos ao meio ambiente e garantir a segurança alimentar. A pesquisa desenvolvida envolve adubos orgânicos e agentes de controle biológico, com tendência a redução da dependência de agroquímicos. O objetivo geral deste trabalho foi analisar o crescimento, a estabilidade e a vida útil dos agentes de controle biológico (*Bacillus aryabathai*, *Bacillus subtilis*, *Beauveria bassiana*, *Trichoderma* e *Metarhizium anisopliae*) em fertilizantes orgânicos disponíveis no mercado. O estudo foi realizado no Laboratório de Bioprocessos da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), em Uberaba, MG, de agosto de 2022 a janeiro de 2024, utilizando um delineamento inteiramente casualizado com cinco amostras comerciais de fertilizantes orgânicos inoculados com diferentes agentes de controle biológico. As condições experimentais foram controladas para temperatura ambiente sem ventilação. O crescimento microbiano foi avaliado utilizando técnicas de quantificação de carga microbiana (*spread-plate* e *pour plate*) e de avaliação da vida útil das combinações, seguido por análise estatística de variância (ANOVA) e tamanho do efeito eta quadrado (η^2). Os resultados do estudo mostraram diferenças significativas ($p > 0,05$) na estabilidade e vida útil de microrganismos em fertilizantes orgânicos testados. *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp. demonstraram crescimento estável por até seis meses, enquanto *B. aryabhattai*, *Metarhizium* spp. e *Beauveria bassiana* apresentaram vida útil de 4 a 8 dias. *Trichoderma* spp. mostrou alta adaptabilidade, mantendo desempenho uniforme em todos os cinco fertilizantes avaliados, o que não foi observado nos outros microrganismos. Concluímos que na amostra 2M houve melhor adaptação do *B. subtilis*, para a amostra 4M e 5M o *M. anisopliae* e a amostra 5M os microrganismos *B. aryabhattai* e a *Beauveria bassiana*.

Palavras-chave: sustentabilidade; estimulante vegetal; fertilizantes organominerais.

ABSTRACT

The transition to sustainable agriculture is essential to mitigate environmental impacts and guarantee food security. The research carried out involves organic fertilizers and biological control agents, with a tendency to reduce dependence on agrochemicals. The general objective of this work was to analyze the growth, stability and lifespan of biological control agents (*Bacillus aryabathai*, *Bacillus subtilis*, *Beauveria bassiana*, *Trichoderma* and *Metarhizium anisopliae*) in organic fertilizers available on the market. The study was carried out at the Bioprocess Laboratory of the Federal University of the Triângulo Mineiro (UFTM), in Uberaba, MG, from August 2022 to January 2024, using a completely randomized design with five commercial samples of organic fertilizers inoculated with different biological control agents. The experimental conditions were controlled to room temperature without ventilation. Microbial growth was assessed using microbial load quantification techniques (spread-plate and pour plate) and evaluation of the shelf life of the combinations, followed by statistical analysis of variance (ANOVA) and eta square effect size (η^2). The results of the study showed significant differences ($p > 0.05$) in the stability and shelf life of microorganisms in the organic fertilizers tested. *Bacillus subtilis* and *Trichoderma* spp. showed stable growth for up to six months, while *B. aryabhattai*, *Metarhizium* spp. and *Beauveria bassiana* showed a useful life of 4 to 8 days. *Trichoderma* spp. showed high adaptability, maintaining uniform performance in all five fertilizers evaluated, which was not observed in the other microorganisms. We conclude that *B. subtilis* adapted best to the 2M sample, *M. anisopliae* to the 4M.

Keywords: sustainability; plant stimulant; organomineral fertilizers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação das técnicas de diluição seriada e Por plate.....	27
Figura 2 - Representação da Técnica Spread Plate (por superfície).....	28
Figura 3 - Evolução na contagem de Unidade Formadora de Colônias (UFC) de <i>B. aryabhatai</i> por placa ao longo do tempo para cada tratamento proposto. ...	30
Figura 4 - Evolução na Contagem de Unidade Formadora de colônias de <i>Beauveria bassiana</i> por placa ao longo do tempo para cada tratamento proposto.	33
Figura 5 - Evolução na contagem de Unidade Formadora de Colônias (UFC) de <i>Metarhizium anisopliae</i> por placa ao longo do tempo para cada tratamento proposto.	35
Figura 6 - Evolução na contagem de Unidade Formadora de Colônias (UFC) de <i>Trichoderma</i> por placa ao longo do tempo para cada tratamento proposto.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização das matéria-primas dos cinco produtos utilizados na pesquisa, identificados como 1M, 2M, 3M, 4M e 5M.....	25
Tabela 2 - Vida útil dos agentes de controle biológico associados aos produtos orgânicos testados (1M, 2M, 3M, 4M e 5M).	29
Tabela 3 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do <i>B. aryabhatai</i> e os tratamentos propostos.....	31
Tabela 4 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do <i>Bacillus subtilis</i> e os tratamentos propostos.	32
Tabela 5 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do <i>Beauveria bassiana</i> com os tratamentos propostos.	34
Tabela 6 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do <i>Metarhizium anisopliae</i> com os tratamentos propostos.....	35
Tabela 7 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do <i>Trichoderma</i> spp. com os tratamentos propostos.	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2.	OBJETIVOS.....	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3	REFERÊNCIAL TEORICO.....	15
3.1	FERTILIZANTES, AGROQUIMICOS E MEIO AMBIENTE	15
3.2.	FERTILIZANTES ORGÂNICOS.....	16
3.3.	CONTROLE BIOLÓGICO.....	18
3.3.1.	Controle biológico com bactérias	20
3.3.2	Controle Biológico com fungos	22
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	24
4.2	ESTUDO DA CARGA MICROBIANA.....	26
4.3	AVALIAÇÃO DA VIDA ÚTIL DOS MICRORGANISMOS TESTADOS	28
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1	<i>BACILLUS ARYABHATTAI</i>	29
5.2	<i>BACILLUS SUBTILIS</i>	32
5.3	<i>BEAUVERIA BASSIANA</i>	33
5.4	<i>METARHIZIUM ANISOPLIAE</i>	34
5.5	<i>TRICHODERMA SPP.</i>	36
6.	CONCLUSÃO	38
	REFERENCIAS	39
	APENDICE A – Resultados da Análise de Variância e Tukey.....	46
	<i>Bacillus subtilis</i>	46
	<i>Bacilus aryabhattai</i>	47
	<i>Beauveria bassiana</i> :.....	47
	<i>Metarhizium spp</i> :	48
	<i>Trichoderma spp.</i>	49
	APENDICE B - Gráficos de estabilidade no crescimento de <i>B. subtilis</i> nos tratamentos sugeridos.....	51

Tratamento com o 1M	51
Tratamento 2M:	51
Tratamento 3M	51
Tratamento 4M.....	52
Tratamento 5M.....	52

1 INTRODUÇÃO

O setor agrícola assume um papel de grande importância econômica, direcionando-se cada vez mais para práticas que minimizem as emissões de carbono. Essa transição para uma agricultura de baixo carbono não é apenas uma resposta à demanda crescente por segurança alimentar, mas também uma estratégia essencial na mitigação dos efeitos adversos das emissões de gases de efeito estufa (Silva; Nunes; Andrade, 2020).

Estudos na área da agricultura de baixo carbono, como o de Smith *et al.* (2008), destacam a eficácia de práticas como a redução do uso de fertilizantes nitrogenados e o manejo sustentável de resíduos agrícolas nesse contexto. Além de contribuir para a segurança alimentar, conforme ressaltado por Vermeulen; Campbell; Ingram (2012), a agricultura de baixas emissões de carbono desempenha um papel crucial na adaptação às mudanças climáticas e na redução dos impactos ambientais associados à produção agrícola.

Neste cenário, destaca-se a importância crucial da utilização de produtos a base orgânica para a agricultura regenerativa, conforme apontado por Primavesi (2002). Em seu estudo, a autora ressalta que, apesar da integridade dos fertilizantes minerais, sua aplicação isolada não é suficiente para sustentar a vida no solo ou manter sua produtividade a longo prazo sem a indispensável reposição da matéria orgânica. Ela também enfatiza a necessidade de integrar práticas que promovam a regeneração do solo, evidenciando sua relevância no contexto da agricultura sustentável.

O controle biológico é uma prática fundamental para promover a sustentabilidade na agricultura, ao utilizar agentes de controle biológico para suprimir populações de pragas. Estudos conduzidos na Universidade de São Paulo (USP) demonstraram que o controle biológico não apenas melhora a saúde das culturas, mas também pode aumentar a produtividade agrícola a longo prazo (Parra, 2014). Yamada; Xu (2001) ao testar fertilizantes orgânicos inoculados com microrganismos benéficos observou que as concentrações de ácidos orgânicos e fósforo aumentaram promovendo sistemas agrícolas mais equilibrados e sustentáveis.

A integração da adubação orgânica e controle biológico é uma estratégia amplamente estudada na literatura acadêmica para promover a sustentabilidade agrícola. A adubação orgânica, proveniente de fontes naturais como resíduos de

plantas e esterco, melhora a qualidade do solo, fornecendo nutrientes essenciais (Alvarez, 2016; Maeder *et al.*, 2002). O controle biológico, ao utilizar organismos vivos para suprimir pragas, minimiza o uso de pesticidas químicos, preservando a biodiversidade agrícola (Gurr; Wratten; Altieri, 2005; Kremen; Williams; Thorp, 2002). Estudos indicam que essa integração beneficia a saúde do solo, reduz a dependência de insumos químicos e mitiga impactos ambientais associados à agricultura convencional (Altieri, 1999; Pretty *et al.*, 2018).

Na observação da combinação entre compostos orgânicos e agentes de controle biológico, é crucial entender a estabilidade e a vida útil dessas combinações estudadas. A compreensão desses aspectos é essencial para garantir a eficácia e a durabilidade dos produtos agrícolas desenvolvidos. Isso permite que os agricultores tenham confiança na aplicação dessas soluções em seus cultivos, proporcionando resultados consistentes ao longo do tempo. Além disso, a avaliação da estabilidade e da vida útil possibilita uma melhor gestão da cadeia de suprimentos, garantindo que os produtos estejam disponíveis quando necessário e mantenham sua qualidade até o momento da aplicação. Portanto, compreender a estabilidade e a vida útil dessa união é fundamental para o sucesso e a adoção generalizada dessas inovações na agricultura sustentável (Carmo *et al.*, 2019).

O objetivo deste estudo foi aprofundar o entendimento da combinação dos Fertilizantes orgânicos com os agentes de controle biológico, visando otimizar a sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o crescimento, a estabilidade e a vida útil de agentes de Controle Biológico em fertilizantes orgânicos disponíveis no mercado, em condições controladas, em Uberaba-MG.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o crescimento dos microrganismos (agentes de controle biológico) inoculados nos fertilizantes orgânicos disponíveis no mercado.
- Avaliar a adaptação dos microrganismos nos produtos inoculados;
- Avaliar tempo de vida dos microrganismos nos produtos testados.

3 REFERÊNCIAL TEORICO

3.1 FERTILIZANTES, AGROQUIMICOS E MEIO AMBIENTE

Compreender os diferentes elementos utilizados na agricultura é fundamental para avaliar seus impactos e benefícios. Os fertilizantes, por exemplo, são substâncias aplicadas nas culturas para fornecer nutrientes essenciais ao seu desenvolvimento. Eles podem ser de origem orgânica ou inorgânica e desempenham um papel crucial na produtividade agrícola (Abebe *et al.*, 2022)

Os agroquímicos são produtos químicos usados para combater pragas, doenças e ervas daninhas nas plantações. Embora sejam eficazes na proteção das culturas, os agrotóxicos também representam riscos para a saúde humana e o meio ambiente. O uso excessivo de agrotóxicos pode resultar em resíduos tóxicos nos alimentos e na contaminação do solo e da água, comprometendo a segurança alimentar e a saúde pública (Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016).

Os fertilizantes químicos, amplamente utilizados na agricultura moderna, têm sido associados à poluição do solo e da água devido à lixiviação de nutrientes como nitrogênio e fósforo. Esses nutrientes em excesso podem contaminar os corpos d'água, causando eutrofização, um fenômeno que resulta no crescimento excessivo de algas, reduzindo a oxigenação da água e prejudicando a vida aquática (Huang *et al.*, 2017).

Um impacto ambiental significativo do uso de fertilizantes e agroquímicos é a perda de biodiversidade. A contaminação do solo e da água pode afetar diretamente a flora e a fauna, resultando na diminuição da diversidade biológica. Além disso, o uso desses produtos químicos pode degradar os habitats naturais e reduzir as populações de espécies selvagens, contribuindo para a perda global de biodiversidade (Vanloqueren *et al.*, 2019).

Os efeitos dos fertilizantes e agroquímicos na polinização também são uma preocupação crescente. A exposição a pesticidas pode afetar a saúde das abelhas e outros polinizadores, contribuindo para o declínio das populações de insetos polinizadores em todo o mundo. Isso representa uma ameaça significativa à produção de alimentos, já que muitas culturas dependem da polinização para a produção de frutos e sementes (Goulson *et al.*, 2015).

A contaminação do meio ambiente também pode ter consequências globais

associados aos fertilizantes e agrotóxicos, contribuindo para problemas ambientais como as mudanças climáticas. A volatilização de certos compostos químicos, como óxidos de nitrogênio, pode contribuir para o aumento do efeito estufa e o aquecimento global. Além disso, a destruição de habitats naturais e a perda de biodiversidade podem reduzir a capacidade dos ecossistemas de mitigar os impactos das mudanças climáticas e aumentar a vulnerabilidade de comunidades humanas (Vanloqueren *et al.*, 2019).

A contaminação por estes agentes pode ter impactos econômicos significativos, em especial ao setor agrícola. A degradação dos recursos naturais, como solo e água, pode reduzir a produtividade agrícola e aumentar os custos de produção para os agricultores. Além disso, a perda de biodiversidade e os danos aos ecossistemas podem comprometer os serviços ecossistêmicos essenciais para a agricultura, como polinização e controle de pragas, aumentando os riscos para a segurança alimentar e a subsistência das comunidades rurais (Fao, 2020).

Diante dos impactos ambientais e de saúde associados ao uso de fertilizantes e agroquímicos, é crucial adotar abordagens mais sustentáveis e seguras para a agricultura. Isso inclui a promoção de práticas agrícolas orgânicas e agroecológicas que reduzam a dependência de produtos químicos agrícolas e promovam a saúde do solo e a biodiversidade. Além disso, são necessárias políticas e regulamentações eficazes para controlar o uso de fertilizantes e agrotóxicos, protegendo assim o meio ambiente e a saúde pública para as gerações futuras (Lampkin; SMITH; SMITH, 2016).

3.2. FERTILIZANTES ORGÂNICOS

Os fertilizantes orgânicos, geralmente consistem em compostos de natureza orgânica derivados de materiais de origem natural, industrial ou doméstica, como resíduos agrícolas (esterco e restos de colheita), subprodutos industriais (bagaço de cana-de-açúcar e borra de café) e resíduos domésticos (restos de alimentos compostáveis). Esses compostos podem ser complementados com nutrientes essenciais, como nitrogênio, fósforo e potássio, visando melhorar a fertilidade do solo e promover o crescimento saudável das plantas. Além de fornecer nutrientes, essa abordagem contribui para a melhoria da estrutura física do solo, aumentando sua

capacidade de retenção de água e nutrientes e promovendo a atividade microbiana benéfica (Carmo, 2019).

A crescente demanda por práticas agrícolas sustentáveis tem impulsionado o interesse em produtos orgânicos, que visam promover o crescimento das plantas de maneira ecologicamente responsável. Esses produtos, derivados de fontes naturais e livres de agrotóxicos, têm sido objeto de estudos que destacam sua eficácia na nutrição das plantas e na melhoria da saúde do solo (Rehman *et al.*, 2023).

A utilização de fertilizantes orgânicos tem sido amplamente explorada como uma alternativa aos fertilizantes sintéticos, visando reduzir os impactos negativos da agricultura convencional no meio ambiente. Pesquisas recentes têm demonstrado que esses fertilizantes podem melhorar a fertilidade do solo, aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas e promover a atividade microbiana benéfica (Jones; Murphy, 2018).

Além dos fertilizantes orgânicos, os estimulantes vegetais têm ganhado destaque como uma ferramenta importante na promoção do crescimento e desenvolvimento das plantas. Esses produtos, que geralmente contêm uma combinação de nutrientes, onde hormônios vegetais e outros compostos biologicamente ativos trabalham em sintonia, estes têm sido associados a benefícios como aumento da taxa de crescimento, melhoria da resistência a estresses ambientais e aumento da produção de biomassa (Kumar *et al.*, 2019).

O estudo de Fan (2023) que investigou o uso de fertilizantes orgânicos e associados a microrganismos na produção de tomate revelou que os fertilizantes bio-orgânicos melhoram o rendimento e a qualidade do tomate, promovendo o maior aumento de rendimento enquanto os fertilizantes orgânicos comuns elevaram os níveis de açúcar e fósforo nos frutos melhorando a qualidade nutricional dos tomates.

Os fertilizantes orgânicos, combinados com microrganismos benéficos, desempenham um papel crucial no controle de doenças transmitidas pelo solo e atendem à demanda do desenvolvimento sustentável da agricultura moderna. Estudos demonstram que essa combinação controla eficazmente essas doenças, contribuindo para a agricultura sustentável. As características observadas, estão relacionadas aos mecanismos de controle de doenças e perspectivas de aplicação no controle de doenças transmitidas pelo solo foram amplamente discutidos, evidenciando sua importância para a prática agrícola atual e futura (Ka, 2014).

3.3. CONTROLE BIOLÓGICO

O embasamento teórico da presente pesquisa nesta etapa foca na evolução do controle biológico na agricultura, tanto em nível internacional quanto no âmbito específico do território brasileiro, a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) se destaca como agente impulsionador na disseminação de práticas agrícolas sustentáveis em escala global. No cenário doméstico, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) assume papel preponderante na regulação e promoção dos produtos biológicos, atestando o comprometimento institucional com a resiliência sustentável do setor agrícola. Além disso, estudos recentes como os de Smith *et al.* (2020) e de Silva *et al.* (2022) corroboram a importância dessas instituições e a influência de políticas governamentais na adoção e promoção do controle biológico na agricultura.

O controle biológico é uma abordagem fundamental no manejo integrado de pragas, caracterizada pelo uso de organismos vivos para regular populações de pragas de forma sustentável. Conforme apontado por Barbosa e Schultz (2009), esta prática tem raízes históricas e remonta às observações antigas de interações naturais entre organismos em ecossistemas agrícolas. No controle biológico, organismos predadores, parasitoides e patógenos são empregados para controlar as populações de pragas, contribuindo para o equilíbrio do ecossistema e reduzindo a necessidade de pesticidas químicos (Pereira *et al.*, 2018).

O controle biológico abrange cinco vertentes principais: biodiversidade, desempenho de agentes de controle, integração com proteção de cultivos, impactos do uso e adoção no setor produtivo. A biodiversidade inclui a prospecção, conhecimento, conservação e valorização de agentes nativos e exóticos para criar bancos de ativos tecnológicos. As estratégias de desempenho focam na seleção estratégica, análises de bioecologia, produção em larga escala e avaliação da eficiência dos agentes contra insetos-alvo. A integração com a proteção de cultivos promove técnicas de manejo que favoreçam a ação dos agentes introduzidos e naturais (Embrapa, 2024).

A busca por alternativas mais ecológicas e sustentáveis tem impulsionado a pesquisa e aplicação do controle biológico na agricultura moderna (Smith; Johnson; Lee, 2020). Compreender a origem e os princípios do controle biológico é crucial para

sua implementação eficaz, promovendo práticas agrícolas mais equilibradas e ambientalmente conscientes, e equilibradas (Soumare; Diedhiou; Thiaw, 2020).

Além disso, é crucial avaliar os impactos ambientais, sociais e econômicos do uso desses agentes, considerando sua especificidade e persistência. Por fim, a adoção de agentes de controle biológico requer a formação de profissionais e a definição de metodologias para a transferência de tecnologia ao setor produtivo, incluindo cooperativas e empresas agrícolas familiares (Embrapa, 2024).

De acordo com dados da IHS Markit (2021), o mercado brasileiro de produtos biológicos de controle tem apresentado um notável crescimento, com uma taxa anual de crescimento de 42%. Projeções indicam que até o ano de 2030, esse setor alcançará um valor estimado de R\$ 16,9 bilhões. Tais projeções consideram uma taxa de crescimento acumulado (CAGR) de 35% até o ano de 2025 e de 25% até 2030.

A revisão da literatura confirma que o controle biológico empreende benefícios substanciais, visivelmente no que concerne à minimização do impacto ambiental e à defesa da biodiversidade (Silva; Almeida, 2015). Essa abordagem, apresenta-se como uma alternativa duradoura e eficaz para os sistemas agrícolas (Souza, 2015). Estudos recentes, como os de Carvalho; Silva; Almeida (2021) e de Lima; Silva; Iwata (2021), destacam os impactos positivos do controle biológico na redução do uso de agroquímicos e na conservação dos recursos naturais.

Contudo, a implementação generalizada do controle biológico não está isenta de desafios. A capacitação dos agricultores, a variabilidade na eficácia dos agentes biológicos e os custos iniciais mais elevados são aspectos críticos a serem considerados (Oliveira, 2022). Estratégias que transcendem o aspecto técnico, como programas educacionais e políticas de subsídios, são essenciais para superar esses desafios (Carvalho, 2014). Além disso, estudos recentes, como os de Mendes *et al.* (2002) e de Gomes *et al.* (2023), exploram estratégias inovadoras para mitigar esses desafios e promover uma adoção mais ampla do controle biológico.

No horizonte futuro, as perspectivas convergem para avanços contínuos na pesquisa e desenvolvimento. A busca incessante por aprimorar a eficácia dos agentes biológicos e integrar essas práticas nos sistemas agrícolas convencionais delineia o caminho para consolidar o controle biológico como uma prática agrícola indispensável (Ferreira, 2002). Essa visão holística alinha-se com os interesses ambientais, econômicos e sociais, promovendo um equilíbrio sustentável na agricultura. Estudos recentes, como os de Pereira *et al.* (2021) e de Fernandes; Silva; Pereira (2023),

apontam para as tendências emergentes na pesquisa do controle biológico, incluindo novas técnicas de criação e liberação de agentes biológicos e abordagens integradas de manejo de pragas.

O aumento notável na demanda por produtos biológicos no mercado agrícola reflete uma mudança significativa nas práticas agrícolas contemporâneas, impulsionada pela crescente conscientização ambiental e pela busca por métodos mais sustentáveis (Silveira *et al.*, 2022). Este fenômeno é especialmente evidente no contexto do controle biológico de pragas, onde agricultores e consumidores reconhecem os benefícios intrínsecos desses produtos.

O movimento ascendente dos produtos biológicos reflete uma compreensão mais holística da interação entre agricultura e meio ambiente, destacando o papel central desses produtos na modernização e sustentabilidade do setor agrícola. Estudos indicam que a adoção do controle biológico pode promover o desenvolvimento rural sustentável, melhorando a qualidade de vida nas propriedades rurais ao reduzir a dependência de insumos químicos e favorecer práticas mais ecológicas. Além disso, há um reconhecimento crescente dos benefícios socioeconômicos, como a geração de emprego e renda, especialmente em comunidades rurais, contribuindo para a conservação ambiental e o fortalecimento das economias locais (Assis, 2006).

3.3.1. Controle biológico com bactérias

A pesquisa em torno da melhoria dos adubos orgânicos e suas interações com outras técnicas estão em constante crescimento, no ano de 2009 foi isolada e identificada uma espécie de rizobactéria, o *B. aryabhata*, que consiste em uma espécie Gram positiva de formato bastonete, inicialmente encontrada na rizosfera do mandacaru. Esta bactéria está associada diretamente ao aumento da resistência ao estresse abiótico e também à disponibilidade de nutrientes (Ndoung, 2019).

Dentre as variedades de *Bacillus*, destaca-se o *B. aryabhatai*, cujos estudos estão principalmente voltados para seu comportamento em situações de estresse hídrico. Essa bactéria demonstra a capacidade de formar biofilmes que atuam como uma defesa contra a escassez de água nas plantas, promovendo resistência a fatores abióticos, pragas e doenças. Pesquisas indicam que a inoculação do *B. aryabhatai*

estimula o crescimento das plantas, aumentando a disponibilidade de macro e micronutrientes (Kavamura, 2012).

No que diz respeito ao *Bacillus subtilis*, outra espécie relevante desse gênero, trata-se de uma bactéria esporulada com formato cilíndrico ou elipsóide, associada frequentemente ao controle biológico. Essas bactérias, encontradas principalmente no solo e na rizosfera das plantas, têm sido objeto de estudo desde 1872 e estão relacionadas à promoção do crescimento vegetal, fixação de nitrogênio, controle de fitopatógenos, manejo de nematoides e disponibilidade de nutrientes (Aamer *et al.*, 2020).

Além das características físicas e de resistência dos microrganismos como *Bacillus subtilis* e *B. aryabhatai*, é importante considerar sua capacidade de produzir metabólitos secundários. Esses compostos desempenham papéis significativos no controle biológico, atuando como agentes antimicrobianos, moduladores de crescimento de plantas e estimuladores de resposta imunológica em plantas hospedeiras (Martínez-Klimova; Contreras-Patiño; Jaramillo-Flores, 2020). *Bacillus subtilis*, por exemplo, é conhecido por produzir uma ampla gama de metabólitos secundários, como antibióticos, sideróforos e enzimas que desempenham papéis-chave na supressão de fitopatógenos e promoção do crescimento vegetal (Ongena; Jacques, 2008). Já *B. aryabhatai*, apesar de sua baixa capacidade de esporulação, demonstra potencial na produção de compostos bioativos que podem auxiliar na proteção das plantas contra estresses abióticos e bióticos (Than *et al.*, 2021).

Em relação à esporulação, o *B. subtilis* apresenta uma alta capacidade de formação de esporos, o que lhe confere uma vantagem adaptativa em ambientes desafiadores. A esporulação ocorre em condições adversas, como escassez de nutrientes ou variações extremas de temperatura, e permite que as bactérias sobrevivam por longos períodos, até que as condições se tornem favoráveis novamente (Setlow, 2006). Por outro lado, *B. aryabhatai* exibe uma menor capacidade de esporulação, o que pode limitar sua sobrevivência e persistência em condições ambientais desfavoráveis, no entanto, sua capacidade de formar biofilmes pode compensar essa limitação, oferecendo proteção adicional contra estresses ambientais (LI *et al.*, 2020).

A linhagem dos *B. subtilis* desempenha um papel crucial no controle biológico e na produção de antibióticos. Estudos indicam que produtos inoculados com cepas de *B. subtilis* são mais estáveis no meio ambiente e possuem a capacidade de formar

endósporos, conferindo-lhes uma grande adaptação a variações de temperatura e pH (Bahadir *et al.*, 2018). Essas características fazem dos *B. subtilis* uma ferramenta importante em pesquisas e aplicações, incluindo a área de biorremediação.

3.3.2 Controle Biológico com fungos

Os fungos desempenham um papel significativo como agentes de controle biológico, sendo uma opção eficaz em situações em que o uso de agroquímicos não é viável, como em áreas de pastagem. Entre os agentes biológicos populares, destaca-se o *Metarhizium anisopliae*, pertencente ao grupo Hypocreales. Este fungo apresenta um ciclo de vida anamórfico, agindo por contato direto com seus hospedeiros, o que o caracteriza como um agente biológico que necessita de contato direto com sua presa (Embrapa, 2019).

Entre esses fungos, destaca-se o *Beauveria bassiana*, um fungo filamentosso entomopatogênico de ação parasita facultativa. Sua capacidade de penetrar na cutícula do inseto, mediada por enzimas líticas, sistema respiratório ou sistema digestório, o torna eficiente no controle de pragas, conforme concluído por Lima; Pereira (2021). Descoberto em 1835 por Agostino Bassi di Lodi durante o estudo dos bichos-da-seda, as espécies do gênero *Beauveria*, de cores brancas e amarelas, produzem esporos infecciosos e são encontradas no ar, solo e cadáveres de insetos (Cuervo, 2018; Paula, 2008).

Outro gênero relevante é o *Trichoderma* sp, fungos filamentosos de crescimento ágil e coloração verde, amplamente utilizados em diversas áreas da indústria e agricultura (Cartilha produtor SP, 2014). Estudos revelam que a *Trichoderma* não apenas atua no controle biológico, mas também desempenha funções benéficas no ambiente, contribuindo para a saúde do solo, aumento da ciclagem de nutrientes, reações químicas do solo e crescimento das plantas.

Os fungos como *Beauveria bassiana*, *Trichoderma spp.* e *Metarhizium anisopliae* também são conhecidos por sua capacidade de produzir uma ampla variedade de metabólitos secundários com atividades biológicas diversas. Esses metabólitos incluem enzimas, toxinas, antibióticos e outros compostos bioativos que desempenham papéis importantes na interação desses fungos com seus hospedeiros e o ambiente circundante (Pereira *et al.*, 2021). Por exemplo, *Beauveria bassiana* é

capaz de produzir uma variedade de metabólitos, incluindo os pesticidas naturais beauvericinas e bassianolídeos, que contribuem para sua atividade enteropatogênica e sua eficácia como agente de controle biológico (Xu *et al.*, 2020).

No que diz respeito à esporulação, os fungos apresentam uma variedade de estratégias para produção e dispersão de esporos. *Beauveria bassiana*, por exemplo, produz esporos assexuados chamados conídios, que são liberados no ambiente e podem infectar insetos hospedeiros quando entram em contato com eles (Bischoff; Rehner; Humber, 2009).

O *Trichoderma* spp., por sua vez, produz esporos assexuados semelhantes, chamados conídios, que são dispersos pelo vento e água, permitindo que o fungo colonize novos substratos e hospedeiros (Hermosa *et al.*, 2012). Já o *Metarhizium anisopliae* produz esporos assexuados que se formam em estruturas especializadas chamadas conidióforas e são liberados quando essas estruturas se rompem, permitindo a disseminação do fungo e a infecção de novos hospedeiros (ST. Leger *et al.*, 2011). Essas estratégias de esporulação são essenciais para a sobrevivência e dispersão dos fungos no ambiente agrícola.

Esses fungos, com suas diversas funções e eficácia comprovada, destacam-se como importantes aliados nas estratégias de manejo integrado de pragas e contribuem para a sustentabilidade ecológica na agricultura.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no município de Uberaba, MG, no Laboratório de Bioprocessos da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), que fica localizado entre as coordenadas geográficas de 19°43'01" de latitude Sul, 47° 57' 32" de longitude Oeste, na Altitude de aproximada de 806 m, entre o período de agosto de 2022 a janeiro de 2024.

As condições climáticas dentro do laboratório foram mantidas em temperatura ambiente e sem fluxo de ventilação.

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, onde os tratamentos constaram de cinco amostras comerciais de fertilizantes orgânicos denominados por 1M, 2M, 3M, 4M e 5M onde foram inoculados com os agentes de controle biológico. Todas as atividades ocorreram em triplicata.

Os microrganismos selecionados para o estudo foram as bactérias *B. subtilis*, *B. aryabhatai* e os fungos *Beauveria Bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Trichoderma* ssp. Os fertilizantes trabalhados nesta pesquisa foram disponibilizados pela empresa Fertagro, e a matéria prima de cada tratamento está exposto na Tabela 1 a seguir:

Tabela 1 - Caracterização das matérias-primas dos cinco produtos utilizados na pesquisa, identificados como 1M, 2M, 3M, 4M e 5M.

Grupo (Amostra)	Matéria Prima
1M	Água, Turfa, Hidróxido de Potássio, Ureia, Sacarídeos, Sulfato de Amônio, Fosfato, Monoamônico (MAP), extrato de algas. Fluido (Solução Homogenea)
2M	Água ureia e aminoácidos. Fluido (Solução Homogenea)
3M	Água, Turfa, Hidróxido de Potássio, Aminoácidos (Complexantes), acárideos. Fluido (Solução Homogênea)
4M	Água, Turfa, Leonardita, Hidróxido de Potássio, Sacarídeos, Extrato de Alga, Anti congelante, Estabilizante, Surfactante. Substâncias Húmicas e Aminoácidos (Complexantes) Fluido (Solução homogênea)
5M	Água, Turfa, Leonardita, Hidróxido de Potássio, Ureia, Sul. Magnésio, Sul. De Zinco, Ácido Bórico, Sul. Manganês, Sul. de Níquel, Mobiliado de Sódio, Monoetanolamina Extrato de alga. Aditivos: Anti congelante, Estabilizante, Aminoácidos (complexantes). Fluido (Solução homogênea)

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

Inicialmente, procedeu-se o estudo do desenvolvimento da carga de microbiana nas amostras fornecidas pela empresa e em sequência o estudo da vida útil das associações com os fertilizantes orgânicos.

Cada microrganismo foi testado individualmente com os cinco produtos utilizados neste estudo, assegurando que não houvesse interferência ou contaminação cruzada entre as diferentes espécies microbianas. Esta estratégia permitiu o monitoramento preciso do crescimento de cada microrganismo e a avaliação de suas respostas específicas aos produtos testados.

No estudo avaliou a combinação dos produtos comerciais utilizados como tratamento com o *Bacillus subtilis*, e o *Bacillus aryabhattai*. Posteriormente, foram realizadas análises com os fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* spp. e a *Trichoderma* spp.

A separação rigorosa das condições experimentais para cada microrganismo foi crucial para garantir a confiabilidade dos dados obtidos, permitindo uma análise detalhada e precisa do comportamento microbiológico nos tratamentos testados.

4.2 ESTUDO DA CARGA MICROBIANA

A primeira etapa de trabalho com cada microrganismo na pesquisa, consistiu em testar diferentes concentrações dos agentes de controle biológico com os produtos da empresa. O procedimento teve início com a esterilização de 300 mL das amostras no Erlenmeyer e após a esterilização do fertilizante orgânico verteu 100 ml das amostras para dois Tubos Falcon de 50mL que também estavam esterilizados para a inoculação do microrganismo estudados (Burdass; Grainger; Hurst, 2006).

Para a inoculação das bactérias acrescentou uma alçada com a bactéria e inoculou no tubo Falcon contendo o fertilizante orgânico. Já para os fungos coletou um quadrado de 1 cm x 1 cm e inoculou este material em cada um dos tubos analisados (Burdass; Grainger; Hurst, 2006).

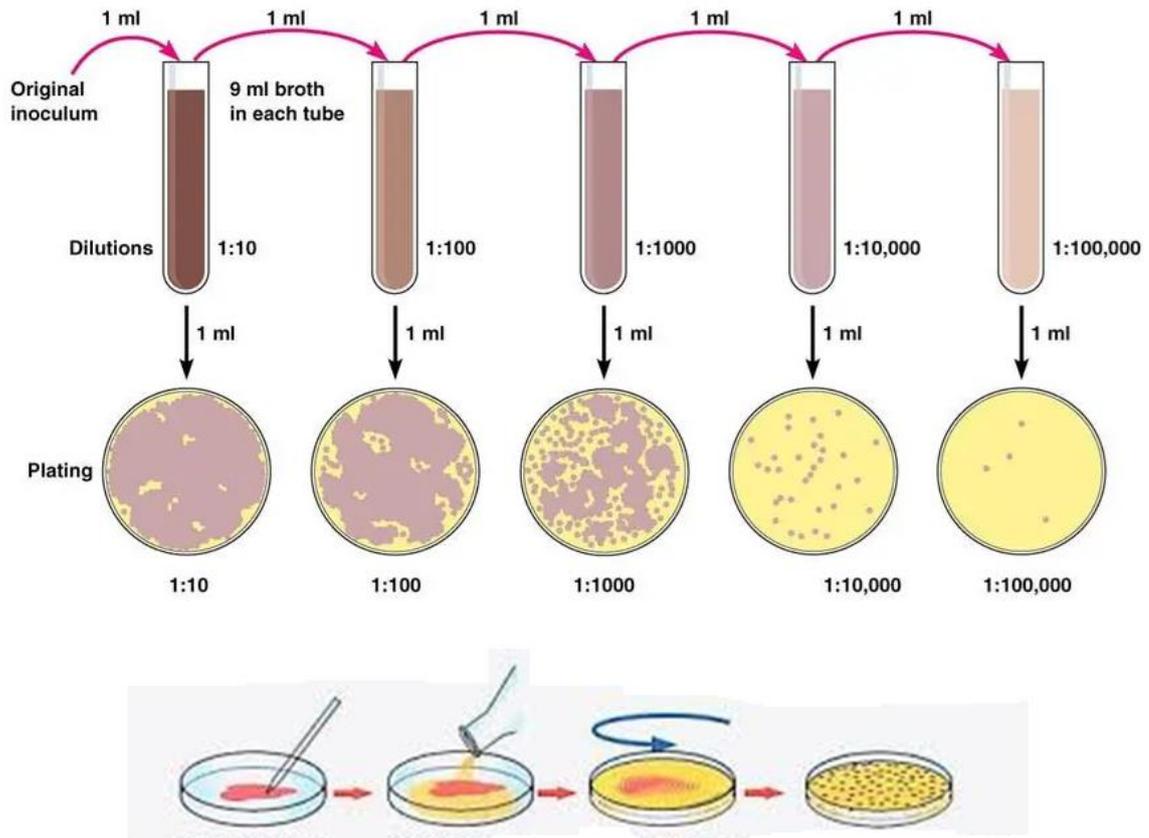
Após a inoculação, os tubos Falcon contendo a bactéria e/ou fungo e os fertilizantes orgânicos foram incubados a 30°C no escuro. As amostras foram analisadas nos tempos 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias, até que o crescimento se aproximasse de zero (Burdass; Grainger; Hurst, 2006).

A amostra controle (testemunha) foi inoculado a mesma quantidade de microrganismos inicial dos fertilizantes orgânicos, no caldo Trypticase Soy Broth (TSB) e mantidos sob as mesmas condições das amostras analisadas. Todas as amostras foram realizadas em triplicata.

Para a quantificação da carga bacteriana, realizou-se a técnica de *Pour Plate* (por profundidade) (Figura 1). Para a contagem, foram feitas cinco diluições de cada amostra e foram utilizadas 1 ml da amostra em 9 ml de solução salina a 0,1% em tubo de ensaio para a diluição (Burdass; Grainger; Hurst, 2006). Foi inoculado 1 ml de cada diluição em placa de Petri e adicionou-se aproximadamente 25 mL do meio de cultura Trypticase Soy Agar (TSA) fundido. As placas foram homogeneizadas e, quando solidificado o meio, foi incubado em posição invertida em estufa regulada à 30°C +/- 1°C por 48 horas (Burdass; Grainger; Hurst, 2006).

Transcorrido o tempo de incubação, foi realizada a contagem das colônias formadas nas placas, expressando os resultados em unidades formadoras de colônias/ml (UFC/ml) (Burdass; Grainger; Hurst, 2006).

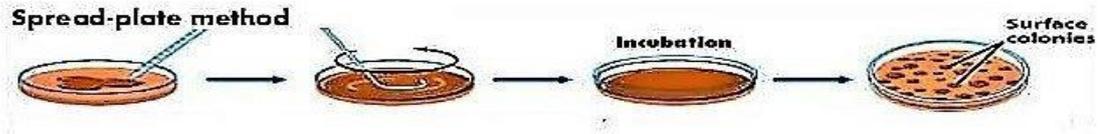
Figura 1 - Representação das técnicas de diluição seriada e Pour plate



Fonte: Adaptada de Burdass; Grainger; Hurst, 2006

Para a quantificação da microbiana dos fungos utilizou-se a técnica Spread Plate (por superfície) (Figura 2). Espalhou 0,1 mL das diluições e com o auxílio de uma alça de Drigalski, fazendo a semeadura por toda a superfície da placa de Petri. Incubou as amostras no escuro a 30° C por 7 dias (Burdass; Grainger; Hurst, 2006).

Figura 2 - Representação da Técnica Spread Plate (por superfície)



Fonte: Adaptado de Burdass; Grainger; Hurst, 2006

4.3 AVALIAÇÃO DA VIDA ÚTIL DOS MICRORGANISMOS TESTADOS

A avaliação do tempo de vida útil dos microrganismos foram realizadas por meio de análise da quantidade de microrganismos descrita anteriormente presentes nos produtos ao longo do tempo. As diluições foram realizadas e a quantidade monitorada até que ocorresse o decréscimo da carga microbiana para uma contagem constante inferior a 10^4 UFC (Burdass; Grainger; Hurst, 2006).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados obtidos foi por meio de análise estatística, que foi conduzida para uma análise de variância (ANOVA), a qual determinou-se as médias de três ou mais grupos são diferentes aplicando-se o teste F, quando significativas as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significance. Além disso, o tamanho do efeito foi avaliado utilizando o eta quadrado (η^2) para quantificar a proporção da variância total explicada pelas diferenças entre os grupos (Cohen, 1988)

As análises estatísticas foram realizadas pelo Software R (R Core Team, 2020) e os gráficos gerados em conjunto com o Programa Excel.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De forma geral, os resultados revelaram diferenças significativas ($p > 0,05$) na estabilidade e na *vida útil* dos microrganismos nos fertilizantes orgânicos testados, enquanto o *Bacillus subtilis* e o *Trichoderma spp.* apresentaram estabilidade e crescimento por um período de seis meses, o *B. aryabhatai*, o *Metarhizium spp.* e a *Beauveria bassiana* mostraram uma média de entre 4 a 8 dias (Tabela 2).

Tabela 2 - Vida útil dos agentes de controle biológico associados aos produtos orgânicos testados (1M, 2M, 3M, 4M e 5M).

	<i>B. subtilis</i> (Meses)	<i>B. aryabhatai</i> (Dias)	<i>Beauveria bassiana</i> (Dias)	<i>Metarhizium spp.</i> (Dias)	<i>Trichoderma spp.</i> (Meses)
1M	6	6	8	8	6
2M	6	6	3	4	6
3M	6	6	6	6	6
4M	6	7	8	6	6
5M	6	6	8	8	6

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

A diferença observada no tempo de vida dos microrganismos está em consonância com estudos que destacam a adaptabilidade do *Bacillus subtilis* e do fungo *Trichoderma* em diferentes ambientes. Esses microrganismos possuem uma elevada capacidade de esporulação, o que contribui significativamente para sua sobrevivência e persistência em condições variadas (Hermosa; Viterbo, 2012; Bahadir *et al.*, 2018). A esporulação não apenas facilita a disseminação, mas também oferece resistência a condições adversas, garantindo a continuidade de suas populações.

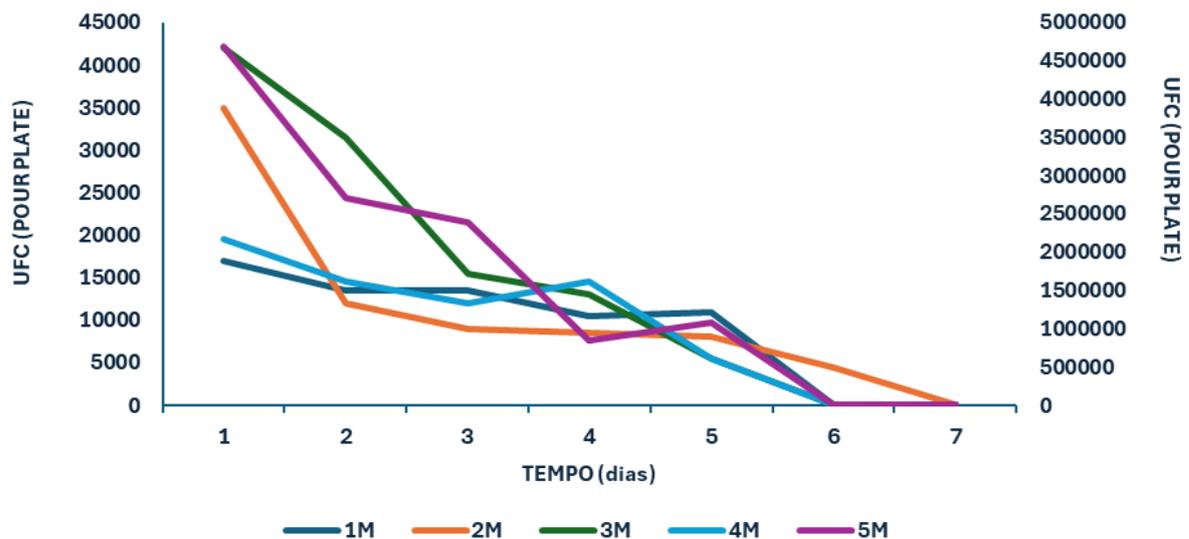
A seguir serão expostos os resultados das análises realizadas com cada microrganismo com seus tratamentos.

5.1 *Bacillus aryabhatai*

A análise da associação da bactéria *B. aryabhatai* foi exposta a cinco tratamentos diferentes. O experimento revelou que para todos os tratamentos após

inoculação houve crescimento bacteriano. A Figura 3 de linhas apresentado a seguir, representa a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) com a evolução ao longo do tempo para cada amostra testada.

Figura 3 - Evolução na contagem de Unidade Formadora de Colônias (UFC) de *B. aryabhatai* por placa ao longo do tempo para cada tratamento proposto.



Fonte: Do autor, 2024

A análise dos dados para *Bacillus aryabhatai* foi realizada por meio de uma Análise de Variância com um fator, utilizando o Teste F, a análise descritiva dos dados está exposta na Tabela 3. O valor de F encontrado foi de 5,19, com um F crítico de 2,64, apresentando graus de liberdade do modelo (4) e dos erros (35). O valor de p associado foi de 0,00216, indicando uma diferença significativa entre os grupos analisados (Apêndice A). O poder do teste, representado pelo valor de η^2 , foi de 0,372, sugerindo que 37,2% da variabilidade dos dados pode ser explicada pelos fatores em estudo.

Tabela 3 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do *B. aryabhatai* e os tratamentos propostos.

Amostras	Média (UFC/placa)	Desvio Padrão	Erro Padrão	IC (95%) Inferior	IC (95%) Superior
1M	8.187,5	7055,78	2493,24	2288,89	14086,11
2M	9.625	11118,03	3930,72	329,55	18920,45
3M	13.437,5	15818,77	5588,48	214,25	26660,75
4M	8.250	7842,28	2769,59	1693,76	14806,24
5M	146.312,5	167960,4	59345,64	5883,57	286741,4

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

Após a verificação de diferenças estatisticamente significativas por meio do teste F, os dados foram submetidos ao teste de Tukey, que identificou diferenças relevantes entre alguns pares de tratamentos (Apêndice A). Os resultados estatísticos revelaram discrepâncias significativas entre os tratamentos aplicados. Em particular, o produto 5M demonstrou um comportamento diferenciado quando associado à bactéria *Bacillus aryabhatai*, destacando-se em comparação aos demais tratamentos.

Estudos prévios confirmam a relevância desses achados, ressaltando a importância dos fertilizantes na promoção da atividade microbiana. Fritz *et al.* (2010) relataram resultados semelhantes ao investigar o efeito de diferentes fertilizantes orgânicos sobre populações de *Bacillus* spp., observando que fertilizantes ricos em nutrientes específicos favorecem uma maior proliferação de microrganismos benéficos. Nossos resultados confirmam essas observações, mostrando que a amostra 5M impactou significativamente a atividade de *Bacillus aryabhatai*, possivelmente devido à sua composição nutricional mais favorável.

Adicionalmente, *Bacillus aryabhatai* apresenta uma capacidade de esporulação e produção de enzimas relativamente menos expressivas, o que pode torná-lo menos competitivo em condições de fertilizantes orgânicos, quando comparado a outros microrganismos (Shrestha *et al.*, 2016; Meyling; Eilenberg, 2007). Alguns fatores como composição química e física dos fertilizantes (nutrientes, pH, umidade e temperatura do solo) influenciam diretamente na sobrevivência e na atividade dessa bactéria. Tais fatores ambientais são determinantes para garantir a estabilidade e o crescimento de *Bacillus aryabhatai* em contextos agrícolas que utilizam fertilizantes orgânicos (Mukherjee *et al.*, 2012).

5.2 *Bacillus subtilis*

A análise da interação da bactéria *Bacillus subtilis* submetida a cinco diferentes tratamentos demonstrou crescimento bacteriano em todas as condições após a inoculação. Para facilitar a visualização dos resultados, as Figuras de linhas correspondentes a cada tratamento estão apresentadas no Apêndice B. Esses dados representam a evolução no número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) ao longo do tempo, permitindo uma comparação clara entre os tratamentos aplicados.

Para *Bacillus subtilis*, a descrição dos dados estão a Análise de Variância com um fator também foi aplicada, com o Teste F resultando em um valor de 24,75 com um F crítico de 2,38. Os graus de liberdade do modelo foram 4, e os dos erros 895. O valor de p encontrado foi de $1,85 \times 10^{-19}$, demonstrando uma diferença significativa entre os grupos (Apêndice A). O poder do teste foi representado por um η^2 de 0,21, sugerindo que 21% da variância dos dados é atribuída aos fatores estudados. A análise descritiva dos dados pode ser observada na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do *Bacillus subtilis* e os tratamentos propostos.

Amostra	Média (M)	Desvio Padrão	Erro Padrão	IC (95%) Inferior	IC (95%) Superior
1M	$2,90 \times 10^{11}$	$4,09 \times 10^{11}$	$4,33 \times 10^{11}$	$2,49 \times 10^{11}$	$3,32 \times 10^{11}$
2M	$2,26 \times 10^{11}$	$3,03 \times 10^{11}$	$3,26 \times 10^{11}$	$1,98 \times 10^{11}$	$2,54 \times 10^{11}$
3M	$4,12 \times 10^9$	$1,03 \times 10$	$1,11 \times 10^9$	$3,94 \times 10^9$	$4,30 \times 10^9$
4M	$1,45 \times 10^{11}$	$2,18 \times 10^{11}$	$2,34 \times 10^{10}$	$1,27 \times 10^{11}$	$1,63 \times 10^{11}$
5M	$1,27 \times 10^{11}$	$3,45 \times 10^{11}$	$3,71 \times 10^{10}$	$1,08 \times 10^{11}$	$1,46 \times 10^{11}$

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

As comparações múltiplas realizadas com o teste de Tukey permitiram identificar diferenças significativas entre os tratamentos aplicados, com destaque para o tratamento 2M valores podem ser observados no Apêndice A. Estudos anteriores sugerem que diferentes tipos de fertilizantes influenciam de maneira diversa a atividade de bactérias benéficas. Kleopfer *et al.* (1980) destacam que *Bacillus subtilis* pode aumentar a produção de plantas e a resistência a doenças quando utilizado em combinação com fertilizantes específicos. Nossos resultados, que demonstram diferenças estatisticamente significativas, estão alinhados com esses resultados,

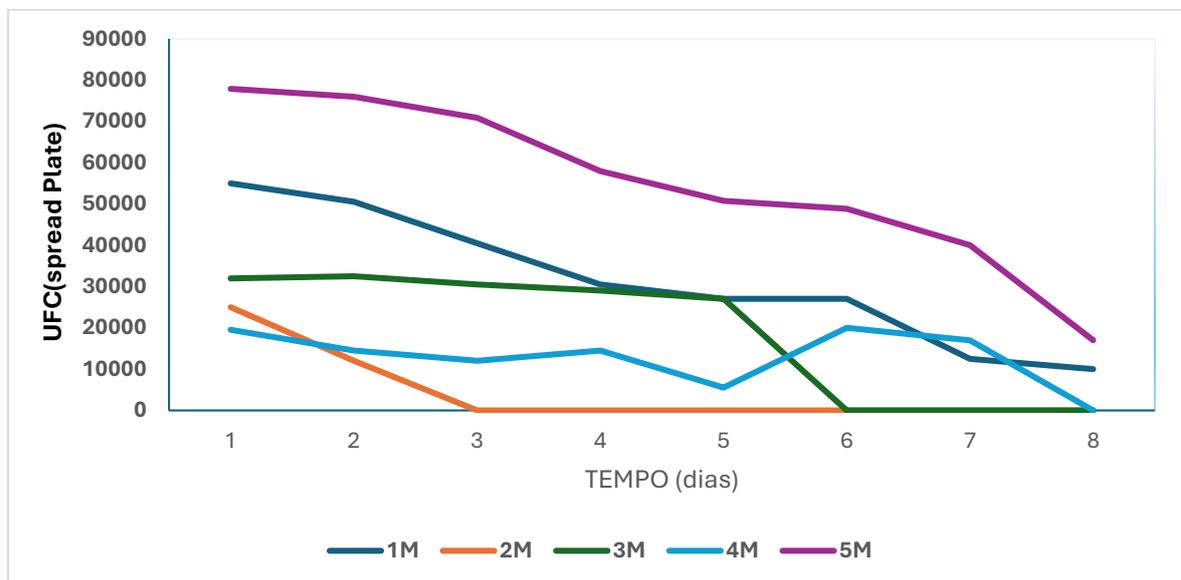
sugerindo que determinados fertilizantes podem potencializar ou inibir a atividade de *Bacillus subtilis* em ambientes controlados.

Adicionalmente, *Bacillus subtilis* apresenta uma alta capacidade de produzir esporos, o que lhe confere resistência a condições adversas. A bactéria também possui uma ampla gama de enzimas e metabólitos secundários, tornando-a altamente competitiva no ambiente do fertilizante orgânico. Esses fatores contribuem para sua persistência e crescimento prolongado, mesmo em situações de estresse (Harman *et al.*, 2004; Sui *et al.*, 2022).

5.3 *Beauveria bassiana*

A análise da interação do fungo *Beauveria bassiana* com cinco diferentes fertilizantes revelou crescimento fúngico em todos os tratamentos após a inoculação. A evolução desse crescimento ao longo do tempo para cada tratamento está detalhada e pode ser visualizada de forma comparativa na Figura 4.

Figura 4 - Evolução na Contagem de Unidade Formadora de colônias de *Beauveria bassiana* por placa ao longo do tempo para cada tratamento proposto.



Fonte: Do autor, 2024

Para *Beauveria bassiana*, a Análise de Variância com um fator também foi aplicada, resultando em um valor de F de 14,39, com um F crítico de 2,64. Os graus de liberdade do modelo foram 4, e os dos erros 35. O valor de p encontrado foi de $4,81 \times 10^{-07}$, indicando uma diferença altamente significativa entre os grupos (Apêndice

A). O valor de η^2 foi de 0,63, sugerindo que 63% da variabilidade dos dados pode ser explicada pelos fatores em estudo. A Tabela 5 apresenta uma análise descritiva dos dados desta associação.

Tabela 5 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do *Beauveria bassiana* com os tratamentos propostos.

Amostra	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	IC (95%) Inferior	IC (95%) Superior
1M	31.625	16.296	2.759	24.809	38.441
2M	4.625	9.241	1.562	2.838	6.412
3M	18.875	15.719	2.657	14.159	23.591
4M	12.875	6.949	1.174	10.757	14.993
5M	54.918	20.544	3.467	46.973	62.864

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

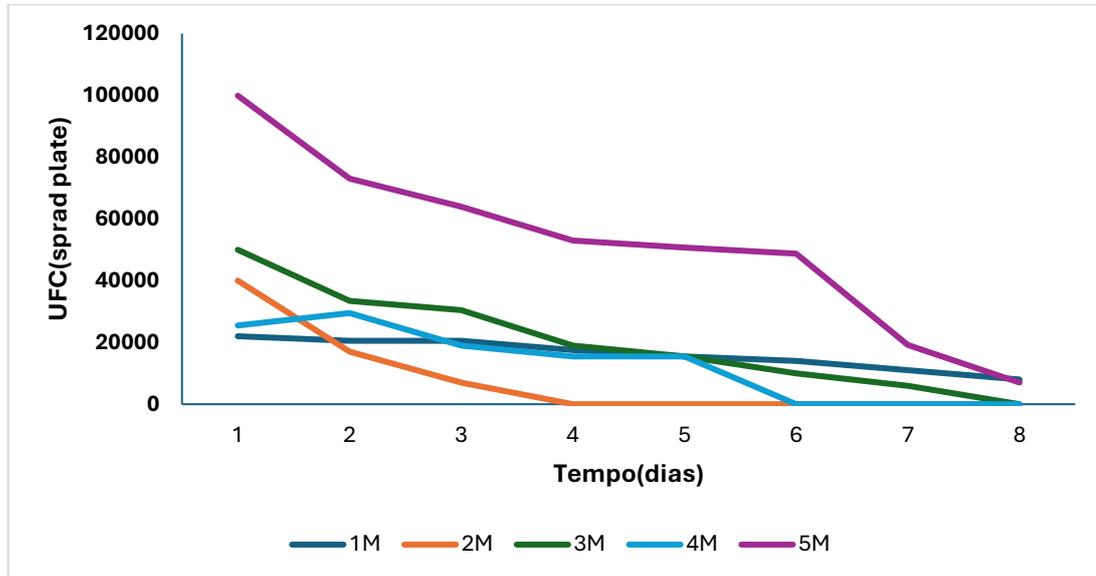
Após constatação das diferenças significativas os dados foram submetidos ao teste de Tukey, onde foi identificado diferenças significativas entre alguns pares de tratamentos, valores expostos no Apêndice A. As diferenças significativas sugerem que o tratamento 5M promove uma maior atividade da *Beauveria bassiana* comparado ao demais.

A *Beauveria bassiana* apresenta uma capacidade de esporulação e produção de enzimas menos pronunciadas, tornando-o menos adaptado às condições dos fertilizantes orgânicos e mais suscetível à competição com outros microrganismos no solo (Zambrano; Parra; Ortiz, 2021; Meyling; Eilenberg, 2007). Esses achados estão em concordância com estudos anteriores que destacam a importância da escolha adequada de fertilizantes para potencializar o uso de agentes de controle biológico como *Beauveria bassiana* na agricultura (Saldanha *et al.*, 2022; Almeida *et al.*, 2009).

5.4 *Metarhizium anisopliae*

A análise da interação do fungo *Metarhizium* com cinco diferentes fertilizantes demonstrou crescimento fúngico em todos os tratamentos após a inoculação. A evolução desse crescimento ao longo do tempo, para cada tratamento, é apresentada de forma detalhada na Figura 5.

Figura 5 - Evolução na contagem de Unidade Formadora de Colônias (UFC) de *Metarhizium anisopliae* por placa ao longo do tempo para cada tratamento proposto.



Fonte: Do autor, 2024

A análise descritiva dos dados para o *Metarhizium* está apresentada na Tabela 6. Esta associação também foi conduzida por meio de uma Análise de Variância com um fator. O Teste F apresentou um valor de 6,26, com F crítico de 2,60, considerando graus de liberdade do modelo (4) e dos erros (40). O valor de p foi de 0,000518, o que indica uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Apêndice A). O valor de η^2 foi de 0,38, o que indica que 38% da variação nos dados pode ser explicada pelos fatores investigados.

Tabela 6 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do *Metarhizium anisopliae* com os tratamentos propostos.

Amostra	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão da Média	IC (95%) Inferior	IC (95%) Superior
1M	14.333,33	7.095,77	2.905,99	8.877,68	19.788,98
2M	7.111,11	13.601,47	5.554,37	-3.354,10	17.576,32
3M	18.277,78	16.881,94	6.896,65	5.292,48	31.263,08
4M	11.666,67	11.916,26	4.864,76	2.502,90	20.830,44
5M	46.155,56	32.403,09	13.232,16	21.260,95	71.050,16

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

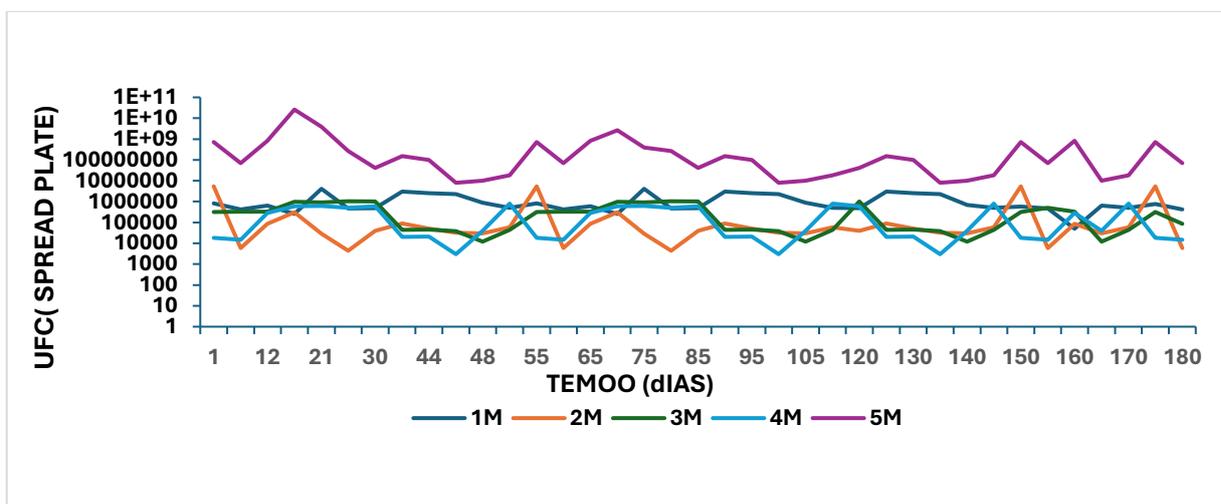
Após constatação das diferenças significativas os dados foram submetidos ao teste de Tukey, onde foi identificado diferenças significativas entre alguns pares de tratamentos demonstrados no Apêndice A. Esta diferença significativa sugere que o tratamento 5M e o 2M promove uma maior atividade do *Metarhizium* comparado ao demais.

O *Metarhizium* spp. possui uma capacidade menos destacada de esporulação e produção de enzimas, o que o torna menos adequado às condições dos fertilizantes orgânicos e mais vulnerável à competição com outros microrganismos presentes no solo (Deb *et al.*, 2022; Meyling; Eilenberg, 2007). Esses achados ratificam estudos que enfatizam a importância dos nutrientes e da composição dos fertilizantes na sobrevivência e eficácia de fungos enteropatogênicos como *Metarhizium* spp. (Lanza; Monteiro; Malheiros, 2009; Krell *et al.*, 2018; Pedra; Bidochka, 2020).

5.5 *Trichoderma* spp.

A análise da interação do fungo *Trichoderma* com cinco diferentes fertilizantes revelou crescimento em todos os tratamentos após a inoculação. A evolução desse crescimento ao longo do tempo, para cada tratamento, é apresentada de forma detalhada na Figura 6.

Figura 6 - Evolução na contagem de Unidade Formadora de Colônias (UFC) de *Trichoderma* por placa ao longo do tempo para cada tratamento proposto.



Fonte: Do autor, 2024

Na análise dos dados para *Trichoderma*, foi utilizada uma Análise de Variância com um fator, com o Teste F resultando em um valor de 2,36 e um F crítico de 2,42. Os graus de liberdade do modelo foram 4, e os dos erros 180. O valor de p foi de 0,054, o que indica que a diferença entre os grupos não é estatisticamente significativa (Apêndice A). O valor de η^2 foi de 0,05, sugerindo que apenas 5% da variação nos dados pode ser atribuída aos fatores estudados. A tabela 7 apresenta uma análise descritiva dos dados.

Tabela 7 - Valores de média, desvio padrão, erro e o intervalo de confiança (IC 95%) para a associação do *Trichoderma* spp. com os tratamentos propostos.

Amostra	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão da Média	IC (95%) Inferior	IC (95%) Superior
1M	1.234.595,95	1.148.473,61	188.830,32	827.452,21	1.641.739,69
2M	636.605,41	1.681.292,62	276.882,10	77.330,65	1.195.880,16
3M	350.702,70	388.589,57	64.764,93	245.589,05	455.816,35
4M	262.540,54	303.629,29	50.604,88	147.221,31	377.859,77
5M	1.083.227,027	4.280.779,12	698.902,18	721.147,582	1.445.306,472

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

Estudos anteriores indicam que diferentes tipos de fertilizantes podem afetar de maneira variada a atividade de fungos benéficos. Harman (2004) destacaram que a eficácia de *Trichoderma* pode ser influenciada pela disponibilidade de nutrientes específicos oferecidos pelos fertilizantes. Nossos resultados, apesar de não apresentarem diferenças estatisticamente significativas, provam essa observação, sugerindo que certos fertilizantes podem potencializar ou diminuir a atividade de *Trichoderma* em condições controladas.

Após a identificação de diferenças, os dados foram submetidos ao teste de Tukey, que revelou variações entre alguns pares de tratamentos, valores disponíveis no Apêndice A. Assim foi observado que a *Trichoderma* spp não apresentou diferença significativa entre as cinco amostras analisadas, no entanto, apresentou diferença no tempo de vida útil comparando com os outros microrganismos estudados. O *Trichoderma* spp. possui uma alta capacidade de esporulação, conferindo-lhe resistência a condições adversas, além de uma ampla gama de enzimas e metabólitos secundários que aumentam sua competitividade em ambientes com fertilizantes orgânicos (Harman *et al.*, 2004; Sood *et al.*, 2020).

Os resultados sugerem que *Trichoderma spp.* pode ser menos sensível à composição específica dos fertilizantes, possivelmente devido à sua adaptabilidade a diferentes condições. Estudos indicam que *Trichoderma* é extremamente versátil e pode ser eficaz em ambientes com variações nutricionais (Bononi *et al.*, 2020; Hoitink; Madden; Dorrance, 2006).

6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, é possível concluir que o fertilizante 5M mostrou-se o mais eficaz na indução da atividade de *B. aryabhatai* e *Beauveria bassiana*, enquanto os fertilizantes 5M e 4M favoreceram o crescimento de *Metarhizium anisopliae*. O fertilizante 2M (única amostra que continha ureia), destacou no estímulo ao desenvolvimento de *B. subtilis*. A *Trichoderma spp.* demonstrou uma alta adaptabilidade, com desempenho uniforme em todos os fertilizantes avaliados. E a *Trichoderma spp.* e o *B. subtilis* apresentaram uma vida útil de até seis meses, preservando sua viabilidade em todas as amostras.

REFERENCIAS

- AAMER, M. *et al.* Plant growth promotion and root colonization by *Bacillus subtilis* in response to maize-soybean intercropping systems and phosphorus application. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-64822-4.
- ABEBE, T.; TAMTAM, M.; ABEBE, A.; ABTEMARIAM, K.; SHIGUT, T.; DEJEN, Y.; HAILE, E. Growing Use and Impacts of Chemical Fertilizers and Assessing Alternative Organic Fertilizer Sources in Ethiopia. **Applied and Environmental Soil Science**, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/4738416>. Acesso em: jun. 2024.
- ALMEIDA, A. M. B.; BATISTA FILHO, A.; TAVARES, F. M.; LEITE, L.G. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle de *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 3, p. 489-493, jul. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p4892009>.
- ALTIERI, M. A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. **Invertebrate Biodiversity As Bioindicators Of Sustainable Landscapes**. [S.l.], p. 19-31, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780444500199500054?via%3Dihub>. Acesso em: dez. 2022.
- ALVAREZ, R. **Fundamentos da fertilidade do solo**. Novo Hamburgo: Feevale, 2016.
- ASSIS, R. L. de. Desenvolvimento rural sustentável no Brasil: perspectivas a partir da integração de ações públicas e privadas com base na agroecologia. **Economia Aplicada**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 1, p. 75-89, jan./mar. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-80502006000100005>.
- BAHADIR, M.; HUI, D. S.; SMITH, A. *et al.* Stability and environmental adaptation of *Bacillus subtilis* inoculants. **Environmental Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 1562-1574, 2018.
- BARBOSA, P.; SCHULTZ, J. C. Novel approaches to studying the role of predators in terrestrial food webs. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, Palo Alto, v. 40, n. 1, p. 205-230, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120212>
- BISCHOFF, J. F.; REHNER, S. A.; HUMBER, R. A. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. **Mycologia**, Philadelphia, v. 101, n. 4, p. 512-530, 2009. DOI: <https://doi.org/10.3852/08-124>.
- BONONI, L.; CHIARAMONTE, J.; PANSA, C.; MOITINHO, M.; MELO, I. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**, [S.l.], v. 10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59793-8>.

BURDASS, D.; GRAINGER, J.; HURST, J. (ed.). **Basic Practical Microbiology: A Manual**. [S.l.]: Society for General Microbiology, 2006.

CARMO, C. O. do; SILVA, F.; SILVA, R. M. da; SOARES, A. C. F. Utilização de compostos orgânicos inoculados com actinobactéria na adubação de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Magistra**, Cruz das Almas, BA, v. 30, p. 18-27, 2019.

Disponível em:

<https://www3.ufrb.edu.br/magistra/index.php/magistra/article/view/511>. Acesso em: 7 dez. 2023.

CARMO, F. R. do. **Uso de fertilizantes orgânicos na agricultura: desafios e perspectivas**. São Paulo: USP, 2019. DOI: <https://doi.org/10.11606/t.18.2019.tde-05082019-111146>.

CARVALHO, D. S. **Estratégias para a adoção de controle biológico na agricultura**. Curitiba: UFPR, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5380/rsa.v14i1.31535>.

CARVALHO, J. R.; SILVA, A. P.; ALMEIDA, R. M. **Impactos do controle biológico na agricultura moderna**. Brasília: Embrapa, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.1590/1678-992X-2021-0034>.

COHEN, J. **Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences**. 2nd ed. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, 1988.

CUERVO, A. M. **Estudo dos fungos Beauveria e Metarhizium na agricultura**.

Madrid: Universidad Complutense de Madrid, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.5209/ESIC.2018.v25.n2.59489>.

DEB, L.; DUTTA, P.; TOMBISANA DEVI, R. K.; THAKURIA, D.; MAJUMDER, D. Endophytic Beauveria bassiana can protect the rice plant from sheath blight of rice caused by Rhizoctonia solani and enhance plant growth parameters. **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 204, n. 9, p. 587, 1^o set. 2022. DOI: 10.1007/S00203-022-03211-2.

EMBRAPA. **Controle biológico na agricultura brasileira: avanços e desafios**. Brasília: Embrapa, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2024-0054>.

EMBRAPA. **Manual do produtor: utilização de fungos no controle biológico**.

Campinas: Embrapa, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-204X-2019-0003>.

FAN, Y. **Uso de fertilizantes bio-orgânicos na produção de tomate**. Beijing:

China Agricultural University, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12325-023-00645-5>.

FAO. **Impactos econômicos e ambientais do uso de agroquímicos**. Roma: FAO, 2020. DOI: <https://doi.org/10.4060/cb123en>.

FERNANDES, J. P.; SILVA, C. A.; PEREIRA, M. T. **Novas tendências no controle biológico**. São Paulo: USP, 2023. DOI: <https://doi.org/10.11606/t.21.2023.tde-05082023-121234>.

FERREIRA, L. M. **Caminhos para o futuro do controle biológico**. Recife: UFPE, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822002000300010>.

FRITZ, L. L. BERLITZ, D. L.; MACEDO, V. R. M.; MACHADO, V.; FIUZA, L. M. Frequência de *Bacillus* spp. em solos de diferentes sistemas de cultivo de arroz irrigado em Cachoeirinha, RS. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 2, p. 405-412, 2010.

GOULSON, D.; NICHOLLS, E.; BOTIAS, C.; ROTHERAY, E. L. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, Washington, v. 347, n. 6229, p. 1255957, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1255957>.

GURR, G. M.; WRATTEN, S. D.; ALTIERI, M. A. Ecological engineering for pest management: Advances in habitat manipulation for arthropods. **Austral Ecology**, v. 3, p. 609-614, 2005. Disponível em: https://biocontrol.ucr.edu/sites/default/files/202002/ecological_engineering_gurr_et_al.pdf. Acesso em: mar. 2024

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma species: opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 2, n. 1, p. 43-56, jan. 2004. DOI: 10.1038/NRMro797.

HERMOSA, R.; VITERBO, A. *et al.* Trichoderma as a biocontrol agent against pests and diseases. **Pest Management Science**, Sussex, v. 68, n. 8, p. 1076-1083, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.3294>.

HOITINK, H.; MADDEN, L.; DORRANCE, A. Systemic Resistance Induced by Trichoderma spp.: Interactions Between the Host, the Pathogen, the Biocontrol Agent, and Soil Organic Matter Quality. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 186-9, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0186>.

HUANG J.; XU, C.; RIDOUTT, B.; WANG, X.; REN, P. Nitrogen and phosphorus losses and eutrophication potential associated with fertilizer application to cropland in China. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 159, p. 171-179, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2017.05.008>. Acesso em: jun. 2024

IHS MARKIT. **Crescimento do mercado de produtos biológicos no Brasil**. 2021.

JONES, M.; MURPHY, S. Organic fertilizers as an alternative to synthetic options. **Journal of Sustainable Agriculture**, Binghamton, v. 12, n. 3, p. 233-246, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12355-018-0074-3>.

KA, S. Controle biológico e sustentabilidade na agricultura. Dakar: University of Dakar, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.01.008>

KAVAMURA, V. N. *Bacillus aryabhatai*: resistência a estresse hídrico e promoção de crescimento em plantas. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 11, n. 7, p. 345-350, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.03.012>.

- KLEOPPER, J.; LEONG, J.; TEINTZE, M.; SCHROTH, M. N. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. **Nature**, London, v. 286, p. 885-886, 1980. DOI: <https://doi.org/10.1038/286885a0>.
- KRELL, V.; UNGER, S.; JAKOBS-SCHOENWANDT, D.; PATEL, A. *Endophytic Metarhizium brunneum* mitigates nutrient deficits in potato and improves plant productivity and vitality. **Fungal Ecology**, Massachusetts, v. 34, p. 43-49, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FUNECO.2018.04.002>.
- KREMEN, C.; WILLIAMS, N. M.; THORP, R. W. Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 26, p. 16812-16816, 16 Dec. 2002. DOI: [10.1073/pnas.262413599](https://doi.org/10.1073/pnas.262413599).
- KUMAR, R. *et al.* Stimulants for plant growth: hormones and active compounds. **Advances in Agronomy**, v. 162, p. 123-148, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.05.001>.
- LAMPKIN, N.; SMITH, J.; SMITH, L. Agroecology and Organic Farming as Approaches to Reducing the Environmental Impacts of Agricultural Chemicals. *In*: HESTER, R. E.; HARRISON, R. M. (ed.). **Agroecology And Sustainable Agricultural Practices**. [S.l.]: Royal Society of Chemistry, 2016. p. 94-113. (Issues in Environmental Science and Technology). Disponível em: <https://doi.org/10.1039/9781782626916-00094>. Acesso em: 10 jun. 2024.
- LANZA, L. M.; MONTEIRO, A. C.; MALHEIROS, E. B. Sensibilidade de *Metarhizium anisopliae* à temperatura e umidade em três tipos de solos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n. 1, p. 6-12, jan./fev. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009000100002>.
- LI, W.; NARAYANAN, M.; SHI, X.; CHEN, X.; LI, Z.; MA, Y. Biofilm formation by *Bacillus aryabhattai* and its role in environmental resilience. **Environmental Microbiology Reports**, v. 12, n. 3, p. 365-373, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12862>.
- LIMA, A. F.; SILVA, E. G. de A.; IWATA, B. de F. Agriculturas e agricultura familiar no Brasil: uma revisão de literatura. **Retratos de Assentamentos**, Araraquara-SP, v. 22, n. 1, p. 50-68, 2019. DOI: [10.25059/2527-2594/retratosdeassentamentos/2019.v22i1.332](https://doi.org/10.25059/2527-2594/retratosdeassentamentos/2019.v22i1.332). Disponível em: <https://retratosdeassentamentos.com/index.php/retratos/article/view/332>. Acesso em: 3 jun. 2024.
- LIMA, R. P.; PEREIRA, F. F. Efeito de diferentes fertilizantes na eficácia de fungos entomopatogênicos em solos agrícolas. **Agroecologia em Foco**, v. 7, n. 1, p. 45-53, 2021.
- MAEDER, P.; FLIESSBACH, A.; DUBOIS, D.; GUNST, L.; FRITZ, P.; NIGGLI, U. Soil Fertility and Biodiversity in Organic Farming Science. **Science**, Washington, v. 296, n. 5573, p. 1694-1697, 31 maio 2002. DOI: [10.1126/ciência.1071148](https://doi.org/10.1126/ciência.1071148)
- MARTÍNEZ-KLIMOVA, E.; CONTRERAS-PATIÑO, A.; JARAMILLO-FLORES, M. Eugenia. Secondary metabolites from *Bacillus* species and their antimicrobial

properties. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1134, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01134>

MEYLING, N. V.; EILENBERG, J. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in a temperate agroecosystem: potential for conservation biological control. **Biological Control**, v. 43, n. 2, p. 145-155, 2007. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2007.07.007.

MUKHERJEE, M.; MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; ZACHOW, C.; BERG, G.; ZEILINGER, S. Trichoderma–Plant–Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control. **Indian Journal of Microbiology**, [S.l.], v. 52, n. 4, p. 522-529, dez. 2012. DOI: 10.1007/s12088-012-0308-5.

NDOUNG, M. Isolamento e caracterização de *Bacillus aryabhatai*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 13, n. 20, p. 385-391, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2019.9177>.

NICOLOPOULOU-STAMATI, P.; MAIPAS, S.; KOTAMPASI, C.; STAMATIS, P.; HENS, L. Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. **Frontiers in Public Health**, [London], v. 4, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00148>. Acesso em: 4 jun. 2024.

OLIVEIRA, R. F. **Desafios e estratégias para a implementação do controle biológico**. Rio de Janeiro: UFRJ, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162022000100006>.

ONGENA, M.; JACQUES, P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 16, n. 3, p. 115-125, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>.

PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 71, n. 5, p. 345-351, 2014. DOI: 10.1590/0103-9016-2014-0167.

PAULA, S. de **Utilização de *Beauveria bassiana* no controle biológico de pragas**. Belo Horizonte: UFMG, 2008. DOI: <https://doi.org/10.5380/rsa.v7i1.25667>.

PEDRA, L.; BIDOCHKA, M. The multifunctional lifestyles of *Metarhizium*: evolution and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 104, p. 9935-9945, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10968-3>

PEREIRA, E. *et al.* **Controle biológico na agricultura: uma visão geral**. Londrina: Embrapa, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180025>.

PEREIRA, J. C. *et al.* **Impactos do controle biológico na sustentabilidade agrícola**. Manaus: INPA, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-439220210092>.

PRETTY, J. Intensification for redesigned and sustainable agricultural systems. **Science**, Washington, v. 362, n. 6417, p. eaav0294, 23 nov. 2018. DOI: 10.1126/Science.aav0294.

PRIMAVESI, A. M. **Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 2002.

REHMAN, S.; CASTRO, F.; APRILE, A.; BENEDETTI, M.; FANIZZI, F. Vermicompost: Enhancing Plant Growth and Combating Abiotic and Biotic Stress. **Agronomy**, Basel, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy13041134>. Acesso em: jun. 2024

SALDANHA, M. A.; WALKER, C.; QUEVEDO, A. C.; PEDRON, L.; MUNIZ, M. F. B.; COSTA, E. C. Caracterização morfofisiológica de fungos entomopatogênicos para o controle biológico de *Oncideres impluviata*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 776-792, abr. 2022. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509849227>.

SETLOW, P. Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. **Journal of Applied Microbiology**, London, v. 101, n. 3, p. 514-525, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02872.x>.

SHRESTHA, B. K.; KARKI, H. S.; GROTH, D. E.; JUNGKHUN, N.; HAM, J. H. Biological Control Activities of Rice-Associated *Bacillus* sp. Strains against Sheath Blight and Bacterial Panicle Blight of Rice. **PLoS ONE**, [S.l.], v. 11, n. 1, p. e0146764, 14 jan. 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0146764. PMID: 26765124; PMCID: PMC471316

SILVA, R. A.; ALMEIDA, J. C. Revisão sobre o controle biológico no Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Brasília, v. 10, n. 4, p. 91-102, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-90162015000700003>.

SILVA, R. N. da; NUNES, M. E. de A. A.; ANDRADE, H. M. L. da S. Percepção de jovens agricultores sobre práticas agroecológicas na produção agrícola. **Brazilian Journal of Agroecology and Sustainability**, v. 1, n. 2, 2020. DOI: 10.52719/bjas.v1i2.2874. Disponível em: <https://200.17.137.114/index.php/BJAS/article/view/2874>. Acesso em: 10 ago. 2023.

SILVA, V. M. *et al.* **Políticas governamentais e controle biológico no Brasil**. Brasília: Embrapa, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2022-0047>.

SILVEIRA, M. A. *et al.* **Aumento da demanda por produtos biológicos no mercado agrícola**. Campinas: UNICAMP, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662022000100012>.

SMITH, A.; JOHNSON, B.; LEE, C. Advances in biological control: sustainable approaches for modern agriculture. **Agricultural Science Review**, Washington, v. 45, n. 2, p. 123-135, 2020.

SMITH, P.; MARTINO, D.; CAI, Z.; GWARY, D.; JANZEN, H.; KUMAR, P.; MCCARL, B.; OGLADZINA, S.; O'MARA, F.; RICE, C.; SCHNEIDER, U.; TOWPRAYOON, S.; WESTKOHLE, S. E.; ZHANG, X. Greenhouse gas mitigation in agriculture. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 363, n. 1492, p. 789-813, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2184>.

SOOD, M.; KAPOOR, D.; KUMAR, V.; SHETEIWY, M.; RAMAKRISHNAN, M.; LANDI, M.; ARANITI, F.; SHARMA, A. *Trichoderma: The "Secrets" of a Multitalented*

Biocontrol Agent. plants, [S.l.], v. 9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9060762>.

SOUMARE, A.; DIEDHIOU, P. M.; THIAW, S. Biological control: principles and practices for sustainable agriculture. **Journal of Agricultural Ecology**, Washington, v. 15, n. 4, p. 200-214, 2020

SUI, J.; YU, Q.; YANG, K.; YANG, J.; LI, C.; LIU, X. Efeitos de *Bacillus subtilis* T6-1 na estrutura da comunidade microbiana da rizosfera do choupo de cultivo contínuo. *Biologia (Basileia)*, v. 11, n. 5, p. 791, 23 maio 2022. DOI: [10.3390/biologia11050791](https://doi.org/10.3390/biologia11050791).

VANLOQUEREN, G.; BOULARD, N.; BAWIN, F. *et al.* Fertilizers and agrochemicals: impacts on biodiversity and ecosystem services. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [S.l.], v. 276, p. 11-25, 2019.

VERMEULEN, S. J.; CAMPBELL, B. M.; INGRAM, J. S. I. Climate change and food systems. **Annual Review of Environment and Resources**, Palo Alto, v. 37, p. 195-222, 2012. DOI: [10.1146/annurev-environ-020411-130608](https://doi.org/10.1146/annurev-environ-020411-130608)

XU, Y.; OROZCO, R.; WIJERATNE, E.; ESPINOSA-ARTILES, P.; GUNATILAKA, A.; STOCK, S.; MOLNÁR, I. Biosynthesis of the cyclooligomer depsipeptide bassianolide, an insecticidal virulence factor of *Beauveria bassiana*. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v. 46, n. 5, p. 353-364, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2009.03.001>.

YAMADA, K.; XU, H. Properties and applications of an organic fertilizer inoculated with effective microorganisms. **Journal of Crop Production**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 255-268, 2001. DOI: https://doi.org/10.1300/J144v03n01_21.

ZAMBRANO, E. C.; PARRA, A. S.; ORTIZ, Á. M. M. Biocontrol of rice sheath blight with microorganisms obtained in rice cultivated soils. **Bragantia**, Campinas, v. 80, p. e0921, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20200356>.

APENDICE A – Resultados da Análise de Variância e Tukey

Bacillus subtilis

Resultados da ANOVA

Fonte da Variação	gl (Graus de Liberdade)	MQ (Quadrado Médio)	F	Valor-p	F Crítico
Entre grupos	4	2,11E+24	24,7522	1,85E-19	2,381877
Dentro dos grupos	895	8,53E+22			
Total	899				

Resultados do Teste de Tukey

Comparação	Diferença	Limite Inferior	Limite Superior	p adj
5M; 2M	-98658629007	-182794661564	-14522596451	0.0121601
4M-2M	-80880181867	-165016214423	3255850689	0.0662863
1M-2M	64415279444	-19720753112	148551312001	0.2240645
3M-2M	-221763805444	-305899838001	-137627772888	0.0000000
4M-5M	17778447141	-66357585415	101914479697	0.9783471
1M-5M	163073908452	78937875896	247209941008	0.0000015
3M-5M	-123105176437	-207241208993	-38969143881	0.0006556
1M-4M	145295461311	61159428755	229431493867	0.0000269
3M-4M	-140883623578	-225019656134	-56747591022	0.0000528
3M-1M	-286179084889	-370315117445	-202043052333	0.0000000

*Bacillus aryabhatai***Resultados da ANOVA**

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1,1928E+11		42,98E+10	5,1952590	0,002157	2,641465
Dentro dos grupos	2,009E+11		355,74E+09			
Total	3,2018E+11	39				

Resultados do Teste de Tukey

Comparação	Diferença	Limite Inferior	Limite Superior	p adj
2M -1M	1437.5	-107473.8	110348.8	0.9999995
3M-1M	5250.0	-103661.3	114161.3	0.9999125
4M-1M	62.5	-108848.8	108973.8	1.0000000
5M-1M	138125.0	29213.7	247036.3	0.0071753
3M-2M	3812.5	-105098.8	112723.8	0.9999756
4M-2M	-1375.0	-110286.3	107536.3	0.9999996
5M-2M	136687.5	27776.2	245598.8	0.0079436
4M-3M	-5187.5	-114098.8	103723.8	0.9999166
5M-3M	132875.0	23963.7	241786.3	0.0103760
5M-4M	138062.5	29151.2	246973.8	0.0072072

*Beauveria bassiana:***Resultados da ANOVA**

Fonte da Variação	gl (Graus de Liberdade)	MQ (Quadrado Médio)	F	Valor-p	F Crítico
Entre grupos	4	3075655563	14,39592135	4,81E-07	2,641465
Dentro dos grupos	35	213647705.4			
Total	39				

Resultados do Teste de Tukey

Comparação	Diferença	Limite Inferior	Limite Superior	p adj
5M-1M	23293.75	2281.813	44305.687	0.0235960
4M-1M	-18750.00	-39761.937	2261.937	0.0992311
3M-1M	-12750.00	-33761.937	8261.937	0.4210728
2M-1M	-27000.00	-48011.937	-5988.063	0.0063015
4M-5M	-42043.75	-63055.687	-21031.813	0.0000155
3M-5M	-36043.75	-57055.687	-15031.813	0.0001821
2M-5M	-50293.75	-71305.687	-29281.813	0.0000005
3M-4M	6000.00	-15011.937	27011.937	0.9223677
2M-4M	-8250.00	-29261.937	12761.937	0.7902853
2M-3M	-14250.00	-35261.937	6761.937	0.3111591

Metarhizium spp:

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	8581969778	4	2145492444	6,265528	0,000518	2,605975
Dentro dos grupos	13697121667	40	342428041,7			
Total	22279091444	44				

Resultados do Teste de Tukey

Comparação	Diferença	Limite Inferior	Limite Superior	p adj
5M-2M	39044.444	14130.04	63958.848	0.0005646
4M-2M	4555.556	-20358.85	29469.959	0.9845862
1M-2M	7222.222	-17692.18	32136.625	0.9203803
3M-2M	11166.667	-13747.74	36081.070	0.7046589
4M-5M	-34488.889	-59403.29	-9574.486	0.0026823
1M-5M	-31822.222	-56736.63	-6907.819	0.0064103
3M-5M	-27877.778	-52792.18	-2963.375	0.0215950
1M-4M	2666.667	-22247.74	27581.070	0.9980194
3M-4M	6611.111	-18303.29	31525.514	0.9410366
3M-1M	3944.444	-20969.96	28858.848	0.9910356

Trichoderma spp.

Resultados da ANOVA

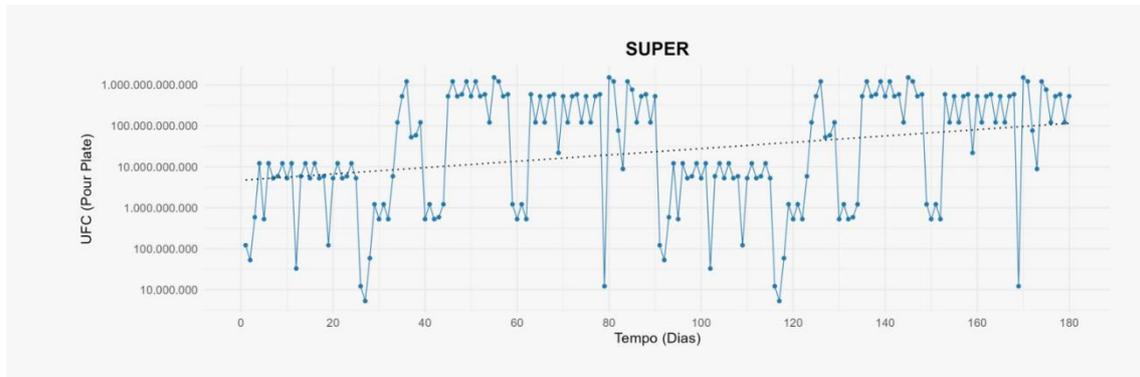
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	3,46923E+19	4	8,67307E+18	2,368575577	0,0543732	2,421843
Dentro dos grupos	6,5911E+20	180	3,66172E+18			
Total	6,93802E+20	184				

Resultados do Teste de Tukey

Comparação	Diferença	Limite Inferior	Limite Superior	p adj
5M – 2M	1.082590e+09	-143372492	2308553336	0.1112175
4M-2M	-3.740649e+05	-1226336979	1225588849	1.0000000
1M-2M	5.979905e+05	-1225364924	1226560905	1.0000000
3M-2M	-2.859027e+05	-1226248817	1225677011	1.0000000
4M-5M	-1.082964e+09	-2308927401	142998428	0.1110024
1M-5M	-1.081992e+09	-2307955345	143970483	0.1115621
3M-5M	-1.082876e+09	-2308839238	143086590	0.1110531
1M-4M	9.720554e+05	-1224990859	1226934969	1.0000000
3M-4M	8.816216e+04	-1225874752	1226051076	1.0000000
3M-1M	-8.838932e+05	-1226846807	1225079021	1.0000000

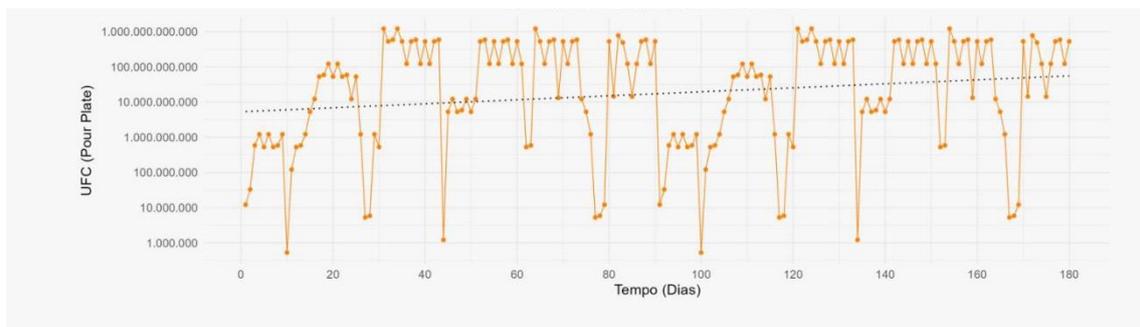
APENDICE B - Gráficos de estabilidade no crescimento de *B. subtilis* nos tratamentos sugeridos

Tratamento com o 1M



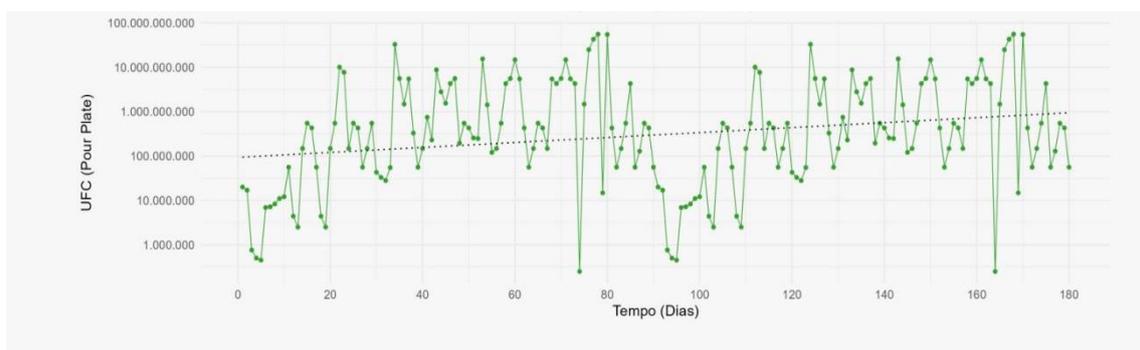
Fonte: Do autor, 2024

Tratamento 2M:



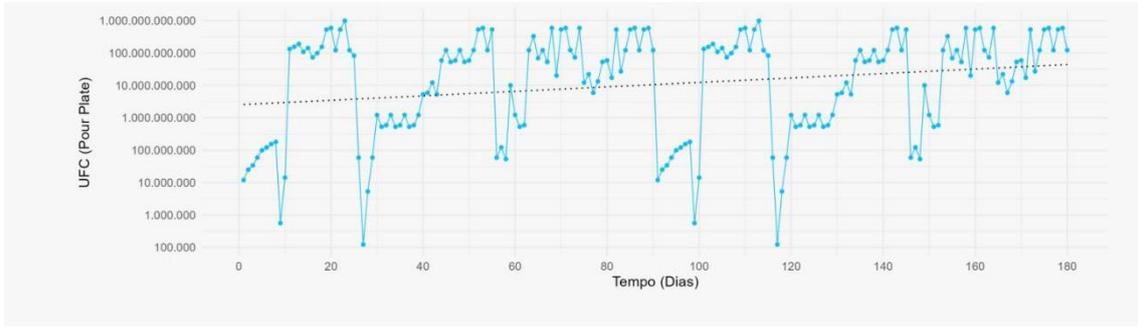
Fonte: Do autor, 2024

Tratamento 3M



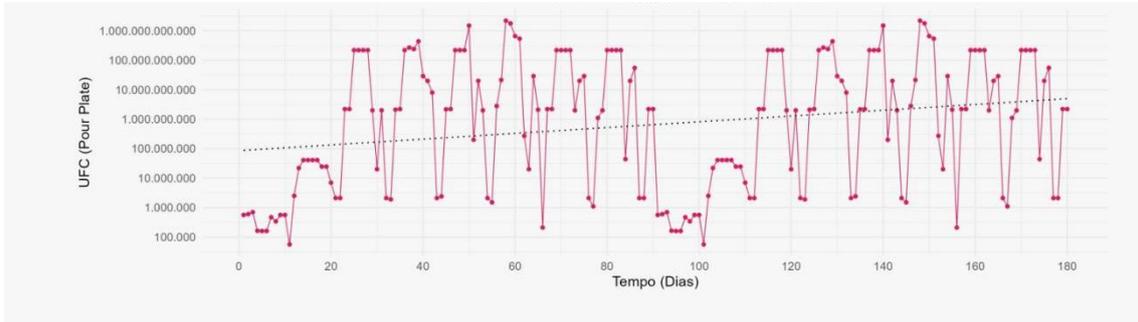
Fonte: Do autor, 2024

Tratamento 4M



Fonte: Do autor, 2024

Tratamento 5M



Fonte: Do autor, 2024