



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE ERECHIM
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

NAUDIO LADIR DIERING

**EFEITOS DO USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES NA FORMAÇÃO DE
MUDAS DO PORTA-ENXERTO *Poncirus trifoliata* (L.) RAF E NO
DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE LARANJA VALÊNCIA (*Citrus
sinensis*) E TANGOR MURCOTT (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*)**

ERECHIM

2021

NAUDIO LADIR DIERING

**EFEITOS DO USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES NA FORMAÇÃO DE
MUDAS DO PORTA-ENXERTO *Poncirus trifoliata* (L.) RAF E NO
DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE LARANJA VALÊNCIA (*Citrus
sinensis*) E TANGOR MURCOTT (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*)**

Dissertação de Mestrado apresentada para o Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Altemir José Mossi
Coorientadora: Prof^a. Dra. Caroline Müller

ERECHIM

2021

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS

Diering, Naudio Ladir

Efeitos do uso de microrganismos eficientes na formação de mudas do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* (L.) Raf e no desenvolvimento de plantas jovens de laranja Valência (*Citrus sinensis*) e tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*) / Naudio Ladir Diering. -- 2021.

135 f.:il.

Orientador: Dr. Altemir José Mossi

Co-orientadora: Dra. Caroline Müller

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Erechim, RS, 2021.

1. Citros, Microrganismos, Mudas, Matéria Orgânica, Porta-enxerto. I. Mossi, Altemir José, orient. II. Müller, Caroline, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

NAUDIO LADIR DIERING

EFEITOS DO USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES NA FORMAÇÃO DE MUDAS DO PORTA-ENXERTO *Poncirus trifoliata* (L.) RAF E NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE LARANJA VALÊNCIA (*Citrus sinensis*) E TANGOR MURCOTT (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*)

Dissertação de Mestrado apresentada para o Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Altemir José Mossi

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Altemir José Mossi - UFFS

Prof.^a Dra. Claudia Petry - UPF

Prof. Dr. Eduardo Sanches Stuchi - EMBRAPA

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

A **DEUS**, por colocar tantas pessoas especiais no meu caminho e me permitir a coragem de acreditar que um mundo melhor é possível.

A minha esposa **Ivania**, pelo apoio incondicional.

A minha filha **Valentina**, por compreender e aceitar abrir mão de inúmeros momentos de brincadeira para que eu pudesse me dedicar aos estudos.

Ao Prof. Dr. **Altemir José Mossi**, por ter me orientado sempre com dedicação, competência e profissionalismo, guiando-me e incentivando-me com imensa sabedoria e paciência.

A minha coorientadora Prof^a Dra. **Caroline Müller**, por sua grandiosa dedicação, imensa sabedoria e valiosos ensinamentos.

Ao eng. **Agrônomo Raulino Gabriel Herdt** e ao **Viveiro de Mudanças Mondini**, por prontamente terem se disponibilizado a doar as mudas de laranja Valência e tangor Murcott utilizadas para o experimento.

Aos todos os servidores técnicos e terceirizados dos setores de **Laboratórios e Área Experimental** da UFFS/Erechim, pelo eficiente apoio técnico e operacional durante a realização dos experimentos.

Aos membros da banca examinadora, Prof.^a Dra. **Claudia Petry** e Prof. Dr. **Eduardo Sanches Stuchi**, por gentilmente terem aceitado fazer parte e colaborar com esta dissertação.

Aos bolsistas e voluntários vinculados ao **Laboratório de Agroecologia**, em especial ao colega **Alessandro Ulrich**, por prontamente sempre ter me ajudado nas atividades de campo e de laboratório.

A técnica de laboratório **Suzana Fátima Bazoti**, pelo apoio técnico fornecido durante a realização dos trabalhos no Laboratório de Agroecologia.

Aos professores Dr. **Leandro Galon** e Dra. **Helen Treichel**, pela disponibilização de espaços e equipamentos laboratoriais.

A colega **Thamarys Scapini**, pelo auxílio no preparo das amostras dos microrganismos eficientes destinadas a análise microbiológica.

Aos **professores** do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental pelo aprendizado recebido.

RESUMO GERAL

O Brasil é o maior produtor mundial de citros. Esta posição de destaque no cenário mundial demanda do setor citrícola brasileiro o uso de elevadas quantidades de fertilizantes sintéticos e agrotóxicos, os quais causam impacto ambiental, diminuem o retorno financeiro do citricultor e aumentam a sua dependência por insumos externos. Dentre as alternativas existentes para melhorar o desenvolvimento dos cultivos agrícolas e aumentar a sua sustentabilidade tem-se os chamados Microrganismos Eficientes (EM). Os inoculantes a base de EM são constituídos por uma mistura de bactérias e fungos que coexistem sinergicamente em um determinado meio. Apesar de haverem estudos indicando benefícios do uso de EM em diversos cultivos agrícolas, em culturas cítricas estes ainda são escassos. O presente trabalho tem como objetivo geral avaliar o efeito do uso de EM na formação de mudas do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* (L.) Raf e no desenvolvimento de plantas jovens de laranja Valência (*Citrus sinensis*) e tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*). Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, na Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim/RS. Foram utilizados EM obtidos a partir da tecnologia caseira de captura e multiplicação (microrganismos eficientes nativos - EMN) e microrganismos eficientes oriundos de formulação comercial (EM1®). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). Para o experimento com o porta-enxerto *Poncirus trifoliata* foram utilizados três (três) tratamentos (produto comercial EM1®, EMN e controle), com 3 (três) repetições por tratamento e 12 (doze) plantas por unidade experimental. O experimento envolvendo a laranja Valência e o tangor Murcott foi conduzido de forma independente para cada cultura, utilizando-se o esquema fatorial três por dois (3x2), sendo o primeiro fator os tratamentos produto comercial EM1®, microrganismos eficientes nativos (EMN) e tratamento controle e o segundo fator 2 (duas) situações de cobertura morta, uma com palha de aveia (*Avena sativa*) e outra com palha oriunda de vegetação espontânea (pousio). O experimento com as plantas de laranja Valência e tangor Murcott foi conduzido com 5 (cinco) repetições por tratamento e 1 (uma) planta por unidade experimental. A dosagem utilizada para o EM1® e o EMN, em todos os experimentos, foi de 16,65 l/ha de inoculante ativado. O inoculante a base de microrganismos eficientes nativos (EMN) apresentou maior diversidade microbiana que o produto comercial EM1®. O EM1® e o EMN aumentaram o diâmetro do caule do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* na altura do ponto de enxertia. O produto comercial EM1® causou aumento no crescimento das raízes de primeira ordem do porta-enxerto *Poncirus trifoliata*. O uso dos inoculantes microbianos EM1® e EMN não comprometeu o tempo de permanência das colunas de palha de aveia e pousio sobre o solo cultivado com as culturas da laranja Valência e do tangor Murcott. Incrementos nas variáveis diâmetro do caule e altura de planta, causados pelos tratamentos EM1® e EMN nas plantas jovens de laranja Valência e tangor Murcott, foram verificados até os 240 dias após o plantio das mudas. Os resultados obtidos com a análise da massa seca das plantas de laranja Valência e tangor Murcott indicam que efeitos positivos decorrentes do uso dos inóculos EM1® e EMN poderão ser obtidos mediante o cultivo das respectivas culturas em sistema com cobertura de palhada de aveia.

PALAVRAS-CHAVE: Diversidade microbiológica; citros; agricultura orgânica; inoculante.

ABSTRACT

Brazil is the world's largest citrus producer. This prominent position has demanded from the Brazilian citrus sector the use of high amounts of synthetic pesticide and fertilizers, which cause environmental impact, reduce the financial return and increase their dependence on external agricultural inputs. Among the alternatives to increase the development of agricultural crops and increase their sustainability there are the Efficient Microorganisms (EM) technology. The EM inoculants consist of a mixture of bacteria and fungi that coexist synergistically in a certain medium. Although there are studies indicating the benefits of using EM in several agricultural crops, in citrus crops these are still scarce. The present study aimed to evaluate the effect of the EM in the growing of seedlings of the *Poncirus trifoliata* (L.) Raf rootstock, and in the development of young plants of Valencia orange (*Citrus sinensis*) and Murcott tangor (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*), in order to support the development of technologies for organic production of citrus seedlings. The experiments were conducted in a greenhouse condition, at the Federal University of Fronteira Sul, Campus Erechim / RS. Were used EM obtained from "homemade" technology of capture and multiplication (native efficient microorganisms - EMN) and a commercial formulation of efficient microorganisms (EM1®). The experimental design used was completely randomized (DIC). For the experiment with the *Poncirus trifoliata* rootstock three treatments were used (commercial product EM1®, EMN and control), with 3 (three) repetitions per treatment and 12 (twelve) plants per experimental unit. The experiment with the Valencia orange and the Murcott tangor was conducted independently for each culture, using the factorial scheme 3x2, where the first factor was the commercial product EM1®, native efficient microorganisms (EMN) and control treatments. The second factor consisted of 2 (two) mulch situations, one with oat straw (*Avena sativa*) and another with straw from spontaneous vegetation. The experiment with Valencia orange and Murcott tangor was conducted with 5 (five) replications per treatment and 1 (one) plant per experimental unit. The dosage used for both EM1® and EMN, in all experiments, was 16.65 l / ha of activated inoculant. The inoculant based on native efficient microorganisms (EMN) showed greater microbial diversity when compared to commercial product EM1®. The EM1® and EMN increased the stem diameter at the level of grafting of the *Poncirus trifoliata* rootstock. The commercial product EM1® increased the pivoting root system the *Poncirus trifoliata* rootstock. The use of microbial inoculants EM1® and EMN did not modify the permanence time of the oat and fallow straw columns arranged on the soil cultivated with the cultures of Valencia orange and Murcott tangor. Increases in stem diameter and plant height, both by EM1® and EMN treatments in the young Valencia orange and Murcott tangor plants, were verified until 240 days after seedling planting. The results obtained with analysis of dry mass of Valencia orange and Murcott tangor plants, indicate that positive effects resulting from the use of EM1® and EMN inoculants can be obtained by cultivating the respective cultures in a system covered with oat straw.

KEYWORDS: Microbiological diversity; citrus; organic agriculture; inoculant.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Iscas colonizadas com microrganismos desejáveis para a produção de EMN (a) e isca colonizada com microrganismos indesejáveis para a produção de EMN (b)..... 39
- Figura 2** - Volume total de raiz (VTR) [A], volume de raiz muito fina (VRMF) [B], volume de raiz fina (VRF) [C], volume de raiz média (VRM) [D] e volume de raiz grossa (VRG) [E] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 46
- Figura 3** - Comprimento total de raiz (CTR) [A], comprimento de raiz muito fina (CRMF) [B], comprimento de raiz fina (CRF) [C], comprimento de raiz média (CRM) [D] e comprimento de raiz grossa (CRG) [E] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 47
- Figura 4** Área superficial total de raiz (ASTR) [A], área superficial de raiz muito fina (ASRMF) [B], área superficial de raiz fina (ASRF) [C], área superficial de raiz média (ASRM) [D] e área superficial de raiz grossa (ASRG) [E] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,1$). 49
- Figura 5** - Diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) [A], diâmetro médio ponderado da raiz (DMPR) [B] e comprimento específico de raiz (CER) [C] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,1$). 50
- Figura 6** - Altura da planta (AP) [A], diâmetro do caule (B) [B], número de folhas (NF) [C] e área foliar total (AFT) [D] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 51
- Figura 7** - Massa seca das folhas (MSF) [A], massa seca do caule (MSC) [B], massa seca da raiz (MSR) [C], massa seca da parte aérea (MSPA) [D] e massa seca total (MST) [E] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 52
- Figura 8** - Representação gráfica do procedimento realizado para, a partir das unidades experimentais controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), obter-se as unidades experimentais controle sem fator palhada (CS), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S) e microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS)..... 73
- Figura 9** - Crescimento mensal do diâmetro do caule da laranja Valência nas condições de tratamento controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto

comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em milímetros (mm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). 79

Figura 10 - Evolução acumulada do crescimento do diâmetro do caule da laranja Valência nas condições de controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em milímetros (mm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). 81

Figura 11 - Crescimento mensal do diâmetro do caule do tangor Murcott nas condições de tratamento controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em milímetros (mm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). 83

Figura 12 - Evolução acumulada do crescimento do diâmetro do caule do tangor Murcott nas condições de controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em milímetros (mm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 84

Figura 13 - Evolução do crescimento em altura das plantas de laranja Valência nas condições de tratamento controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em centímetros (cm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). 87

Figura 14 - Evolução do crescimento em altura das plantas do tangor Murcott nas condições de tratamento controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA)

e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em centímetros (cm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). 88

Figura 15 - Número de folhas (NF) [A, B], área foliar total (AFT) [C, D] e índice de área foliar (IAF) [E, F] das plantas da laranja Valência submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey. 90

Figura 16 - Volume de copa (VC) [A, B], massa seca do caule e ramos (MSCR) [C, D] e massa seca das folhas (MSF) [E, F] das plantas da laranja Valência submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey. 92

Figura 17 - Massa seca da raiz (MSR) [A, B], massa seca da parte aérea (MSPA) [C, D] e massa seca total (MST) [E, F] das plantas da laranja Valência submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey. 94

Figura 18 - Volume total de raiz (VTR) [A, B], área superficial total de raiz (ASTR) [C, D] e diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) [E, F] das plantas da laranja Valência submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey. 95

Figura 19 - Número de folhas (NF) [A, B], área foliar total (AFT) [C, D] e índice de área foliar (IAF) [E, F] das plantas do tangor Murcott submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio

(CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey. 97

Figura 20 - Volume de copa (VC) [A, B], massa seca do caule e ramos (MSCR) [C, D] e massa seca das folhas (MSF) [E, F] das plantas do tangor Murcott submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey. 99

Figura 21 - Massa seca da raiz (MSR) [A, B], massa seca da parte aérea (MSPA) [C, D] e massa seca total (MST) [E, F] das plantas do tangor Murcott submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey. 101

Figura 22 - Volume total de raiz (VTR) [A, B], área superficial total de raiz (ASTR) [C, D] e diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) [E, F] das plantas do tangor Murcott submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey. 102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fungos encontradas em amostra de Microrganismos Eficientes Nativos - EMN..	43
Tabela 2 - Bactérias encontradas em amostra de Microrganismos Eficientes Nativos - EMN	44
Tabela 3 - Composição do produto comercial EM1®.....	45
Tabela 4 - Evolução mensal da persistência da coluna de palha de aveia e pousio (vegetação espontânea) avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após o início das aplicações dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Valores representam as médias ($n = 5$), em centímetros (cm), do decréscimo mensal da coluna de palha sobre o vaso.....	75
Tabela 5 - Evolução acumulada da persistência da coluna de palha de aveia e pousio (vegetação espontânea) avaliados aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após o início das aplicações dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Valores representam as médias ($n = 5$), em centímetros (cm), do decréscimo acumulado da coluna de palha sobre o vaso.	77

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

AFT	Área foliar total	cm ²
AP	Altura das plantas	cm
ASO	Área de superfície ocupada	cm ²
ASRF	Área de superfície de raiz fina	cm ²
ASRG	Área de superfície de raiz grossa	cm ²
ASRMF	Área de superfície de raiz muito fina	cm ²
ASTR	Área de superfície total de raiz	cm ²
C	Controle	
CA	Controle com palhada de aveia	
CE	Comprimento específico de raiz	cm/g
CP	Controle com palhada de pousio	
CRF	Comprimento de raiz fina	cm
CRG	Comprimento de raiz grossa	cm
CRMF	Comprimento de raiz muito fina	cm
CS	Controle sem fator palhada	
CS	Controle sem fator palhada	
CTR	Comprimento total de raiz	cm
DAP	Dias após o plantio	
DAS	Dias após a semeadura	
DCAE	Diâmetro do caule na altura do ponto de enxertia	cm
DE	Diâmetro na direção da entrelinha	cm
DIC	Delineamento inteiramente casualizado	
DL	Diâmetro na direção da linha	cm
DMPR	Diâmetro médio ponderado de raiz	mm
DRC	Diâmetro da raiz ao nível do colo	cm
EM	Microrganismos eficientes	
EM1®	Produto comercial EM1®	
EM1®S	Produto comercial EM1® sem fator palhada	
EMN	Microrganismos eficientes nativos	
EMNS	Microrganismos eficientes nativos sem fator palhada	

H	Altura	cm
Hib.	Híbrido	
IAF	Índice de área foliar	
MCA	Tangor Murcott com palhada de aveia	
MCP	Tangor Murcott com palhada de pousio	
MEM1®A	Tangor Murcott com palhada de aveia sob aplicação de produto comercial EM1®	
MEM1®P	Tangor Murcott com palhada de pousio sob aplicação de produto comercial EM1®	
MEMNA	Tangor Murcott com palhada de aveia sob aplicação de microrganismos eficientes nativos	
MEMNP	Tangor Murcott com palhada de pousio sob aplicação de microrganismos eficientes nativos	
MS	Massa Seca	g
MSC	Massa seca de caule	g
MSF	Massa seca de folhas	g
MSPA	Massa seca da parte aérea	g
MSR	Massa seca de raiz	g
MST	Massa seca total	g
NF	Número de folhas	
RF	Raízes finas	
RG	Raízes grossas	
RM	Raízes médias	
RMF	Raízes muito finas	
UFC	Unidades formadoras de colônias	
Var.	Variedade	
VC	Volume de copa	cm ³
VCA	Laranja Valência com palhada de aveia	
VCP	Laranja Valência com palhada de pousio	
VEM1®A	Laranja Valência com palhada de aveia sob aplicação de produto comercial EM1®	
VEM1®P	Laranja Valência com palhada de pousio sob aplicação de produto comercial EM1®	
VEMNA	Laranja Valência com palhada de aveia sob aplicação de microrganismos eficientes nativos	

VEMNP	Laranja Valência com palhada de pousio sob aplicação de microrganismos eficientes nativos	
VRF	Volume de raiz fina	cm ³
VRG	Volume de raiz grossa	cm ³
VRMF	Volume de raiz muito fina	cm ³
VTR	Volume total de raízes	cm ³

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	19
OBJETIVOS	22
Geral.....	22
Específicos	22
CAPÍTULO 1	23
REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
<i>Poncirus trifoliata</i>	23
Laranja Valência	26
Tangor Murcott	26
Microrganismos Eficientes (EM).....	27
Interação entre microrganismos e matéria orgânica presentes no solo.....	31
Considerações gerais.....	33
CAPÍTULO 2	34
EFEITOS DO USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES NA FORMAÇÃO DE MUDAS DO PORTA-ENXERTO <i>Poncirus trifoliata</i>	34
RESUMO	34
ABSTRACT	35
INTRODUÇÃO.....	36
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
Local do experimento	37
Plantio, manejo das mudas e arranjo experimental.....	37
Captura e multiplicação do EMN	38
Ativação do EMN	39
Ativação do EM1®	39
Identificação dos microrganismos	40
Dosagem e forma de aplicação	40
Coleta dos dados	41
Análise estatística dos dados.....	42
RESULTADOS	43
Composição microbiana do inoculantes EM1® e EMN.....	43
Avaliações morfológicas.....	45
DISCUSSÃO.....	53
Composição microbiana dos inoculantes EM1® e EMN	53
Avaliações morfológicas.....	54

Influência da composição microbiana do EM1® e do EMN nas alterações morfológicas ..	57
CONCLUSÕES	63
CAPÍTULO 3	64
EFEITOS DO USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE LARANJA VALÊNCIA (<i>Citrus sinensis</i>) E TANGOR MURCOTT (<i>Citrus sinensis</i> x <i>Citrus reticulata</i>)	64
RESUMO	64
ABSTRACT	65
INTRODUÇÃO.....	66
MATERIAL E MÉTODOS.....	68
Local do experimento	68
Captura, multiplicação e ativação do EMN e ativação do EM1®.....	68
Delineamento experimental	68
Coleta e preparo do solo utilizado para o preenchimento dos vasos	68
Plantio e manejo das mudas.....	69
Coleta das palhadas e disposição sobre os vasos	70
Dosagem e forma de aplicação	70
Coleta de dados	71
Análise estatística dos dados.....	72
RESULTADOS	74
Evolução da persistência das colunas de palha.....	74
Evolução do crescimento do diâmetro do caule das plantas de laranja Valência e Tangor Murcott.....	78
Evolução do crescimento em altura das plantas de laranja Valência e tangor Murcott.....	85
Massa seca, morfologia da parte aérea e do sistema radicular das plantas de laranja Valência	89
Massa seca, morfologia da parte aérea e do sistema radicular das plantas do tangor Murcott	96
DISCUSSÃO.....	103
Evolução da persistência das colunas de palha.....	103
Evolução do crescimento do diâmetro do caule das plantas de laranja Valência e Tangor Murcott.....	106
Evolução do crescimento em altura das plantas de laranja Valência e tangor Murcott.....	107
Massa seca, morfologia da parte aérea e do sistema radicular das plantas de laranja Valência e tangor Murcott.....	108
CONCLUSÕES	111
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112

APÊNDICES	126
APÊNDICE A – Distribuição das sementes de <i>P. trifoliata</i> nos tubetes no momento do plantio (I), muda de <i>P. trifoliata</i> no tubete aos 96 DAS (II) e sistema radicular da muda de <i>P. trifoliata</i> no momento do transplantio para o saco de polietileno (III).	126
APÊNDICE B - Visão lateral do experimento com <i>P. trifoliata</i> aos 155 DAS (I), vista de cima do experimento com <i>P. trifoliata</i> aos 155 DAS (II) e vista do caule das plantas do <i>P. trifoliata</i> aos 217 DAS (III).	127
APÊNDICE C - Microrganismos Eficientes Nativos (EMN) estabilizados (I), produto comercial EM1® estabilizado (II), Microrganismos Eficientes Nativos (EMN) ativados (III) e produto comercial EM1® ativado (III).	128
APÊNDICE D - Microrganismos Eficientes Nativos (EMN) centrifugados (I) e pellet resultante da centrifugação do EMN (II).	128
APÊNDICE E - Mensuração do diâmetro da raiz do <i>P. trifoliata</i> a nível do colo (DRC) com auxílio de paquímetro (I), sistema radícula do <i>P. trifoliata</i> (II), preparo das folhas do <i>P. trifoliata</i> para análise da área foliar total (AFT) (III) e pesagem do caule do <i>P. trifoliata</i> para obtenção da massa seca (MS) (III)	129
APÊNDICE F - Momento do plantio das mudas de laranja Valência e tangor Murcott (I), mudas de laranja Valência e tangor Murcott recém plantadas nos vasos (II) e mudas de laranja Valência e tangor Murcott plantadas e com cobertura de palha sobre a superfície do solo presente no vaso (III).	130
APÊNDICE G - Vaso com cobertura de palha de pousio (I) e vaso com cobertura de palha de aveia (II) em plantas de laranja Valência aos 85 DAP.....	131
APÊNDICE H - Vista geral do experimento (I) e momento de aplicação dos tratamentos (II) aos 120 DAP.	131
APÊNDICE I - Vista geral do experimento com laranja Valência (I) e tangor Murcott (II) aos 125 DAP.	132
APÊNDICE J - Formação em crescimento da copa das mudas da laranja Valência aos 140 DAP (I) e aos 162 DAP (II).	132
APÊNDICE K – Formação em crescimento dos ramos da laranja (I) e visão geral das plantas de Valência e tangor Murcott (II) aos 175 DAP.	133
APÊNDICE L - Estado das plantas de tangor Murcott (I) e estado das plantas de laranja Valência (II) aos 264 DAP.....	134
APÊNDICE M – Estado de decomposição das palhadas de aveia (I) e pousio (II) presentes em vasos com plantas de laranja Valência aos 117 DAP.	135

INTRODUÇÃO GERAL

O constante aprimoramento dos métodos de produção, industrialização e comercialização fazem com que o setor citrícola brasileiro ocupe posição de destaque no cenário mundial (NEVES et al., 2010).

No Brasil, as principais espécies cítricas cultivadas são as laranjas, as tangerinas, as limas ácidas e os limões verdadeiros (BASTOS et al., 2014). Além de produzirem frutos que podem ser consumidos *in natura* ou utilizados para a produção de sucos, algumas espécies cítricas também são utilizadas para a obtenção de ácido cítrico e outras matérias primas comumente utilizadas na indústria farmacêutica (LOPES et al., 2011).

Segundo dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos - USDA (2020), a laranja é a principal fruta cítrica cultivada no mundo, com produção total no ano de 2019 de 51,8 milhões de toneladas, seguida pelas tangerinas, 31,4 milhões de toneladas, e limão e lima, 8,2 milhões de toneladas.

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja, com destaque para o Estado de São Paulo, o qual concentra 73% da produção brasileira. O Rio Grande do Sul ocupa a sexta posição no cenário nacional, com apenas 2% e a produção voltada basicamente para a variedade Valência (*Citrus sinensis*) (SOUZA et al., 2010; MANJA; AOUN, 2019; RIO GRANDE DO SUL, 2019).

Com respeito as tangerinas, o Brasil ocupa a quinta posição no cenário mundial e o Rio Grande do Sul é o quarto estado brasileiro que mais produz a fruta, detendo, juntamente com os estados São Paulo, Minas Gerais e Paraná, 85% da produção nacional (RIO GRANDE DO SUL, 2019).

Devido as boas características agrônômicas e excelente aceitação comercial dos frutos, o tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*) é o híbrido que mais se destaca dentre as tangerinas, ocupando cada vez mais espaço em áreas de cultivo destinadas a citros (ROSSETTI, 2001; MATTOS JUNIOR et al., 2004; CHIEN et al., 2007).

De acordo com Efrom e Souza (2018), o estado do Rio Grande do Sul possui condições de clima e solo que favorecem o desenvolvimento das plantas cítricas, proporcionando frutos com elevadas qualidades de cor e sabor.

Ainda que a maioria das espécies cítricas apresentem certa tolerância a situações de temperaturas mais baixas, condições de frio mais intensas podem prejudicar o seu desenvolvimento. Esta peculiaridade faz com que produtores da região sul do Brasil tenham preferência por mudas cítricas formadas com o porta-enxerto *Poncirus trifoliata*, o qual tem a capacidade de conferir maior tolerância ao frio nas cultivares copa nele enxertadas (SCHÄFER; DORNELLES, 2000; PASSOS et al., 2005; KOLLER, 2013).

A constante busca por produtividades mais elevadas e maior retorno financeiro tornou a cadeia produtiva dos citros altamente dependente do uso de fertilizantes sintéticos e agrotóxicos. Estes insumos agrícolas quando utilizados de forma excessiva impactam negativamente o meio ambiente, diminuem o retorno financeiro do citricultor e aumentam a dependência por recursos externos à unidade produtiva.

Dentre as alternativas existentes para melhorar o desenvolvimento dos cultivos agrícolas de forma mais sustentável tem-se os chamados Microrganismos Eficientes (EM) (HIGA, 2000; ANDRADE et al., 2011). Esta tecnologia já vem sendo amplamente difundida entre produtores agroecológicos e orgânicos, demonstrando ser uma importante aliada para os cultivos agrícolas como um todo, promovendo a aceleração da decomposição da matéria orgânica presente no solo e a adequada liberação de nutrientes e demais substâncias benéficas para o crescimento e a sanidade das plantas (DA SILVA PUGAS et al., 2013).

Segundo Rahimian e Zabihi (2020), parte dos microrganismos que compõem o EM possuem grande capacidade de reduzir rapidamente as moléculas mais complexas da matéria orgânica presente no solo, procedimento este que, de acordo com Geyer et al (2016), em certas situações e dependendo da eficiência do uso do carbono por estas comunidades microbianas, pode se constituir em fator crítico para a dinâmica e permanência da matéria orgânica no solo.

A principal forma para se adquirir preparados a base de EM é através da tecnologia caseira. Segundo Andrade et al (2011), o uso desta tecnologia apresenta como principais benefícios a obtenção de inóculos mais adaptados às condições locais, facilidade de obtenção e baixo custo.

No Brasil também existem empresas que comercializam soluções prontas contendo EM, dentre elas a empresa “AMBIEM do Brasil”, que comercializa o “EM1® Microrganismos Eficazes”, com formulação de propriedade do primeiro pesquisador a estudar estes microrganismos, Dr. Teruo Higa, professor da Universidade de Ryukyus no Japão.

Visando contribuir para tornar o setor citrícola mais sustentável do ponto de vista econômico, social e ambiental, o presente trabalho tem como principal objetivo verificar os efeitos do uso de microrganismos eficientes nativos (EMN) e do produto comercial EM1® na formação de mudas do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* e no desenvolvimento de plantas jovens de laranja da variedade Valência (*Citrus sinensis*) e do híbrido tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*).

Tendo em vista que em culturas perenes como os citros o correto manejo da cobertura vegetal nas entrelinhas de cultivo é algo indispensável e que os preparados a base de EM tem ação direta sobre a matéria orgânica presente no solo, objetivou-se também verificar a influência dos inoculantes EMN e EM1® na persistência das colunas de palha de aveia e pousio quando associados aos cultivos da laranja Valência e do Tangor Murcott.

A apresentação deste trabalho encontra-se na seguinte ordem: objetivos gerais e específicos; capítulo 1 (Referencial teórico); capítulo 2 (Efeitos do uso de microrganismos eficientes na formação de mudas do porta-enxerto *Poncirus trifoliata*); capítulo 3 (Efeitos do uso de microrganismos eficientes em plantas jovens da laranja Valência (*Citrus sinensis*) e tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*); e referências bibliográficas.

OBJETIVOS

Geral

Avaliar os efeitos do uso de microrganismos eficientes nativos (EMN) e do produto comercial EM1® na formação de mudas do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* e no desenvolvimento de plantas jovens de laranja Valência (*Citrus sinensis*) e tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*).

Específicos

Verificar os efeitos do uso de microrganismos eficientes nativos (EMN) e do produto comercial EM1® no desenvolvimento radicular e aéreo do porta-enxerto *Poncirus trifoliata*.

Comparar a diversidade microbiana entre o inoculante microrganismos eficientes nativos (EMN) e o produto comercial EM1®.

Verificar os efeitos do uso de microrganismos eficientes nativos (EMN) e do produto comercial EM1® no desenvolvimento radicular e aéreo de plantas jovens da laranja variedade Valência (*Citrus sinensis*) e do híbrido tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*).

Verificar a influência do uso de microrganismos eficientes nativos (EMN) e do produto comercial EM1® na persistência das colunas de palha de aveia (*Avena sativa*) e pousio (vegetação espontânea), quando associados com as culturas da laranja variedade Valência (*Citrus sinensis*) e do híbrido tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*).

Contribuir para a validação de tecnologias voltadas para a citricultura orgânica e agroecológica.

CAPÍTULO 1

REFERENCIAL TEÓRICO

Poncirus trifoliata

Conhecido por conferir significativa tolerância ao frio nas cultivares copa nele enxertadas, o *Poncirus trifoliata* predomina como porta-enxerto nos pomares citrícolas da região sul do Brasil (FUNDECITRUS, 2006; DE OLIVEIRA, 2008). Espécie originária da China e adaptada a climas frios, caracteriza-se também por apresentar períodos de dormência quando submetido a longos períodos de baixas temperaturas (HODGSON, 1967; BASTOS et al., 2014).

Como consequência deste repouso em situações de frio, o *P. trifoliata* consegue transferir as variedades copa nele empregadas uma maior tolerância a baixas temperaturas, uma vez que ao entrar em estado dormência a atividade fisiológica da copa é significativamente reduzida (KOLLER, 2013).

Embora trate-se de um gênero botânico diferente do *Citrus*, as cultivares e híbridos do gênero *Poncirus* têm demonstrado ao longo do tempo serem ótimos porta-enxertos para as mais diferentes espécies e variedades de citros, induzindo nas cultivares copa nele enxertadas significativa resistência à gomose e nematoides (MATTOS JUNIOR et al., 2005b; KOLLER, 2013).

Outra importante característica dos porta-enxertos do gênero *Poncirus* é o efeito nanicante que estes podem expressar nas cultivares copa, manifestando, de acordo com as condições edafoclimáticas, da variedade copa e do uso da irrigação, uma menor intensidade no vigor das plantas se comparado com outros porta-enxertos, facilitando assim os trabalhos de colheita e a realização dos tratos culturais (POMPEU JUNIOR, 2005).

A planta do *P. trifoliata* apresenta frutos pequenos, com tamanho variando entre 50 a 60 gramas, formato arredondado e casca grossa e rugosa, a fruta contém pouca quantidade de suco e muitas sementes poliembriônicas, em média 50, as quais perdem rapidamente o poder germinativo se armazenadas em condições normais de ambiente (KOLLER et al., 1993). A maturação dos frutos ocorre de fevereiro a maio (OLIVEIRA et al., 2001).

Em decorrência da formação basáltica, uma das principais características dos solos da região norte do Rio Grande do Sul é a grande presença de elevados teores de argila (SACHETTI et al 2014). Tal característica favorece o uso do *P. trifoliata* como porta-enxerto na região, pois de acordo com Mattos Junior et al (2005a), a melhor performance das variedades copa enxertadas sobre o *P. trifoliata* é percebida justamente quando cultivadas em solos argilosos.

Segundo Oliveira et al (2001), quando se trata de produção de mudas em viveiros, o *P. trifoliata* costuma apresentar um desenvolvimento mais lento se comparado com os demais porta-enxertos frequentemente utilizados, o que faz com que a produção de mudas utilizando-se este porta-enxerto seja um pouco mais demorada.

No Estado do Rio Grande do Sul, a legislação permite a produção de mudas de citros tanto a céu aberto quanto em viveiros protegidos (CESM, 1998). Todavia, a Instrução Normativa N° 48, de 24 de setembro de 2013 (MAPA, 2015), proíbe a produção das mudas com o uso de solo, fato que desestimula produtores a adotarem o sistema de produção a céu aberto (DE OLIVEIRA et al., 2017).

Assim sendo, o sistema de produção de mudas cítricas mais difundido é o que desenvolve todas as etapas em ambiente protegido (DE OLIVEIRA et al., 2016). Neste modelo, os porta-enxertos são inicialmente semeados e cultivados em tubetes cônicos com capacidade mínima individual de 50cm³, permanecendo neste até apresentarem desenvolvimento radicular suficiente para manter a forma de torrão ao serem removidos do tubete, momento o qual são transplantados para recipientes de polietileno maiores, vasos ou sacos para mudas, os quais deverão possuir dimensões mínimas de 12 cm de largura por 30 cm de altura, permanecendo nestes até o plantio definitivo das mudas a campo (DE OLIVEIRA; SCIVITTARO, 2003; SEAPA/RS, 2004; DE OLIVEIRA et al., 2016).

O substrato utilizado para o cultivo dos porta-enxertos deve possuir características químicas e físicas adequadas, com especial atenção para o pH, a capacidade de troca de cátions, a densidade de volume e o espaço de aeração e retenção de água a baixas tensões de umidade, de modo a possibilitar um perfeito desenvolvimento radicular e vegetativo das plantas (FOCHESATO et al., 2007). É muito importante também que as mudas sejam produzidas em substratos livres de sementes e propágulos de plantas daninhas, bem como de patógenos de solo, buscando desta forma evitar, dentre outros, a disseminação de moléstias como a gomose e os nematoides (DE OLIVEIRA; SCIVITTARO, 2003; BOAVENTURA et al., 2004).

Embora também já se utilize em ensaios de pesquisa a propagação de porta-enxertos para citros por meio da estaquia, alporquia e micropropagação, a principal forma de obtenção ainda é através do plantio das sementes (DE OLIVEIRA et al., 2016). Segundo Pompeu Junior (2005), é preciso ficar atento quanto ao uso de mudas provenientes de propagação por estaquia, pois este sistema origina plantas mais suscetíveis a estiagens e ao tombamento, devido ao fato de não possuírem sistema radicular com raízes pivotantes.

Outra vantagem da propagação de porta-enxertos por sementes, via embriões nucelares, é a obtenção de mudas livres de vírus (SPIEGEL-ROY; KOCHBA, 1980). Segundo Carvalho et al (2005), isto se deve ao fato de que na semente não há formação de vasos condutores em quantidade suficiente para a translocação de patógenos para os embriões nucelares, o que naturalmente elimina a transmissão de viroses e bacterioses.

No geral, as sementes das espécies utilizadas como porta-enxerto na citricultura, dentre elas as do gênero *Citrus* (L.), *Poncirus* (Raf.) e *Fortunella* (Swing.), são poliembriônicas, ou seja, possuem dois ou mais embriões (KOLLER, 1994; SILVA, 2002). Nestas, geralmente um embrião é resultado de fecundação (zigótico) e os outros decorrem de divisões mitóticas de células somáticas do núcleo (nucelares), sem redução cromossômica e sem fecundação (FROST; SOOST, 1968; KOLTUNOW, 1993).

Afim de manter maior uniformidade dos porta-enxertos, com plântulas com características idênticas as da planta matriz, as mudas de porta-enxertos propagadas por sementes deverão ser oriundas de embrião nucelar (CESM, 1998; SILVA; SOUZA, 2002).

Nos viveiros, a identificação das plântulas originadas de embriões nucelares ocorre de forma visual, uma vez que estas apresentam maior vigor quando comparadas com as resultantes de embriões fecundados, as quais raramente desenvolvem-se adequadamente (KOLLER, 1994).

Quando a semeadura de porta-enxertos ocorrer diretamente em tubetes, deve-se colocar em cada tubete três sementes para germinar, eliminando-se após 30 a 40 dias duas plântulas, deixando somente uma, a mais vigorosa, proveniente de embrião nucelar, a qual deve ser conduzida eliminando-se os ramos laterais, permitindo o desenvolvimento de uma única haste ereta (CESM, 1998; SILVA; SOUZA, 2002).

Conduzindo-se as plantas de maneira adequada, os porta-enxertos estarão aptos para serem enxertados a partir do quinto mês após a germinação, apresentando diâmetro de caule entre 0,6 a 1 cm no espaço compreendido de 10 a 20 cm de altura a partir do colo da planta (SILVA; SOUZA, 2002; EFROM; SOUZA, 2018).

Laranja Valência

Originária de Portugal, com surgimento datando do século XIX, a laranja da variedade Valência [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] é uma laranja doce do grupo comum, decorrente da seleção de mutações espontâneas que teve como resultando uma planta vigorosa, com copa grande e formato elipsoidal, tendência de crescimento vertical, ramos que costumam apresentar pequenos espinhos nas brotações mais vigorosas e folhas com pecíolo alado e formato elíptico (DE OLIVEIRA et al., 2007).

Na Região Sul do Brasil, a maturação dos frutos da laranjeira Valência ocorre de setembro a fevereiro, os frutos apresentam tamanho mediano com peso em torno de 170 gramas, com o endocarpo contendo grande quantidade de suco, poucas sementes (2 a 4 por fruto) e sabor agradável, a casca é lisa e de espessura média, com coloração laranja intensa (LEDO et al., 1997; DE OLIVEIRA et al., 2007). A fruta se destaca pela alta resistência ao manuseio e transporte, assim como pelo elevado rendimento de suco, característica importante quando se deseja a industrialização (BORGES; PIO, 2003).

De acordo com Wang et al (2019), os açúcares e os ácidos orgânicos são os principais componentes do suco das frutas cítricas e suas concentrações afetam em grande parte as características de sabor e qualidade. Segundo Schafer e Dornelles (2000), o estado do Rio Grande do Sul possui condições climáticas favoráveis à cultivar Valência, propiciando o desenvolvimento de frutos com características físico-químicas adequadas principalmente para o consumo *in natura*.

Tangor Murcott

Introduzido no Brasil pelo Instituto Agrônomo (IAC) em 1948, a variedade Tangor Murcott é um híbrido resultante do cruzamento entre a tangerina e a laranja (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* Osbeck) (FIGUEIREDO, 1991; MATTOS JUNIOR et al., 2005a). O nome do híbrido deve-se a Charles Murcott Smith, viveirista que obteve as primeiras plantas enxertadas em 1922, na Flórida, EUA. (FIGUEIREDO, 1991).

O tangor Murcott tem como principais características ser uma planta de porte médio e copa ereta, com produtividade anual de frutos por planta que pode atingir até 200 kg (MATTOS JUNIOR et al., 2005a). Com alto valor comercial no mercado nacional e internacional de frutas, o tangor Murcott caracteriza-se por seus frutos achatados, com peso médio em torno de 140 gramas, casca fina e aderente, contendo muitas sementes e suco

alaranjado com sabor doce, podendo ser consumido *in natura* ou utilizado para o preparo de sucos (FIGUEIREDO, 1991; ROSSETTI, 2001; CHIEN et al., 2007).

No Rio Grande do Sul, a maturação dos frutos ocorre a partir de julho e a colheita pode estender-se até agosto, uma vez que os frutos maduros podem ser mantidos nas plantas por várias semanas sem que ocorram perdas significativas de qualidade (DE OLIVEIRA, 2009).

Outra importante característica do híbrido Murcott é a alta capacidade de fixação natural dos frutos, fazendo com que frequentemente a planta apresente anos de altas produções e consequente alternância de produção, podendo, em anos de alta produtividade e não ocorrência de raleio dos frutos, ocorrer a morte das plantas, devido ao esgotamento dos carboidratos, evento conhecido como “colapso da Murcott” (SERCILOTO et al., 2003; KOLLER, 2013).

Microrganismos Eficientes (EM)

Historicamente, diversas práticas e produtos têm sido estudados para fortalecer a microbiologia do solo e beneficiar as plantas (Higa, 2000). Dentre as pesquisas realizadas na área destaca-se a realizada no ano 1970 pelo professor Dr. Teruo Higa, da Universidade de Ryukyus no Japão, a qual resultou na seleção e multiplicação de um conjunto de microrganismos denominados de Microrganismos Eficientes (EM) (PEGORER et al., 1995).

Em síntese, este conjunto de microrganismos constitui-se de uma cultura mista de microrganismos benéficos de ocorrência natural nos solos, contemplando espécies de bactérias fotossintéticas, lactobacilos, leveduras e actinomicetos (HIGA e PARR, 1994; HUSSAIN et al 1999; SHINGO; VENTURA, 2009).

Singh et al (2011) descrevem que os preparados a base de EM podem conter rizobactérias promotoras de crescimento em plantas, cianobactérias capazes de fixar nitrogênio e bactérias supressoras de doenças fúngicas.

De acordo com Siqueira e Siqueira (2013), os quatro principais grupos de microrganismos que compõem o EM são:

- a) Leveduras (ex: *Sacharomyces* sp): utilizadas principalmente na fermentação de matérias primas para a produção de bebidas e alimentos, atuando no solo na síntese de vitaminas e demais substâncias que ativam e desenvolvem ambiente propício a outros microrganismos do solo. Também produzem substâncias bioativas, como hormônios e enzimas que atuam como promotores de crescimento nas raízes.

- b) Bactérias fotossintéticas (ex: *Rhodopseudomonas palustres*): utilizam a luz solar e as substâncias liberadas pelas raízes para realizar a síntese de nutrientes, favorecendo o crescimento das plantas e aumentando as populações microbianas benéficas do solo, inclusive bactérias fixadoras de nitrogênio, actinomicetos e micorrizas.
- c) Actinomicetos (ex: *Actinomyces sp*, *Streptomyces sp.*): utilizam os aminoácidos liberados pelas bactérias fotossintéticas e produzem substâncias que atuam no controle de fungos e bactérias patogênicas. Também geram substâncias úteis para as bactérias fixadoras de nitrogênio e as micorrizas.
- d) Bactérias produtoras de ácido láctico (ex: *Lactobacillus sp.*, *Pediococcus sp*): Utilizadas na indústria alimentícia para a produção de iogurtes, vinagres e picles. Em solos agrícolas transformam os açúcares liberados pelas raízes das plantas e por bactérias fotossintéticas em ácidos orgânicos que controlam determinados microrganismos patogênicos, dentre eles o do gênero *Fusarium*. Possuem a capacidade de solubilizar a matéria orgânica de difícil decomposição como a lignina e a celulose, eliminando os efeitos nocivos da matéria orgânica não decomposta.

Segundo Higa (2000), a aplicação de EM em culturas agrícolas traz como benefícios o aumento da fotossíntese nas plantas e uma maior disponibilidade de nutrientes no solo. A aceleração do processo de decomposição de materiais lignificados no solo e a produção de substâncias bioativas como hormônios e enzimas que atuam no controle de patógenos transmitidos pelo solo também são outros efeitos desejáveis provocados pelo EM (HUSSAIN et al 1999).

De acordo com Ney et al (2018), produzir e usar EM derivado de captura local é prática comum principalmente entre produtores orgânicos e agroecológicos da América Central, América do Sul e Sudeste da Ásia.

A obtenção de EM pode ser feita através da aquisição de preparados comerciais disponíveis para venda ou através da tecnologia caseira (JAVAID; BAJWA, 2011). O uso da tecnologia caseira permite a produção de EM pelo próprio produtor rural, sendo mais vantajosa tanto pelo fato de fornecer microrganismos adaptados as condições locais quanto pelo baixo custo (GUIA, 2018).

Segundo Andrade et al (2011), sempre que houver captura de EM para a obtenção de preparados microbianos por meio da tecnologia caseira, esta deverá ocorrer em local de mata, em solo saudável e próximo da unidade agrícola de produção, visando otimizar ao máximo a inoculação nas áreas de cultivo com microrganismos adaptados à região.

No Brasil, existem inúmeros autores que abordam o assunto dos EM, dissertando a respeito de técnicas de captura e multiplicação, com destaque para Leite e Meira (2017), os quais trazem sua metodologia de captura e multiplicação publicada na “Ficha Agroecológica Número 31” e o modo de uso na “Ficha Agroecológica Número 32”, ambas dispostas no site do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Segundo Leite e Meira (2017), o procedimento para captura de EM consiste em cozinhar aproximadamente 700 gramas de arroz sem sal, espalhar o arroz cozido em uma bandeja ou em pedaços de bambu cortados ao meio, cobrindo com uma tela fina, em seguida, na mata, afasta-se a serrapilheira do solo, fazendo-se um espaço para colocar a bandeja ou o bambu, cobrindo-se com a própria serrapilheira, aguardando 15 dias a fim de permitir a colonização dos microrganismos no substrato.

Ainda segundo os supracitados autores, as partes do arroz que ficarem com as colorações rosa, azul, amarelo e laranja contém EM (regeneradores), as partes com coloração escura, cinza, marrom e preto devem ser descartadas na própria mata.

Afim de multiplicar os microrganismos capturados, Leite e Meira (2017) recomendam distribuir o arroz colorido (colonizado) obtido do processo de captura em 5 garrafas PET de 2 litros, adicionando em cada garrafa 100 ml de melão de cana ou 40g de açúcar mascavo, completando o volume com água sem cloro e em seguida fechando-se as garrafas deixando-as em um local à sombra. Os autores ainda recomendam abrir as garrafas a cada dois dias para retirar o gás proveniente da fermentação, apertando a garrafa pelos lados de modo a retirar o ar do interior, uma vez que a fermentação deve ser anaeróbica. Esse processo deve ser realizado até não saírem mais gases das garrafas, 10 a 20 dias, quando então os microrganismos estarão estabilizados.

Segundo Andrade et al (2011), depois de multiplicado e estabilizado, o EM pode ser armazenado por até 1 ano, tendo como principais características coloração alaranjada, que pode variar de mais clara a mais escura, e cheiro agridoce. Ainda segundo Andrade et al (2011), caso o produto apresente odor desagradável este deve ser descartado. Outro importante sinal de sucesso no processo de multiplicação do EM é quando aparecerem pequenos flocos de levedura da cor branca na superfície do líquido (MARTINEZ et al., 2014).

De acordo com Zhong et al (2018), é muito importante atentar para o fato de que os produtos concentrados a base de EM geralmente encontram-se estabilizados, fazendo com que seja preciso ativá-los antes do uso. A ativação do EM para uso em caldas de aplicação é

feita previamente a utilização, misturando-se, em um recipiente com tampa, 500 ml de EM (estabilizados), 500 ml de melação de cana de açúcar (ou 1 kg de açúcar mascavo) e água sem cloro até alcançar 10 litros, mantendo a mistura em um recipiente expansível e estanque ao ar por tempo médio de 5 dias, liberando-se os gases uma vez por dia (ANDRADE et al., 2011; LEITE; MEIRA, 2017). De modo a não contaminar a solução com microrganismos não desejados, Martinez et al (2014) recomendam que além de desprovida de cloro a água utilizada também seja fervida e depois resfriada antes do uso.

A aplicação do EM nos cultivos agrícolas pode dar-se pulverizando a parte aérea das plantas e/ou o solo (ANDRADE et al., 2011). As plantas de qualquer idade podem ser pulverizadas quinzenalmente, molhando-as até o ponto de escorrimento, o solo poderá receber de 4 a 8 aplicações de 100 a 200 litros/ha/ano, de acordo com a necessidade (LEITE; MEIRA, 2017).

Apesar de haverem vários estudos demonstrando que inocular EM no solo melhora a qualidade e a fertilidade do solo, auxiliando no crescimento e produção de cultivos agrícolas, é importante ter em mente que os resultados do uso de EM podem depender de vários fatores, dentre eles os cultivos agrícolas em questão, os sistemas de produção adotados, a escala de produção, a densidade de plantio, a origem dos microrganismos e as doses de aplicação (MARTINEZ et al., 2014).

Estudos realizados por Zydlik e Zydlik (2008) e Filipp (2009) utilizando preparados a base de EM porta-enxertos para macieiras M9, via aplicação foliar e no solo do entorno das plantas, identificaram que as plantas tratadas apresentaram incrementos no volume do sistema radicular e no crescimento aéreo das plantas.

Martinez et al (2014) ao pesquisarem o uso de Microrganismos de Montanha (MM), - produto equivalente ao EM - provenientes de três sistemas agroecológicos (café, pastagem e floresta natural) e o produto comercial EM1®, direcionados para a produção de acelga (*Beta vulgaris* var.), obtiveram como melhores resultados o uso de microrganismos capturados em sistemas de café e pastagem. O estudo concluiu ainda que os microrganismos nativos apresentaram maior eficácia que o produto comercial e a análise do solo revelou que a aplicação dos microrganismos nativos oriundos dos sistemas agroecológicos trouxe melhoras nos índices de pH, teor de nitrogênio (N) e potássio (K).

Javaid e Bajwa (2011) testaram o uso de EM em feijão-mungo [*Vigna radiata* (L.) Wilczek], variedade NIAB Mung 98, identificando melhoras nos índices de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) nos tratamentos associados com estrume no estágio de floração e

maturação, além de incremento no desenvolvimento vegetativo das plantas quando associado com adubação do tipo NPK.

Em contrapartida, em experimentos realizados em cultivos orgânicos de batata (*Solanum tuberosum*, cv. Appell), alfafa (*Medicago sativa*, cv. Sandit) e trigo (*Triticum aestivum*, cv. Titlis), durante os anos de 2003 e 2006 em Zurique, na Suíça, Mayer et al (2010) utilizaram tratamentos contendo EM na forma de *Bokashi*. Os tratamentos utilizados pelos autores foram *Bokashi* com EM vivo, *Bokashi* esterilizado e controle. Neste estudo, os pesquisadores observaram apenas pequenas diferenças nos tratamentos, concluindo que os efeitos observados não foram causados pelo EM, mas sim pelos nutrientes fornecidos pelo *Bokashi*, constatando que durante os 4 anos de aplicação, em experimento de campo sob as condições climáticas temperadas da região central da Europa, o uso de microrganismos eficientes não trouxe incrementos na produtividade e na qualidade do solo.

Para Pineda et al (2013), deve-se ter em mente que as interações entre plantas e micróbios “benéficos” podem variar ao longo de um determinado período, podendo inclusive transitar de momentos de mutualismo ao parasitismo, trazendo efeitos positivos ou negativos no crescimento das plantas, dependendo da situação.

Interação entre microrganismos e matéria orgânica presentes no solo

Uma das principais preocupações por parte de produtores e técnicos envolvidos na produção agrícola é a manutenção do solo das unidades produtivas protegida com cobertura vegetal (CRUSCIOL et al., 2005). A presença de resíduos vegetais sobre a superfície do solo é um importante mecanismo de diminuição do efeito erosivo da água, por meio do amortecimento do impacto das gotas de chuva e consequente diminuição das perdas de solo e nutrientes (DERPSCH; CALEGARI, 1992).

Em culturas perenes como os citros, o correto manejo da cobertura vegetal nas entrelinhas de cultivo é algo indispensável para a obtenção de altas produtividades (DE LUCENA et al., 2017). A prática mais, comum adotada por citricultores para o manejo da vegetação existente nas entrelinhas, consiste na realização de roçadas com implementos agrícolas projetados para lançar a biomassa na área da projeção da copa dos citros, com o objetivo de que esta cobertura morta beneficie as plantas com a diminuição do surgimento de plantas espontâneas, com a redução das perdas de água do solo por evaporação e também para que aumente o teor de matéria orgânica no solo junto a área de absorção das raízes (MATHEIS et al., 2020).

A manutenção de cobertura vegetal também protege as áreas de cultivo da incidência direta de radiação solar, atenuando as oscilações de temperatura no solo, evitando prejuízos para a atividade biológica (GASSEN; GASSEN, 1996).

Segundo Fávero et al (2001), como consequência dos efeitos alelopáticos e dependendo das espécies envolvidas, mesmo que em pequenas quantidades, os restos vegetais também podem causar um significativo efeito supressivo na germinação e desenvolvimento das plantas espontâneas.

De acordo com Ferreira et al (1999), o processo de decomposição dos resíduos vegetais dispostos no solo pode ser dividido em duas etapas: a primeira envolvendo microrganismos diversos na degradação de compostos mais facilmente assimiláveis como açúcares, proteínas e amidos; e a segunda envolvendo actinomicetos e fungos que atuam em compostos mais recalcitrantes, como a lignina.

A palha presente na superfície do solo também pode constituir-se em importante mecanismo de acúmulo e liberação de nutrientes (CALONEGO et al., 2012). A liberação destes nutrientes para as plantas dependerá da ação de microrganismos, os quais também produzirão compostos orgânicos secundários, que juntamente com a massa microbiana passarão a compor a matéria orgânica do solo (VEZZANI, 2001).

De acordo com Alcântara et al (2000), a velocidade de liberação e a quantidade de nutrientes que estarão envolvidos dependerá da espécie vegetal, da época de plantio e corte, do manejo adotado, da influência exercida pelos fatores climáticos, da composição química da palhada e, principalmente, da atividade biológica e do tempo de permanência dos resíduos no solo.

Ainda que determinadas práticas de manejo dos resíduos vegetais sobre o solo sejam utilizadas para acelerar a sua decomposição e antecipar a liberação de nutrientes minerais para as culturas em crescimento, De Oliveira et al (2002) ressaltam que, em determinadas circunstâncias, o mais desejável é adotar procedimentos que diminuam a taxa de decomposição, afim de prolongar a vida útil da cobertura protetora sobre o solo, de modo que o tempo de decomposição se estenda pelo período necessário para a proteção do solo contra agentes erosivos até o momento do estabelecimento da cultura subsequente.

Para Bertol et al (1998), quando se busca a máxima otimização do uso das palhadas presentes no solo, conhecer o comportamento dos fatores que influenciam na decomposição da cobertura vegetal com as quais se trabalha constitui-se em fator determinante para o

planejamento e tomada de decisões voltadas para a melhor produção e sustentabilidade das unidades produtivas.

Considerações gerais

Embora o setor citrícola brasileiro demonstre estar bastante consolidado tecnologicamente, acredita-se haver ainda uma lacuna a ser preenchida com estudos envolvendo a introdução de práticas voltadas para o uso de microrganismos de interesse nas unidades de cultivo.

Considerando os promissores resultados abrangendo estudos com o uso de microrganismos eficientes (EM) nas mais diversas culturas agrícolas e nas mais diferentes parte do mundo, principalmente entre produtores agroecológicos e orgânicos, pressupõem-se que pesquisas abrangendo o uso deste grupo de microrganismos em cultivos cítricos podem resultar em importantes avanços, tornando a cadeia produtiva dos citros mais sustentável.

CAPÍTULO 2

EFEITOS DO USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES NA FORMAÇÃO DE MUDAS DO PORTA-ENXERTO *Poncirus trifoliata*

RESUMO

Dentre os porta-enxertos mais utilizados para a obtenção de mudas cítricas destinadas a região sul do Brasil encontra-se o *Poncirus trifoliata*. A preferência por mudas formadas a partir deste porta-enxerto decorre principalmente da significativa tolerância ao frio que este pode conferir as cultivares copa nele enxertadas. Além da tolerância ao frio, quando cultivado em ambiente protegido, o *P. trifoliata* também se caracteriza por apresentar taxa de crescimento menor do que os demais porta-enxertos frequentemente utilizados para citros, aumentando o tempo necessário para a formação das mudas. Dentre as tecnologias existentes para acelerar o desenvolvimento das plantas em geral encontra-se o uso dos denominados Microrganismos Eficientes (EM). Estudos apontam que a inoculação destes microrganismos pode trazer inúmeros benefícios para a qualidade dos substratos de cultivo, favorecendo o crescimento das plantas. O presente trabalho tem como objetivo comparar a diversidade microbiana e avaliar os efeitos dos inoculantes Microrganismos Eficientes Nativos (EMN) e produto comercial EM1® no desenvolvimento radicular e aéreo de mudas do porta-enxerto *P. trifoliata*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus localizado na cidade de Erechim, RS – Brasil. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualidade (DIC), com três repetições por tratamento e doze plantas por unidade experimental. Foram realizadas aplicações mensais de microrganismos eficientes ativados na dosagem de 16,65 l/ha. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste Tukey. O inoculante a base de microrganismos eficientes oriundos da tecnologia caseira de captura e multiplicação, microrganismos eficientes nativos (EMN), apresentou maior diversidade microbiana em comparação ao produto comercial EM1®. O produto comercial EM1® causou aumento no crescimento das raízes de primeira ordem do porta-enxerto *Poncirus trifoliata*. Ambos os inoculantes testados incrementaram o diâmetro do caule do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* na altura do ponto de enxertia.

PALAVRAS-CHAVE: Citros; inoculante; cultivo orgânico; mudas cítricas.

ABSTRACT

Among the rootstocks most used to obtain citrus seedlings for the southern region of Brazil is *Poncirus trifoliata*. The preference for seedlings obtained from this rootstock is due mainly from the significant tolerance to cold that it can give to the canopy cultivars grafted onto it. In addition to cold tolerance, when grown in a protected environment, the *P. trifoliata* is also characterized by presenting a lower growth rate than the other rootstocks often used for citrus, increasing the time required for seedling formation. Among the technologies to accelerate the development of plants is the use of the so-called Efficient Microorganisms (EM). Studies have indicated that the inoculation of these microorganisms can bring numerous benefits for the quality of the substrates of cultivation, benefiting the growth of the plants. The present work aims to compare microbial diversity and evaluate the effects of the inoculants Native Efficient Microorganisms (EMN) and commercial product EM1® on the root system and the aerial part of seedlings of the rootstock *P. trifoliata*. The experiment was carried out in a greenhouse, at the Federal University of Fronteira Sul, Campus located in the city of Erechim, RS - Brazil. The experimental design used was completely randomized (DIC), with three replications per treatment and twelve plants per experimental unit. Monthly applications of efficient microorganisms activated at a dosage of 16.65 l/ha were carried out. The data obtained were submitted to analysis of variance by the F test and the means were compared by the Tukey test. The inoculant based on efficient microorganisms from the home technology of capture and multiplication, native efficient microorganisms (EMN) showed greater microbial diversity compared to the commercial product EM1®. The commercial product EM1® increased the growth of the first order roots of the *P. trifoliata* rootstock. Both inoculants tested increased the stem diameter of the *P.trifoliata* rootstock at the level of grafting point.

KEYWORDS: Citrus; inoculant; organic cultivation; citrus seedlings.

INTRODUÇÃO

Caracterizado por plantas de porte baixo, com folhas trifoliadas, pecíolo alado e significativa tolerância ao frio, o *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. é um dos porta-enxertos mais utilizados para a produção de mudas cítricas destinadas a região sul do Brasil (SCHAFER; DORNELLES, 2000; PASSOS et al., 2005; POMPEU JUNIOR, 2005).

Durante o processo de produção de mudas cítricas, a etapa de formação do porta-enxerto é considerada a que mais apresenta demanda de tempo, sendo o *P. trifoliata* uma espécie que, sobretudo, costuma apresentar desenvolvimento mais lento quando comparado com outros porta-enxertos frequentemente utilizados (OLIVEIRA et al., 2006; GIULIANI, 2012).

Afim de atender as condições de sanidade e qualidade para mudas cítricas estabelecidas pela legislação vigente, todo o processo de formação das mudas ocorre em ambiente protegido (casas de vegetação), prática esta que segundo Giassi et al (2016) pode facilitar a inoculação de microrganismos de interesse no meio de crescimento.

Dentre os principais microrganismos utilizados para incrementar o desenvolvimento em plantas estão os denominados de Microrganismos Eficientes (EM) (JAVOID; BAJWA, 2011). Este grupo de microrganismos tem demonstrado ser um importante aliado para uma produção agrícola mais sustentável, estando o seu uso já consolidado entre produtores de alimentos orgânicos e agroecológicos.

A obtenção de preparados a base de EM pode ocorrer por meio da aquisição de formulados comerciais disponíveis para venda ou serem produzidos com certa facilidade e baixo custo pelo próprio produtor rural (GUIA, 2018).

Dentre os trabalhos já realizados envolvendo a utilização de EM em plantas cítricas podemos citar: Tokeshi e Chagas (1997) que identificaram benefícios do uso de EM na germinação, emergência, vigor e sobrevivência de plântulas de citros; Paschoal et al (1993) os quais constataram incremento de 8% na quantidade de suco dos frutos de laranja tratados com EM; e Kupper et al (2013), os quais perceberam que a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, microrganismo integrante do grupo do EM, é eficaz no controle do bolor verde dos citros causado pelo agente *Penicillium digitatum*.

Considerando a relativa escassez de estudos envolvendo o uso de EM na produção de mudas cítricas, o presente trabalho tem como objetivo comparar a diversidade microbiana

e avaliar os efeitos dos inoculantes Microrganismos Eficientes Nativos (EMN) e produto comercial EM1® no desenvolvimento radicular e aéreo de mudas do porta-enxerto *Poncirus trifoliata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, nas dependências da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim – RS, Brasil (27° 43' 37,97" S - 52° 17' 16,23" O). O município de Erechim localiza-se na região norte do Rio Grande do Sul, a uma altitude média de 783 metros, em zona temperada, com clima subtropical úmido e chuvas bem distribuídas ao longo do ano todo, com verões quentes e invernos frios (AYOADE, 2010; WREGEMS et al., 2013).

Plantio, manejo das mudas e arranjo experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com 3 (três) tratamentos, 3 (três) repetições por tratamento e 12 (doze) plantas por unidade experimental. Os tratamentos utilizados foram o produto comercial EM1®, microrganismos eficientes nativos (EMN) e controle (C).

O plantio das sementes do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* (L.) Raf ocorreu no dia 09 de agosto de 2019, em tubetes cônicos de polietileno preto, com capacidade de 150 cm³, vazados na parte basal e dispostos em bandejas também de polietileno (APÊNDICE A).

Para o preenchimento dos tubetes utilizou-se substrato comercial Rendimax e vermiculita expandida (Bioplant®) na proporção de 1:1, adicionando-se na mistura o fertilizante de liberação lenta da marca Basacote Plus 3M, na dosagem de 3 kg/m³, conforme recomendação do fabricante.

Conforme o recomendado por Schafer et al (2008), de modo a garantir uma melhor seleção das plântulas e garantir uniformidade, foram cultivados duas vezes mais plantas do que o necessário na fase de tubetes. Assim sendo, utilizou-se 24 tubetes por unidade experimental, cada um semeado com três sementes na profundidade aproximada de 2 cm, seguindo o sugerido por De Oliveira e Scivittaro (2003). Aos 52 dias após a semeadura

(DAS) foi realizado o desbaste das plântulas, deixando somente uma por tubete, proveniente de embrião nucelar. A etapa em que as plantas se desenvolveram nos tubetes compreendeu o período desde a semeadura até o 96 DAS.

Para a segunda fase, a qual compreendeu dos 97 aos 217 DAS, dos 24 tubetes por unidade experimental inicialmente semeados e desbastados, foram selecionados 12 melhores desenvolvidos.

As mudas selecionadas foram então transplantadas em recipientes de polietileno, com dimensões de 15 cm de diâmetro por 35 cm de altura, preenchidos com uma mistura de substrato da marca Rendimax e fertilizante comercial de liberação lenta da marca Basacote Plus 6M, na dosagem de 5 kg/m³, conforme recomendação do fabricante.

Durante todas as etapas os recipientes com as mudas foram mantidos em bancadas distantes 40 cm do chão. Todas as brotações laterais dos caules das plantas foram removidas à medida que surgiam, de forma a propiciar a formação da muda em forma de haste única e ereta (APÊNDICE B).

As plantas foram irrigadas manualmente com o auxílio de um regador até os 96 DAS (fase de tubetes) e por gotejamento, de forma localizada em cada saco de polietileno, dos 97 aos 217 DAS, utilizando-se água isenta de cloro.

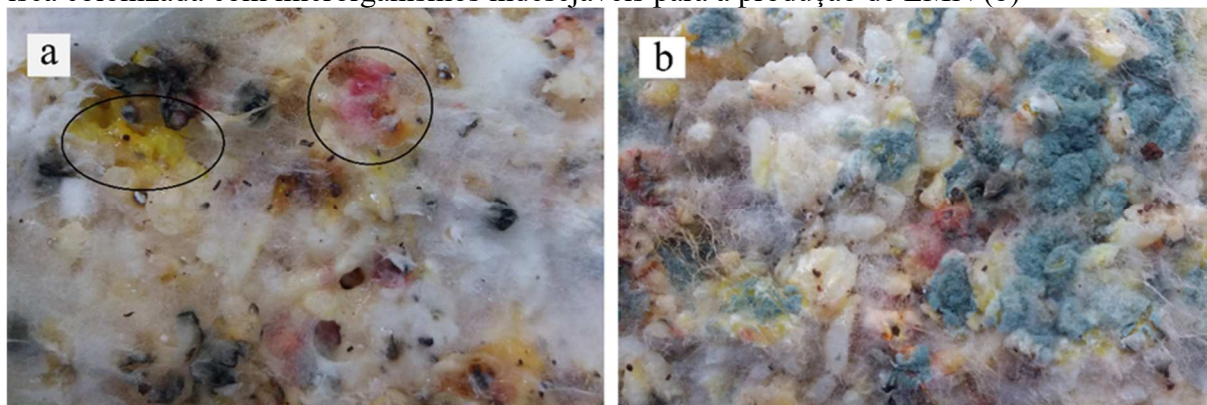
Demais aspectos técnicos referentes ao plantio e manejo geral das plantas foram desenvolvidos observando as recomendações sugeridas por Oliveira et al (2010), Koller (2013) e Efrom e Souza (2018).

Captura e multiplicação do EMN

Os microrganismos eficientes nativos (EMN) foram capturados e multiplicados em meio de cultura utilizando-se a metodologia proposta por Andrade et al (2011) e Leite e Meira (2017). As iscas para captura foram colocadas no interior de área de mata, nas dependências da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Erechim - RS.

A figura 1 apresenta a isca de arroz utilizada para este trabalho, com áreas colonizadas com microrganismos desejáveis para produção de EM (Figura 1a), apresentando cores claras e vivas (amarelo, rosa e branco), e áreas colonizadas com microrganismos indesejados para fabricação de EM (Figura 1b), com cores escuras (marrom, preto e cinza).

Figura 1 - Iscas colonizadas com microrganismos desejáveis para a produção de EMN (a) e isca colonizada com microrganismos indesejáveis para a produção de EMN (b)



Fonte: O autor.

Para o processo de multiplicação do EM somente foram utilizadas as porções da isca de arroz que apresentaram as cores amarelo, rosa e branco, similares as constantes na figura 1a. A separação das partes do arroz colonizado foi realizada com o auxílio de espátulas de plástico.

Ativação do EMN

A ativação do volume de microrganismos eficientes nativos (EMN) estabilizados a serem utilizados em cada momento de aplicação ocorreu sempre com 5 dias de antecedência da data estabelecida para a aplicação dos tratamentos. O preparo da mistura consistia em adicionar em um recipiente 50 ml de EMN estabilizado, 50 ml de melado de cana e água sem cloro até alcançar o volume de 1 litro, metodologia proposta por Andrade et al (2011) e Leite e Meira (2017). Após, a solução era mantida em recipiente expansível e estanque ao ar por 5 dias, liberando-se os gases uma vez por dia, de acordo com o recomendado por Zhong et al (2018) (APÊNDICE C).

Ativação do EM1®

A ativação do volume do produto comercial EM1® estabilizado a ser utilizado em cada momento de aplicação ocorreu sempre com 7 dias de antecedência da data estabelecida para a aplicação dos tratamentos. Para isto, conforme recomendações do fabricante, eram misturadas 1 parte (5%) de EM1®, 1 parte (5%) de melado de cana e 18 partes (90%) de água limpa sem cloro, agitando-se até formar uma solução homogênea. Em seguida, a mistura permanecia em recipiente estanque por 7 dias. Durante a fermentação, o gás

produzido no recipiente era removido diariamente, abrindo-se a tampa somente o suficiente para a saída dos gases.

Identificação dos microrganismos

Para o produto comercial EM1® foram consideradas as informações a respeito da composição microbiana fornecidas pelo fabricante.

A avaliação da diversidade microbiana do EMN foi realizada no laboratório da Neoprosperta Pesquisa e Consultoria S/A, utilizando-se a metodologia de análise e identificação NGS (Sequenciamento de DNA de Nova Geração), conforme segue: as amostras foram pré-preparadas a partir 100ml de EMN ativado, procedendo-se a centrifugação do volume a 560xG (força G) por 5 minutos em centrífuga; 100mg de pellet de cada amostra foram transferidos para tubos em solução NeoZ (APÊNDICE D); a identificação dos microrganismos presentes no processo de fermentação foi realizada a partir da extração do material genético utilizando 1g da amostra de biomassa pelo PowerSoil DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, EUA), de acordo com as instruções do fabricante; as regiões V3-V4 foram amplificadas com os primers 341F e 806 R, respectivamente, segundo Caporaso et al (2011) e Wang e Qian (2009); as bibliotecas foram sequenciadas em um sistema MiSeq, usando os primers padrões Illumina já fornecidos no kit; as sequências agrupadas das unidades taxonômicas operacionais (UTOs) foram submetidas à classificação taxonômica em bancos de dados de serviço de árvores, considerando as sequências com pelo menos 99% de identidade com o banco de dados de referência.

Dosagem e forma de aplicação

As aplicações dos inoculantes EM1® e EMN começaram aos 52 DAS e terminaram aos 175 DAS. Foram realizadas aplicações com frequência mensal e dose de 16,65 l/ha de inoculante ativado por aplicação, tanto para o EM1® quanto para o EMN.

Para a produção da calda de aplicação foi realizada a mistura de EM1® ou EMN (já ativados) em água, na proporção de 16,65/500, a mesma utilizada por Zydlik e Zydlik (2008).

As aplicações dos microrganismos eficientes nativos (EMN) e do produto comercial EM1® foram feitas com o auxílio de um regador, diretamente sobre as plantas e a superfície

do substrato presentes nos tubetes ou nos sacos de polietileno, com o volume de calda de aplicação destinado a cada parcela diluído na água da irrigação.

Uma vez que dos 97 aos 217 DAS a irrigação das plantas ocorreu por gotejamento, exclusivamente neste período e nos dias em que foram realizadas as aplicações dos tratamentos com os inoculantes EM1® e EMN, a irrigação por gotejamento foi substituída pela irrigação com o auxílio de um regador, de modo a permitir a diluição das caldas de aplicação na água de irrigação.

Coleta dos dados

A coleta das plantas para a extração dos dados ocorreu no dia 12/03/2020, aos 217 DAS.

O diâmetro do caule na altura do ponto de enxertia (DC) foi determinado a partir da mensuração do diâmetro do caule da planta na altura de 10 cm a partir do colo, utilizando-se paquímetro digital e régua graduada.

O número de folhas (NF) foi determinado pela contagem manual do número total de folhas completamente formadas (APÊNDICE E).

A altura das plantas (AP) foi obtida pela mensuração da altura máxima das plantas, considerando-se do colo até o ápice, com o auxílio de uma trena metálica.

A determinação da área foliar total (AFT) foi realizada por meio da captura de imagem fotográfica das folhas e posterior processamento no software ImageJ (Processamento e Análise de Imagens em Java, v. 1.52d, EUA) (APÊNDICE E).

Para a realização da coleta dos dados referentes as raízes, foi realizada a remoção do substrato de cultivo destas por meio de uma cuidadosa lavagem do sistema radicular, com o auxílio de peneiras, de modo a evitar ao máximo perdas de raízes (APÊNDICE E).

O diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) foi determinado pela mensuração do diâmetro da raiz pivotante na altura do colo, procedimento realizado com o auxílio de um paquímetro digital (APÊNDICE E).

A avaliação mais detalhada do sistema radicular das plantas ocorreu através da captura das imagens das raízes com uma câmera digital (13MP; 3264x1836px) e posterior processamento destas utilizando o software Safira v1.1 (Sistema de Análise de Fibras e Raízes, Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Paulo, Brasil).

Com o tratamento das imagens das raízes pelo software Safira v1.1 foi possível obter diretamente valores para diâmetro médio ponderado de raiz (DMR, mm), comprimento total

de raiz (CTR, cm) comprimento de raiz muito fina (CRMF, cm), comprimento de raiz fina (CRF, cm), comprimento de raiz média (CRM), comprimento de raiz grossa (CRG, cm), comprimento total de raiz (CTR, cm), área de superfície de raiz muito fina (ASRMF, cm²), área de superfície de raiz fina (ASRF, cm²), área de superfície de raiz média (ASRM, cm²), área de superfície de raiz grossa (ASRG, cm²), área de superfície total de raiz (ASTR, cm²), volume de raiz muito fina (VRMF, cm³), volume de raiz fina (VRF, cm³), volume de raiz média (VRF, cm³), volume de raiz grossa (VRG, cm³) e volume total de raízes (VTR, cm³).

Foram consideradas raízes muito finas (RMF) as raízes com diâmetro inferior a 1 mm, ($\emptyset < 1$ mm), raízes finas (RF) as raízes com diâmetro entre 1,1 e 2,0 mm ($1,1 < \emptyset < 2,0$ mm), raízes médias (RM) as raízes com diâmetro entre 2,1 e 3,0 mm ($2,1 < \emptyset < 3,0$ mm) e raízes grossas (RG) as raízes com diâmetro superior a 3,1 mm ($\emptyset > 3,1$ mm). Para fins de denominação, classificação e cálculo dos dados das raízes processadas pelo software Safira v1.1 foram utilizados os métodos propostos por Böhm (1979) e Moura (2019), adaptando-se a distribuição das faixas de valores e alterando as denominações para melhor se adequarem a este estudo.

Os valores de Massa Seca (MS) foram obtidos através da colheita e secagem das estruturas vegetais, separando-se caule, folhas e raízes. A secagem foi realizada em estufa com temperatura de 65 °C e ventilação forçada até atingir peso constante. Os valores de massa seca de folhas (MSF) (g), massa seca de caule (MSC) (g) e massa seca de raiz (MSR) (g) foram obtidos diretamente por meio da pesagem das estruturas vegetais secas em balança semianalítica.

A massa seca da parte aérea (MSPA) (g) foi obtida pela soma entre a MSF e a MSC.

A massa seca total (MST) (g) foi obtida pela soma entre a MSPA e a MSR.

Considerando que as plantas que apresentam maiores comprimentos específicos de raízes são mais eficientes na metabolização da água e nutrientes por unidade de carbono consumido (FITTER, 1991), também foi determinado o comprimento específico de raiz (CER) (cm/g), através da razão entre o CTR e a MSR.

Análise estatística dos dados

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste Tukey, utilizando-se o software estatístico Past v. 3.24.

RESULTADOS

Composição microbiana do inoculantes EM1® e EMN

Os totais de sequências das espécies de fungos e bactérias encontradas nas amostras analisadas do EMN estão apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 - Fungos encontradas em amostra de Microrganismos Eficientes Nativos - EMN

Espécie	Total de sequências	%
<i>Zygorulasporea florentina</i>	44240	53,66
<i>Pichia nakasei</i>	37907	45,98
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	271	0,32
<i>Mortierella sp. bc_besc_211a</i>	15	0,01
Total da amostra	82433	100

Fonte: O autor

Tabela 2 - Bactérias encontradas em amostra de Microrganismos Eficientes Nativos - EMN

Espécie	Total de sequências	%
<i>Gluconobacter cerinus</i>	13257	78,53
<i>Lactobacillus casei</i>	1352	8,01
<i>Gluconobacter frateurii</i>	1145	6,78
<i>Streptococcus thermophilus</i>	212	1,26
<i>Methylophilus methylotrophus</i>	175	1,04
<i>Sphingomonas melonis</i>	134	0,79
<i>Novosphingobium subterraneum</i>	101	0,60
<i>Acidovorax delafieldii</i>	62	0,37
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	52	0,31
<i>Gluconobacter oxydans</i>	43	0,25
<i>Sinorhizobium fredii</i>	40	0,24
<i>Afipia genosp. 9</i>	27	0,16
<i>Bifidobacterium animalis</i>	26	0,15
<i>Lactobacillus brevis</i>	26	0,15
<i>Flavobacterium terrigena</i>	22	0,13
<i>Lactococcus lactis</i>	22	0,13
<i>Cupriavidus pampae</i>	19	0,11
<i>Arcicella rósea</i>	18	0,11
<i>Bosea minatitlanensis</i>	16	0,09
<i>Janthinobacterium agaricidamnosum</i>	16	0,09
<i>Duganella zoogloeoides</i>	15	0,09
<i>Acidovorax temperans</i>	14	0,08
<i>Novosphingobium taihuense</i>	14	0,08
<i>Pelomonas saccharophila</i>	12	0,07
<i>Variovorax paradoxos</i>	12	0,07
<i>Caulobacter vibrioides</i>	9	0,05
<i>Acidovorax radialis</i>	7	0,04
<i>Bacillus cereus sp. Group</i>	7	0,04
<i>Caulobacter henricii</i>	6	0,04
<i>Neisseria flavescens</i>	5	0,03
<i>Pseudomonas koreensis</i>	5	0,03
<i>Pseudomonas putida</i>	5	0,03
<i>Rhodoferrax ferrireducens</i>	5	0,03
Total da amostra	16881	100%

Fonte: O autor

As informações a respeito das espécies e da concentração de fungos (leveduras) e bactérias (ácido lácticas) encontradas no EM1® estão dispostas na tabela 3, as quais foram informadas pela empresa Ambien Indústria e Comércio Ltda, fornecedora do produto comercial EM1® utilizado neste trabalho.

Tabela 3 - Composição do produto comercial EM1®

Espécie	UFC/ml	%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	> 1,5 x 10 ⁶	92,25
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	> 7,9 x 10 ⁴	4,86
<i>Lactobacillus casei</i>	> 4,7 x 10 ⁴	2,89

Fonte: Ambien Indústria e Comércio Ltda

O EMN apresentou uma variedade microbiana muito superior ao produto comercial EM1®. As espécies *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* foram identificadas como presentes em ambos os inoculantes (EM1® e EMN).

Avaliações morfológicas

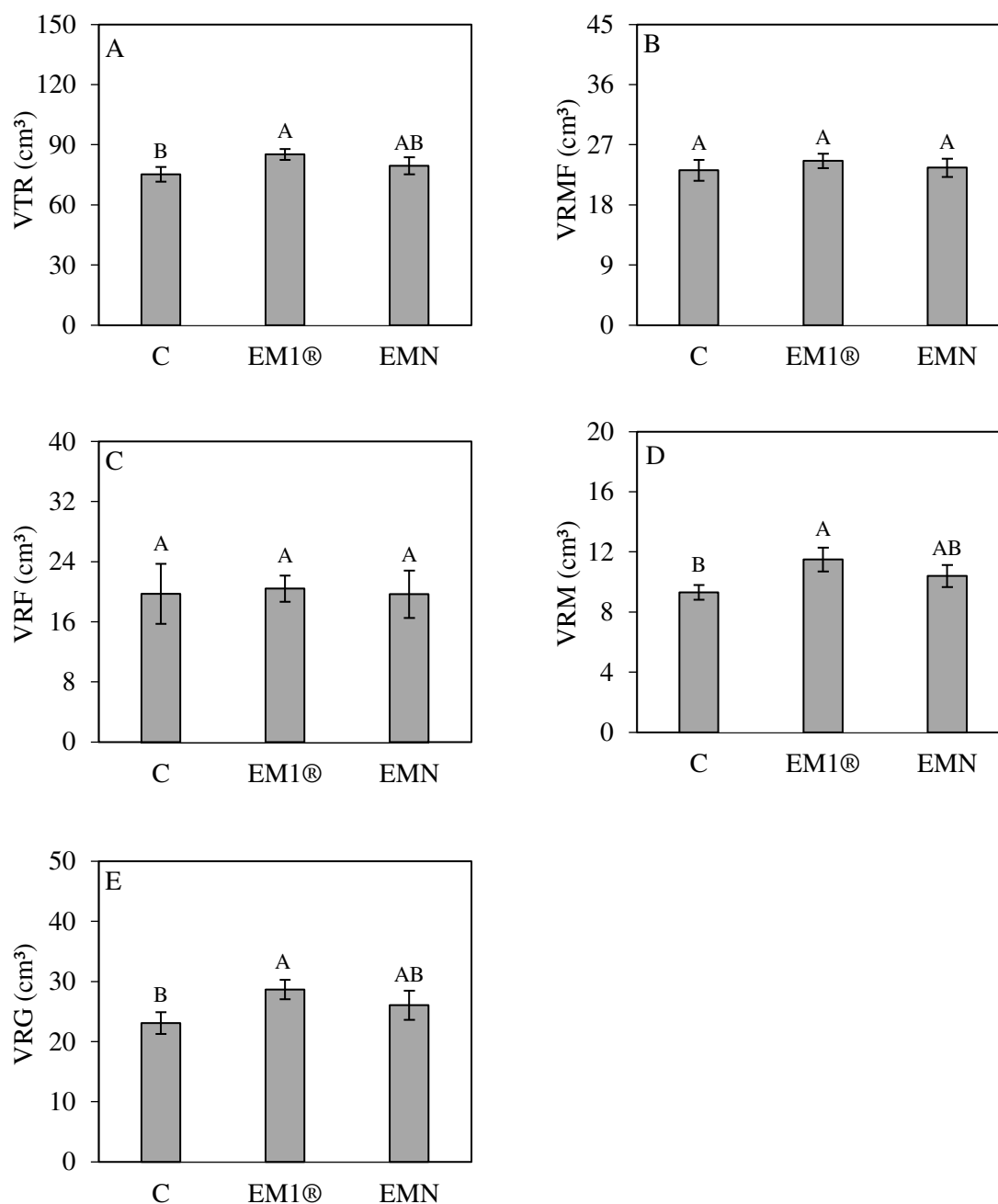
O volume total de raiz (VTR) das plantas de *P. trifoliata* tratadas com o produto comercial EM1® foi 21% superior ao tratamento controle (Figura 2A). Os tratamentos EM1® e EMN não diferiram entre si (Figura 2A).

As variáveis volume de raízes muito finas (VRMF) (Figura 2B) e volume de raízes finas (VRF) (Figura 2C) não foram influenciados por nenhum dos tratamentos com microrganismos eficientes.

O EM1® causou incremento de 23% no volume de raízes médias (VRM) (Figura 2D) e 24% no volume de raízes grossas (VRG) (Figura 2E) em comparação com o tratamento controle. Não foram observadas diferenças nos volumes de raízes médias (VRM) e volume de raízes grossas (VRG) entre os tratamentos EM1® e EMN.

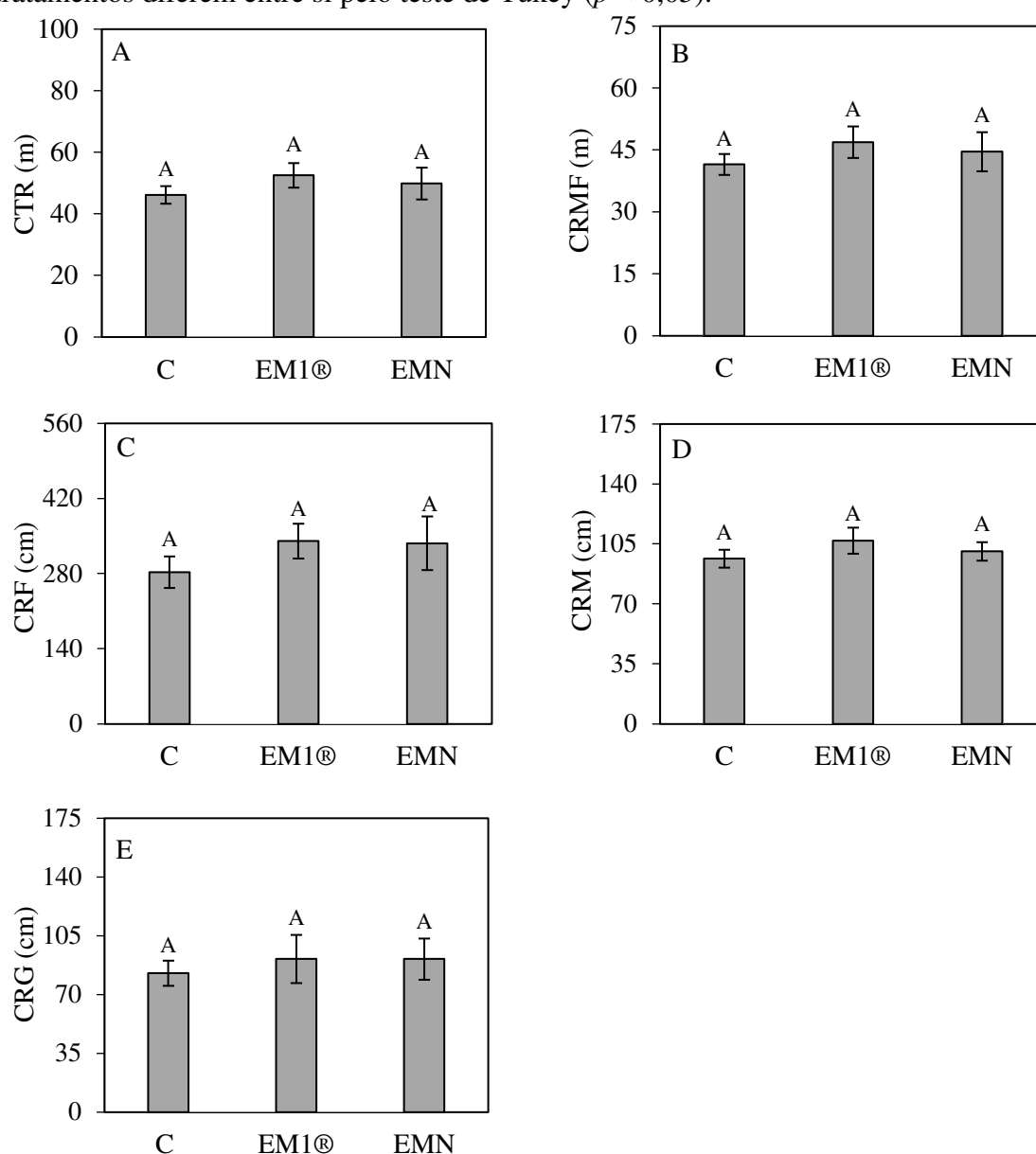
Embora o EM1® tenha demonstrado aumento no volume total de raízes (VTR) (Figura 2A) em comparação com o tratamento controle, por meio da análise dos volumes de raízes de forma segmentada, agrupadas por classe de acordo com o diâmetro (Tabelas 2B, 2C, 2D e 2E), percebe-se que nem todas as partes das raízes do *P. trifoliata* foram de fato influenciadas, pois os incrementos concentraram-se unicamente nas raízes classificadas como médias e grossas (Figuras 2D e 2E).

Figura 2 - Volume total de raiz (VTR) [A], volume de raiz muito fina (VRMF) [B], volume de raiz fina (VRF) [C], volume de raiz média (VRM) [D] e volume de raiz grossa (VRG) [E] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



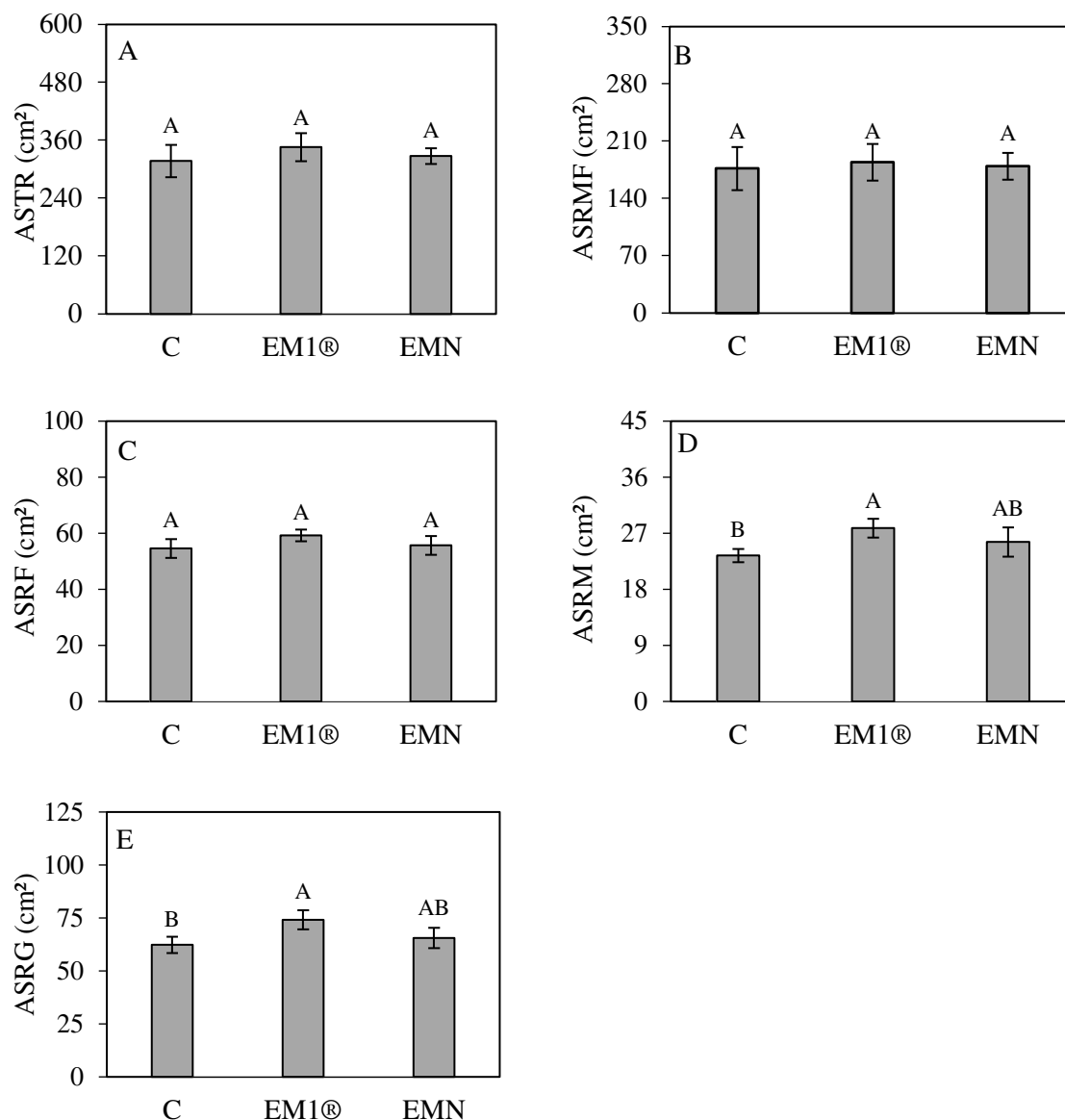
Não foram observadas diferenças no comprimento total das raízes (CTR) (Figura 3A), no comprimento de raiz muito fina (CRMF) (Figura 3B), no comprimento de raiz fina (CRF) (Figura 3C), no comprimento de raiz média (CRM) (Figura 3D) e no comprimento de raiz grossa (CRG) (Figura 3E) das plantas de *P. trifoliata* submetidas aos tratamentos controle, EM1® e EMN.

Figura 3 - Comprimento total de raiz (CTR) [A], comprimento de raiz muito fina (CRMF) [B], comprimento de raiz fina (CRF) [C], comprimento de raiz média (CRM) [D] e comprimento de raiz grossa (CRG) [E] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



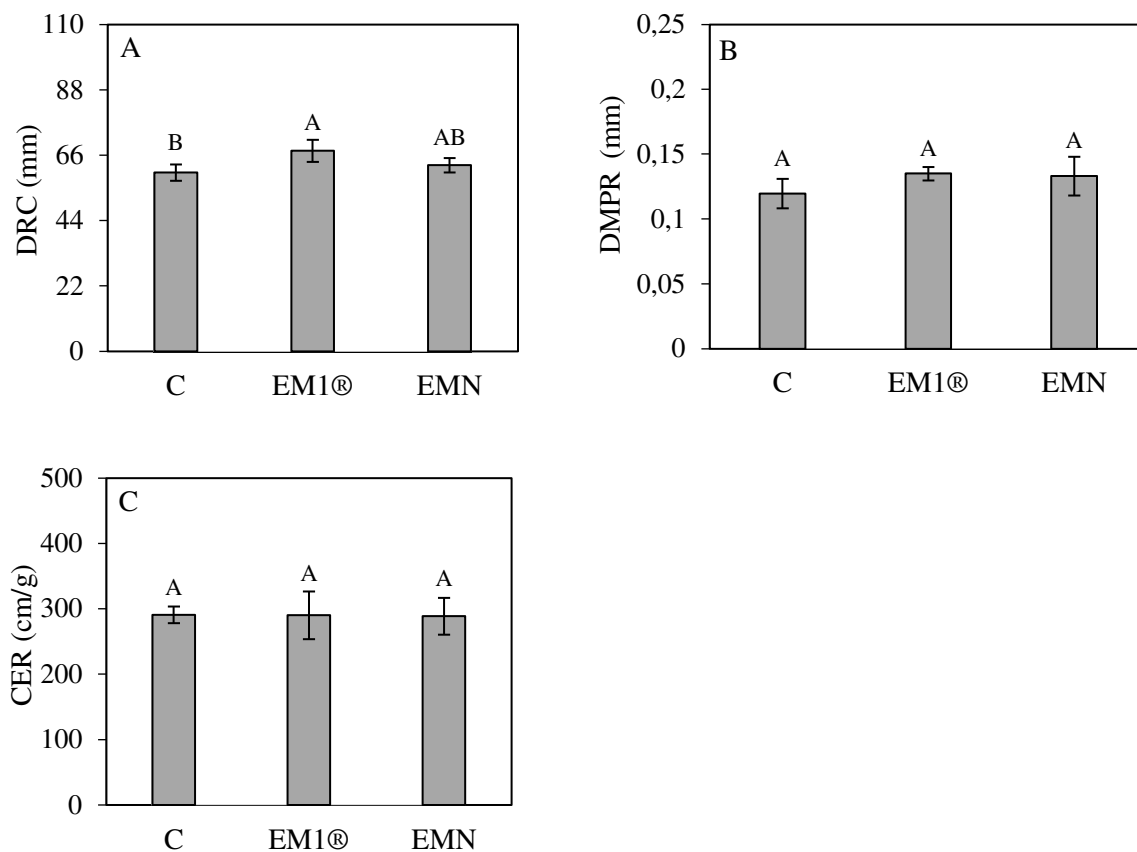
A área superficial total de raiz (ASTR) (Figura 4A), a área superficial de raiz muito fina (ASRMF) (Figura 4B) e a área superficial de raiz fina (ASRF) (Figura 4C) não foram influenciadas pelos tratamentos. O EM1® promoveu aumento a área superficial de raiz média (ASRM) (Figura 4D) em 18% e da área superficial de raiz grossa (ASRG) em 19% quando comparados com o tratamento controle. Não houveram diferenças entre os tratamentos EM1® e EMN nas variáveis área superficial de raiz média (ASRM) (Figura 4D) e área superficial de raiz grossa (ASRG) (Figura 4E).

Figura 4 Área superficial total de raiz (ASTR) [A], área superficial de raiz muito fina (ASRMF) [B], área superficial de raiz fina (ASRF) [C], área superficial de raiz média (ASRM) [D] e área superficial de raiz grossa (ASRG) [E] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,1$).



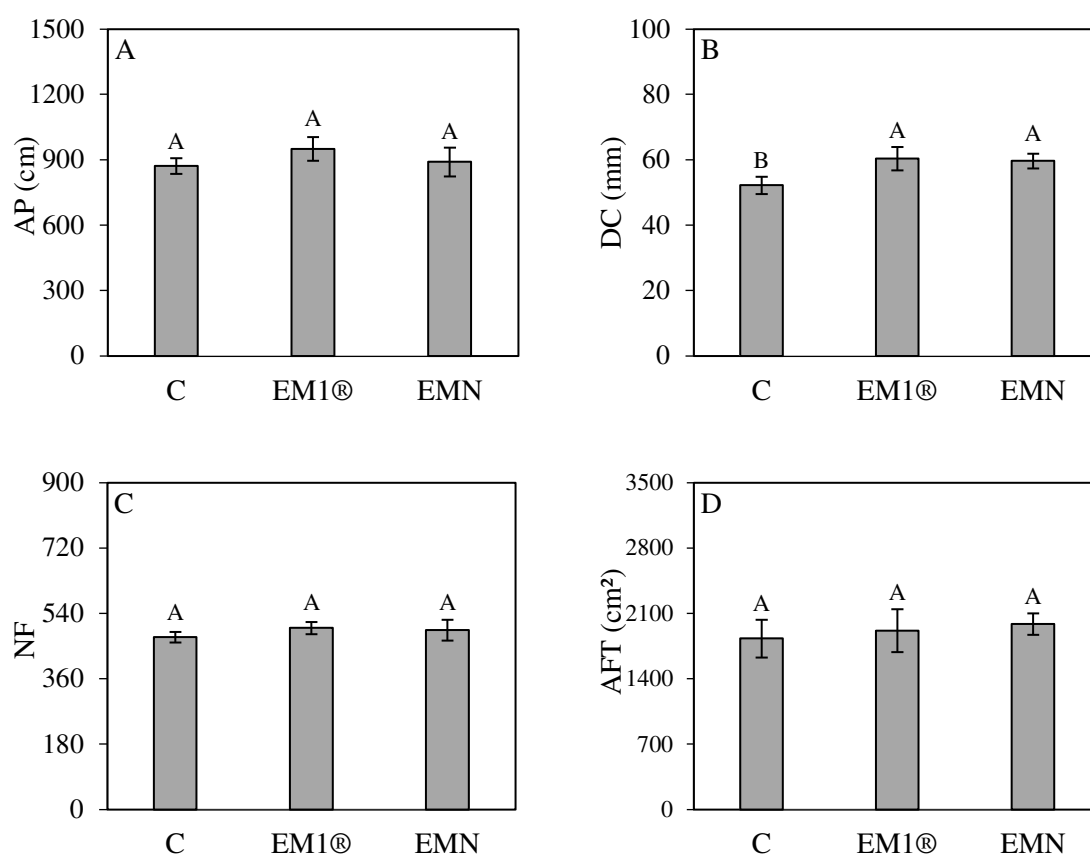
O diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) foi incrementado pelo tratamento EM1® em 12% quando comparado com o tratamento controle (Figura 5A). Não houve diferença no diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) entre os tratamentos EM1® e EMN (Figura 5A). As variáveis diâmetro médio ponderado da raiz (DMP) (Figura 5B) e comprimento específico de raiz (CER) (Figura 5C) não foram influenciadas pelos tratamentos.

Figura 5 - Diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) [A], diâmetro médio ponderado da raiz (DMPR) [B] e comprimento específico de raiz (CER) [C] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,1$).



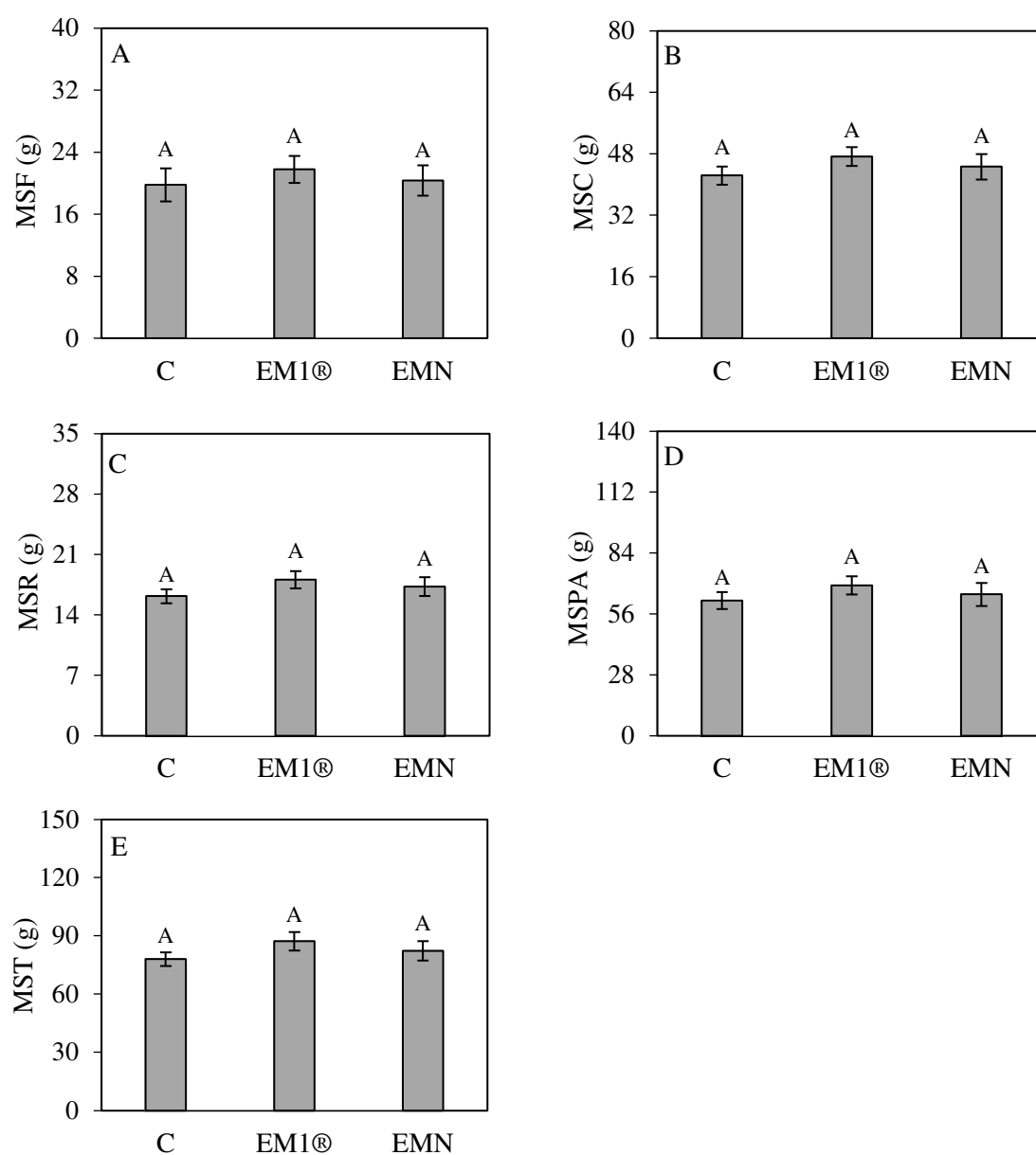
As variáveis altura da planta (AP) (Figura 6A), número de folhas (NF) (Figura 6C) e área foliar total (AFT) (Figura 6D) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. As plantas de *P. trifoliata* submetidas aos tratamentos EM1® e EMN apresentaram-se superiores ao tratamento controle (C) na variável diâmetro do caule (DC), com incrementos respectivos de 17% e 15% (Figura 6B).

Figura 6 - Altura da planta (AP) [A], diâmetro do caule (B) [B], número de folhas (NF) [C] e área foliar total (AFT) [D] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Os tratamentos EMN e EM1® não interferiram nas variáveis massa seca das folhas (MSF) (Figura 7A), massa seca do caule (MSC) (Figura 7B), massa seca da raiz (MSR) (Figura 7C), massas seca da parte aérea (MSPA) (Figura 7D) e massa seca total (MST) (Figura 7E).

Figura 7 - Massa seca das folhas (MSF) [A], massa seca do caule (MSC) [B], massa seca da raiz (MSR) [C], massa seca da parte aérea (MSPA) [D] e massa seca total (MST) [E] em plantas de *P. trifoliata*, nas condições de tratamentos controle (C), produto comercial (EM1®) e microrganismos eficientes nativos (EMN). Barras representam as médias (n = 3). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



DISCUSSÃO

Composição microbiana dos inoculantes EM1® e EMN

A maior diversidade de espécies microbianas encontradas no EMN (Tabelas 1 e 2) em comparação com o produto comercial EM1® (Tabela 3) decorre das distintas metodologias utilizadas para a obtenção dos inoculantes.

Na fabricação de inoculantes microbianos em ambiente controlado (ex: indústria) é possível exercer maior controle sobre a seleção das espécies desejadas, sendo comum a escolha por microrganismos melhores compatíveis entre si e com efeitos benéficos já conhecidos nas plantas e no solo. Isto é possível constatar ao analisarmos a composição do produto comercial EM1® (Tabela 3), aonde o fabricante informa a presença de somente três espécies de microrganismos no produto.

Em contrapartida, para a obtenção de preparados a base de EM por meio da tecnologia caseira, não é possível que seja exercido muito controle a respeito das espécies que se deseja capturar e multiplicar, sendo que a diversidade de microrganismos do produto final vai depender principalmente das características do local de captura e dos cuidados no momento da seleção das colônias a serem multiplicadas.

Muito embora sejam seguidas as recomendações técnicas a respeito das práticas de captura e multiplicação de EM por meio da tecnologia caseira, é comum constatar-se significativas diferenças na diversidade de espécies de microrganismos presentes em inoculantes caseiros oriundos de diferentes localidades.

O supracitado pode ser verificado ao compararmos a composição do inoculante utilizado para este trabalho (EMN) (Tabelas 1 e 2) com a composição dos preparados a base de microrganismos estudados por outros autores.

Por exemplo, Higa e Wididana (1991) descrevem que em geral os preparados a base de EM podem conter mais de 80 espécies de 10 distintos gêneros de microrganismos, enquanto que o inoculante utilizado para este trabalho apresentou menos espécies, somente 37, e mais gêneros, 27. Os resultados obtidos por Santos (2016) também corrobora no sentido da existência de diferenças nas composições de inoculantes oriundos de distintas localidades, uma vez que ao estudarem a diversidade de espécies microbianas contidas em EM oriundos da região da Zona da Mata de Minas Gerais, a autora identificou como predominantes

espécies do gênero *Candida*, *Peniophora*, *Penicillium*, *Uwebraunia* e *Fusarium*, nenhuma das quais identificadas na análise realizada no EMN utilizado para este trabalho (Tabela 2).

Avaliações morfológicas

Embora o EM1® tenha demonstrado aumento significativo no volume total de raízes (VTR) (Figura 2A) em comparação com o tratamento controle, por meio da análise dos volumes de raízes de forma segmentada, agrupadas por classe de acordo com o diâmetro (Figuras 2B, 2C, 3D e 2E), percebe-se que nem todas as partes das raízes do *P. trifoliata* foram influenciadas, pois o volume das raízes muito finas (VRMF) (Figura 2C) e o volume das raízes finas (VRF) (Figura 2D) não apresentaram diferenças entre os tratamentos. Desta forma, o incremento no volume total do sistema radicular causado pelo EM1®, em comparação com tratamento controle (Figura 2A), diz respeito unicamente aos volumes de raízes médias (VRM) (Figura 2D) e raízes grossas (VRG) (Figura 2E).

Korndörfer et al (1989) afirmam que quanto maior o sistema radicular de uma planta maior será sua habilidade em aproveitar os nutrientes e a água disponíveis no substrato. Bernardo et al (2000) também descrevem neste sentido, sustentando que as modificações na estrutura radicular de porta-enxertos para citros, principalmente no que diz respeito ao seu volume, podem interferir positivamente na eficiência da absorção e armazenamento de água e nutrientes, sobretudo em aqueles com menor mobilidade.

Ainda que a influência positiva do EM1® no sistema radicular do *P. trifoliata* tenha ocorrido somente em raízes de primeira ordem (RM e RG), as quais segundo Magalhães (1988) possuem como principal função dar suporte as plantas, Back (2017) acrescenta que além de fornecer suporte, estas raízes também funcionam como mecanismos de reserva para as plantas, principalmente em caducifólias como o *P. trifoliata*. Neste sentido, embora o aumento do volume do sistema radicular causado pelo EM1® não tenha ocorrido em raízes de maior importância para a absorção de água e nutrientes, mas sim em raízes com maior aptidão para melhor estruturação da planta, ainda assim o aumento do volume radicular causado no *P. trifoliata* pelo produto comercial EM1® trata-se de um resultado importante, pois raízes com maior volume podem cumprir melhor a função de acúmulo de reservas, beneficiando a planta em situações de escassez.

Por serem grandezas correlacionadas em certa medida, assim como foram observados aumento no volume de raízes médias e raízes grossas nas plantas tratadas com o produto comercial EM1®, também se observou incrementos significativos na área

superficial de raízes médias (ASRM) (Figura 4D) e na área superficial de raízes grossas (ASRG) (Figura 4E). De acordo com Pang et al (2010), o aumento da superfície radicular de absorção é um dos fatores que pode facilitar o processo de absorção de nutrientes nas plantas. Isso ocorre porque o espaço de interceptação radicular tem relação direta com a área ocupada pelas raízes, facilitando o movimento dos íons em direção destas, ocasionado pela diferença no gradiente de concentração gerado na superfície das raízes pelo processo de absorção (BARBER 1984; ROSOLEM et al 2003).

Ainda neste sentido, segundo Oliveira (1999), os porta-enxertos cítricos possuem pelos absorventes pouco desenvolvidos em seus sistemas radiculares, tornando-os altamente dependentes de microrganismos como os fungos micorrízicos arbusculares para absorção de nutrientes de baixa mobilidade. Assim sendo, mesmo considerando a baixa eficiência de raízes médias e grossas na absorção de água e nutrientes, ainda assim o aumento da superfície radicular observado nas plantas tratadas com EM1® pode contribuir em certa medida na absorção de nutrientes pelas plantas, pois Mei et al (2011) ao analisarem a absorção do micronutriente Boro (B) nos porta-enxertos citrange Carrizo (*Poncirus trifoliata* x *Citrus sinensis*), tangerina Cleópatra (*Citrus reshni*), laranja Azeda (*Citrus aurantium*) e *Poncirus trifoliata*, observaram que em todos os genótipos testados houve existência de correlações positivas significativas entre a área superficial das raízes das plantas e a eficiência de absorção do supracitado micronutriente.

Há que se considerar também que o aumento da área de superfície radicular causado pelo EM1® pode fortalecer as relações recíprocas entre as plantas e os microrganismos presentes no substrato, melhorando as condições para o estabelecimento e permanência destes no ambiente de cultivo, uma vez que segundo Rengel e Marschner (2005), a exsudação de compostos orgânicos pela superfície radicular, assim como a própria superfície, constituem-se em meios para a permanência e multiplicação de determinados microrganismos benéficos para as plantas.

Os incrementos observados nas variáveis VRM (Figura 2E), VRG (Figura 2F), ASRM (Figura 4D), ASRG (Figura 4E) e DRC (Figura 5A), permitem inferir que as plantas de *P. trifoliata* tratadas com EM1® possuem um sistema radicular pivotante mais desenvolvido em comparação com as plantas do tratamento controle.

Baldassari et al (2003) identificaram que as mudas cítricas com sistema radicular pivotante mal desenvolvido durante a fase de viveiro tem favorecido o aparecimento a campo do “declínio dos citros”, anomalia que causa prejuízos em pomares cítricos de laranja doce

que utilizam como porta-enxertos o limoeiro Cravo (*Citrus limonia*), o *Poncirus trifoliata*, o limoeiro Rugoso (*Citrus limon*) e os citranges Morton (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*) e Troyer (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*).

Outro ponto de interesse resultante do incremento no sistema pivotante pode ser com respeito ao transporte da seiva entre o sistema radicular e a parte aérea das plantas, visto que Eissenstat e Achor (1999) ao avaliarem a relação entre a condutividade hidráulica das raízes e a arquitetura radicular em porta-enxertos de *P. trifoliata*, limão rugoso (*Citrus jambhiri*), citrumelo Swingle (*Citrus paradisi* x *Poncirus trifoliata*) e laranja azeda (*Citrus aurantium*), verificaram que o diâmetro das raízes de primeira ordem (maiores) foram positivamente correlacionados com o número e o tamanho das células de passagem do cilindro vascular das plantas, tanto para plantas cultivadas em vasos quanto para plantas a campo.

Segundo Pineda et al (2013), as modificações nos sistemas radiculares percebidas quando da inoculação de EM são na maioria das situações resultado da alteração nos níveis de fitormônios, decorrente da acentuada colonização microbiana. De acordo com Rodrigues e Leite (2004), fitormônios como as giberelinas atuam tanto na divisão quanto no alongamento celular, aumentando o número e o comprimento destas. Daykin et al (1997) descrevem as giberelinas como reguladores da plasticidade da parede celular, influenciando a atividade de determinadas enzimas, as quais podem favorecer o deslocamento da água nas células durante o seu crescimento.

Dentre os autores que observaram maior desenvolvimento do sistema pivotante de plantas tratadas com EM podemos citar Chen e Cheng (2013), que ao analisarem os resultados da aplicação de EM em plantas de Cereja (*Prunus campanulata*) identificaram que o desenvolvimento do diâmetro da raiz pivotante foi superior nas plantas submetidas a aplicação de EM e Shokouhian et al (2013), que ao investigaram diferentes concentrações de EM associados a diferentes situações de déficits hídricos em Amendoeira (*Prunus dulci*) observaram que em todos os casos os tratamentos com EM implicaram em um sistema radicular primário mais profundo.

Em contrapartida, Zydlik e Zydlik (2008) constataram uma maior presença de radículas em porta-enxertos para macieiras M9 tratadas com EM e Higa (1988) afirma que as plantas tratadas com EM apresentam raízes finas em abundância, resultados que diferem do obtido neste trabalho, onde não foi possível observar alterações nas raízes de menor diâmetro das plantas tratadas com EM1® e EMN.

Tanto o EM1® quanto o EMN causaram incremento no crescimento do diâmetro do caule (DC) do *P. trifoliata* (Figura 6B). O diâmetro do caule é uma das características mais observadas por produtores de mudas cítricas durante a fase de cultivo dos porta-enxertos, pois constitui-se em fator limitante para a realização da enxertia.

Em viveiros de mudas cítricas, o incremento no diâmetro do caule dos porta-enxertos pode significar a antecipação do procedimento de enxertia e a conseqüente diminuição do tempo necessário para a produção da muda. Ainda que não tenham verificado antecipação do momento da enxertia, Zydlik e Zydlik (2008) constataram que as plantas do porta-enxerto para macieiras M9 submetidas a aplicações de EM apresentaram maior crescimento do diâmetro do caule.

Embora o tratamento EM1® tenha influenciado as variáveis VRM (Figura 2E), VRG (Figura 2F), ASRM (Figura 4D), ASRG (Figura 4E) e DRC (Figura 5A) e que tanto o EM1® quanto o EMN tenham incrementado o DC (figura 6B), não foi possível observar diferenças entre os tratamentos nas variáveis MSR (Figura 7C) e MSC (Figura 7B). Isto se deve, segundo Eissenstat (1991), porque estas grandezas nem sempre são diretamente proporcionais, uma vez que inclusive sob mesmas condições ambientais, plantas de mesma espécie podem frequentemente apresentar grandes diferenças nos padrões de assimilação e alocação do carbono, por exemplo.

A área foliar é uma importante variável utilizada para a avaliação do crescimento vegetal, uma vez que possui grande correlação e influência no desenvolvimento das demais partes da planta (FAVARIN et al., 2002). Ainda que de grande interesse, a análise da área foliar das plantas de *P. trifoliata* deste trabalho demonstrou que todos os tratamentos foram estatisticamente semelhantes para as variáveis AFT (Figura 6C) e NF (Figura 6C).

Diferentemente do verificado neste trabalho, aonde não foi possível verificar influência do uso de microrganismos eficientes nas variáveis envolvendo massa seca e área foliar, Tabora et al (2002) ao estudarem o efeito do uso de EM em bananeiras, identificaram que tanto a massa seca das raízes quanto a área foliar total foram aumentadas com o uso microrganismos eficientes.

Influência da composição microbiana do EM1® e do EMN nas alterações morfológicas

Diversos são os agentes que podem interferir no desenvolvimento radicular de porta-enxertos destinados a produção de mudas cítricas. Em viveiros de mudas, segundo

Feichtenberger et al (1997), as doenças causadas por *Phytophthora* spp. destacam-se por causar podridão de raízes e lesões nas folhas e no caule. Considerado que o EM1® (Tabela 3) possuía duas espécies do gênero *Lactobacillus* em sua composição, pode-se supor que o incremento no sistema radicular das plantas de *P. trifoliata* tratadas com EM1® (Figuras 2D, 2E, 3F, 4D, 4E e 5A) esteja relacionado a menor incidência de doenças nas raízes, dentre elas as causadas por *Phytophthora* spp., pois Giassi et al (2015) ao estudarem o efeito de *Lactobacillus* no controle de *Phytophthora nicotianae*, observaram melhor desenvolvimento do sistema radicular nos porta-enxertos de citros tratadas *Lactobacillus*. Murthy et al. (2012) também identificaram efeitos benéficos no crescimento radicular do tomateiro causado por diferentes cepas de *Lactobacillus*.

Com relação ao exposto acima, deve-se considerar que ambos os formulados a base de microrganismos eficientes (EM1® e EMN) usados neste estudo continham em sua formulação espécies do gênero *Lactobacillus*, entretanto, o EMN não influenciou significativamente o desenvolvimento radicular das plantas.

A ausência de resultados estatisticamente significativos do tratamento EMN no sistema radicular das plantas de *P. trifoliata* pode decorrer do fato da dinâmica das relações entre os diferentes microrganismos, deste inoculante, terem se mostrado inadequadas para as espécies benéficas às plantas, pois de acordo com Macedo et al (1999), em determinadas situações a junção de culturas probióticas pode ser muito desvantajosa para algumas cepas.

De Valdez e De Giori (1993) descrevem neste sentido, relatando que diversos estudos tem apontado para o fato de que a presença de *Streptococcus thermophilus* pode, em certas situações, ser prejudicial para o *Lactobacillus acidophilus*. Assim sendo, a ausência de efeitos positivos no sistema radicular do *P. trifoliata* com a aplicação do EMN pode estar associada a concomitante presença do *Streptococcus thermophilus* e do *Lactobacillus acidophilus* na sua composição (Tabela 2), visto que o EM1® (Tabela 1) continha *Lactobacillus acidophilus* e não apresentou na sua composição *Streptococcus thermophilus*.

Apesar de haverem evidências apontando para que os efeitos no sistema radicular dos porta-enxertos *P. trifoliata* deste trabalho estejam relacionados a ação de bactérias ácido lácticas, Murthy et al (2012) alertam para a escassez de estudos envolvendo o uso de bactérias ácido lácticas em plantas e o efeito destas na promoção de crescimento e no controle de patógenos. Giassi et al (2015) também corroboram neste sentido, atentando para a dificuldade em se elucidar os efeitos de bactérias ácido lácticas nas plantas, devido à alta

complexidade de interações entre os microrganismos presentes no solo ou substrato de cultivo.

Uma vez que a tecnologia de produção caseira do EMN não contempla um procedimento mais avançado de isolamento de colônias, pois a triagem no momento da captura é realizada de forma visual e manual, selecionando-se as porções da isca de arroz por meio da diferenciação por cores, microrganismos indesejados podem com certa facilidade serem introduzidos no meio de cultura e multiplicados juntamente com os microrganismos desejados, comprometendo assim a atuação dos microrganismos de ação benéfica para as plantas.

Além do *Streptococcus thermophilus*, já anteriormente mencionado, também identificou-se no EMN a presença de outras bactérias que podem ser consideradas indesejáveis em cultivos agrícolas, dentre elas e em grande quantidade espécies do gênero *Gluconobacter*, que segundo De Ley et al (1984) frequentemente estão associadas a podridão em plantas, com especial atenção para a espécie *Gluconobacter cerinus*, bactéria mais abundante no EMN (Tabela 2), e que segundo He et al (2017) trata-se de um patógeno vegetal muito conhecido na agricultura, desenvolvendo-se bem em ambientes ricos em açúcar, causando putrefação de tecidos vegetais e possuindo associação simbiótica com o *Bactrocera dorsalis* (mosca da fruta), influenciando positivamente na taxa de eclosão da mosca.

Importante destacar que o produto comercial EM1® apresentou somente duas espécies de bactérias, ambas ácido lácticas (Tabela 3), enquanto que o EMN (Tabela 2), apesar de possuir algumas espécies conhecidas por serem causadoras de moléstias nas plantas, apresentou uma diversidade muito maior de bactérias (Tabela 1), boa parte delas já conhecidas pelo seu efeito benéfico sobre as plantas e outras ainda sem estudos divulgados.

Dentre as bactérias encontradas no EMN com efeitos benéficos conhecidos para as plantas destacam-se: as do gênero *Methylophilus*, que segundo Madhaiyan et al (2009) compreendem um grupo de microrganismos capazes de exercer efeito promotor de crescimento em plantas e de metabolizar uma ampla gama de compostos de carbono; a *Sphingomonas melonis*, que segundo os supracitados autores consistem de bactérias comumente encontradas em solos da rizosfera, estando fortemente associadas aos processos de decomposição da matéria orgânica, utilizando o amido e a glicose como principais fontes de carbono; e as bactérias do gênero *Pseudomonas*, descritas por Ramachandran et al (2007)

como um grupo com grande capacidade de solubilização e disponibilização de fósforo (P) para as plantas.

A *Variovorax paradoxos*, proteobactéria que possui a capacidade de metabolizar uma ampla variedade de compostos orgânicos, também é uma espécie de interesse na agricultura identificada no EMN utilizado para este estudo. Segundo Belimov et al (2007, 2015), indiferentemente da carga bacteriana, a *V. paradoxos* tem sido identificada como promotora de crescimento de raízes nas culturas do tomate e da batata. Calvo-Polanco et al (2016) relatam que além de apresentar respostas positivas ao crescimento das plantas, a *V. paradoxos* também costuma apresentar bons níveis de colonização radicular.

Assim sendo, mesmo embora o EMN contemple uma ampla variedade de bactérias conhecidas por seus efeitos favoráveis para as plantas, acredita-se que o arranjo final envolvendo a grande diversidade microbiana tenha feito com que as bactérias benéficas não conseguissem expressar seu potencial no sistema radicular das plantas de *P. trifoliata*.

O entendimento acima pode, em certa medida, ser confirmado por Giassi et al (2016). Os autores estudaram o efeito na solubilização de fósforo (P) e na fixação de nitrogênio (N) de 11 isolados de *Bacillus* spp., 11 actinobactérias e 8 bactérias ácido lácticas em 4 diferentes porta-enxertos de citros, observando que as diferentes cepas quando aplicadas de forma isolada foram eficientes em incrementar o crescimento das plantas, contudo, quando as cepas foram aplicadas misturadas não ocorreram os mesmos resultados. Ainda segundo os autores, o observado pode estar associado aos diferentes mecanismos de ação de cada bactéria ou à ocorrência de competição entre os microrganismos da mistura.

Além de bactérias, a composição microbiana dos inoculantes EMN e EM1® contempla fungos. O EM1® apresentou em sua formulação unicamente a levedura *Saccharomyces Cerevisae* (Tabela 3), espécie conhecida e documentada por seus efeitos benéficos as plantas. O EMN apresentou 4 espécies fúngicas: *Zygorulaspora florentina*, *Pichia nakasei*, *Hanseniaspora uvarum* e *Mortierella* sp (Tabela 1).

Segundo Siqueira e Siqueira (2013), a espécie mais comum em preparados a base de EM caseiros é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, todavia, de acordo com os resultados da análise laboratorial do EMN utilizado para este estudo (Tabela 1), não foi possível identificar espécies do gênero *Saccharomyces*, as quais são comuns em processos fermentativos, abundantes e de relativa facilidade de multiplicação. Tal ausência se deve, muito provavelmente, a constatada presença dos fungos *Zygorulaspora florentina*, *Pichia nakasei*, *Hanseniaspora uvarum* e *Mortierella* sp., no EMN, pois de acordo com Fleet

(2003), durante os processos fermentativos, leveduras *Saccharomyces* e não *Saccharomyces* costumam não coexistir passivamente.

O entendimento acima exposto também pode ser corroborado por Lencioni et al (2016), os quais constataram que durante o processo fermentativo do mosto de vinho, a presença de *Zygorulasporea florentina* resultou em crescimento mais lento de *S. cerevisiae*. Os autores atribuíram o fato à competição por nutrientes e à produção de alguns compostos inibidores pela *Z. florentina*.

Espécies do gênero *Pichia*, presentes no EMN, também são descritas na literatura como incompatíveis com a *S. cerevisiae*. Pretorius (2000) e Fleet (2003) citam espécies do gênero *Pichia* como sendo leveduras de ocorrência natural nos solos e ocasionais e indesejáveis em processos fermentativos de vinhos.

Deste modo, outra possibilidade para a não observação de incrementos estatisticamente significativos no sistema radicular das plantas de *P. trifoliata* tratadas com EMN também pode estar relacionado a ausência da *Sacharomyces cerevisiae* no preparado, uma levedura com grande potencial para o controle biológico de patologias vegetais, por meio da indução de resistência nas plantas. O potencial das leveduras do gênero *Sacharomyces* como indutores de resistência e controle biológico de patologias em vegetais ocorre por meio do estímulo a produção e acúmulo de fitoalexinas, uma barreira química fungitóxica, sintetizada pelas plantas quando do ataque ou contato aos seus tecidos por microrganismos causadores de moléstias (BRAGA; DIETRICH, 1987; WULFF; PASCHOLATI, 1999; STANGARLIN et al., 2010;).

Apesar de antagônica à *Sacharomyces cerevisiae*, a espécie *Pichia nakasei* presente no EMN também possui efeitos benéficos para plantas. Nally et al (2013) estudou o efeito de diversas espécies de leveduras no controle de fungos causadores de patogenicidade em videiras, dentre elas as do gênero *Sacharomyces* e *Pichia*, identificando que ambas possuem potencial inibidor de crescimento em fungos patogênicos.

Segundo Platania et al (2012) a produção de proteínas tóxicas parece ser uma característica generalizada de espécies de leveduras de diferentes gêneros, incluindo *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Kluyveromyces* e *Pichia*. Segundo os autores, na *Sacharomyces cerevisiae*, por exemplo, é possível identificar claramente pelo menos três tipos de toxinas diferentes com potencial fungicida sobre o *Penicillium digitatum*, agente causador da podridão dos citros.

Se analisarmos unicamente a diversidade de fungos existentes nos tratamentos e considerarmos o fato de não terem sido encontradas na literatura relatos de danos em cultivos agrícolas de nenhuma das espécies de fungos presentes no EMN, pode-se inferir que a *Sacharomyces cerevisaea* tenha sido a responsável pelo EM1® ter apresentado incrementos no sistema radicular das plantas.

Entretanto, se considerarmos o contexto geral, é possível admitir também os efeitos do EM1® no sistema radicular pivotante das plantas de *P. trifoliata* esteja relacionada ao reduzido número de espécies de microrganismos como um todo (fungos e bactérias) existentes em sua composição. Como não foi possível encontrar na literatura relatos de antagonismos ou competição entre as espécies existentes no EM1® (*Sacharomyces cerevisae*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei*), acredita-se que tais microrganismos puderam expressar a sua máxima capacidade, tanto na etapa da ativação microbiana quanto no período pós aplicação.

Ainda que o EMN não tenha apresentado resultados estatisticamente significativos nas variáveis analisadas do sistema radicular das plantas do *P. trifoliata* é extremamente importante destacar que ambos os tratamentos, EMN e EM1®, foram igualmente eficientes em incrementar o desenvolvimento do caule das plantas na altura do ponto de enxertia (Figura 6A), uma das principais características observadas por produtores de mudas cítricas, pois constitui-se em fator limitante para a realização da enxertia. Neste sentido, se considerarmos a relativa facilidade e baixo custo com que preparados caseiros a base de EM podem ser obtidos quando comparado com o produto comercial EM1®, tem-se que o EMN pode ser considerado um importante aliado para a produção de mudas cítricas a partir do porta-enxerto *P. trifoliata*.

CONCLUSÕES

O inoculante a base de microrganismos eficientes oriundos da tecnologia caseira de captura e multiplicação, microrganismos eficientes nativos (EMN), apresentou maior diversidade microbiana quando comparado com o produto comercial EM1®.

O produto comercial EM1® causou aumento no crescimento das raízes de primeira ordem do porta-enxerto *Poncirus trifoliata*.

O preparado caseiro a base de microrganismos eficientes nativos (EMN) e o produto comercial EM1® incrementaram o diâmetro do caule do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* na altura do ponto de enxertia.

CAPÍTULO 3

EFEITOS DO USO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE LARANJA VALÊNCIA (*Citrus sinensis*) E TANGOR MURCOTT (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*)

RESUMO

A dupla aptidão dos frutos, consumo *in natura* e suco, aliada a moderada resistência das plantas a situações de baixas temperaturas fazem da variedade de laranja Valência (*Citrus sinensis*) a mais cultivada no Rio Grande do Sul. Assim como a laranja Valência, o híbrido tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*) também possui frutos com dupla aptidão. Este híbrido de tangor tem ocupado cada vez mais espaço nas áreas de cultivo destinadas a citros, impulsionado principalmente pela boa aceitação dos frutos perante o mercado consumidor. Afim de manter altas produtividades, a cadeia produtiva citrícola brasileira tem feito ao longo do tempo o uso de crescentes quantidades de fertilizantes sintéticos e agrotóxicos, fato esse que vem comprometendo a sustentabilidade econômica e ambiental das unidades produtivas. Dentre as possibilidades existentes para melhorar o desenvolvimento das plantas cítricas e minimizar o uso de insumos externos a propriedade rural tem-se o uso de tecnologias alternativas como os Microrganismos Eficientes (EM). Estudos tem demonstrado que o uso de EM em cultivos agrícolas pode trazer inúmeros benefícios para as unidades de produção, favorecendo o crescimento e a produção das plantas. O presente trabalho tem como objetivo principal avaliar o efeito do uso de Microrganismos Eficientes Nativos (EMN) e do produto comercial EM1® em plantas jovens de laranja Valência e tangor Murcott. Considerando a intrínseca relação entre matéria orgânica e microrganismos de solo, objetivou-se também verificar a influência dos inoculantes EMN e EM1® na persistência das colunas de palha de aveia e pousio associadas as culturas da laranja Valência e do Tangor Murcott. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim/RS. O delineamento experimental utilizado para cada cultura foi o inteiramente casualizado (DIC), com esquema fatorial 3x2. O primeiro fator se refere aos 3 (três) tratamentos: produto comercial EM1®; EMN e controle. O segundo fator é composto por 2 (duas) situações de cobertura morta, uma com palha de aveia (*Avena sativa*) e outra com palha oriunda de vegetação espontânea (pousio). Foram utilizadas 5 (cinco) repetições por tratamento e 1 (uma) planta por unidade experimental. As dosagens utilizadas tanto para o EM1® quanto para o EMN foram de 16,65 l/ha de inoculante ativado. Os inoculantes microbianos EM1® e EMN não comprometeram o tempo de permanência das colunas de palha de aveia e pousio dispostas sobre o solo cultivado com as culturas da laranja Valência e do tangor Murcott. Incrementos nas variáveis diâmetro de caule e altura de planta, causados pelos tratamentos EM1® e EMN nas plantas jovens de laranja Valência e tangor Murcott, foram verificados até 240 dias após o plantio das mudas. Os incrementos na massa seca das plantas de laranja Valência e tangor Murcott verificados neste estudo, indicam que efeitos positivos decorrentes do uso de inóculos a base de EM1® e EMN poderão ser obtidos mediante o cultivo das respectivas plantas cítricas em sistema com cobertura de palhada de aveia.

PALAVRAS-CHAVE: Citros; plantas jovens; massa seca; palhada.

ABSTRACT

The use of fruits, in natura and juice, combined with the moderate resistance of the plants to low temperature situations, make the Valencia orange variety the most cultivated in Rio Grande do Sul. Like the Valencia orange, the Murcott tangor hybrid also has fruits with double aptitude. Murcott tangor hybrid has increased its cultivation in areas destined to citrus, driven mainly by the good acceptance of the fruits by the consumer market. In order to maintain high productivity, the Brazilian citrus production chain has used increasing amounts of synthetic pesticide and fertilizers, which has been compromising the economic and environmental sustainability of the production units. Among the existing possibilities to improve the development of citrus plants and minimize the use of external inputs in rural properties, the farmers can use alternative technologies such as Efficient Microorganisms (EM). Studies have shown that the use of EM in agricultural crops can bring many benefits, increasing plants growth and production. The present work has as main objective to evaluate the effect of Native Efficient Microorganisms (EMN) and the commercial product EM1® in young plants of Valencia orange and Murcott tangor. Considering the intrinsic relationship between organic matter and soil microorganisms, it was also aimed to verify the influence of EMN and EM1® inoculants on the persistence of oat and fallow straw columns associated with the Valencia orange and the Tangor Murcott. The experiment was carried out in a greenhouse, at the Federal University of Fronteira Sul, Campus Erechim / RS. The experimental design used was completely randomized (DIC), for each culture, in a scheme 3x2. The first factor refers to commercial product EM1®, EMN and control treatments. The second factor consists of 2 (two) mulch situations, one with oat straw (*Avena sativa*) and the other with straw from spontaneous vegetation (fallow). Five (5) repetitions per treatment and one (1) plant per experimental unit were used. The dosages used for both EM1® and EMN were 16.65 l/-ha of activated inoculant. The microbial inoculants EM1® and EMN did not harmed the permanence time of the oat straw and fallow straw columns disposed on the soil cultivated with Valencia orange and the Murcott tangor. Increments in plant height and stem diameter for both EM1® and EMN treatments were up to 240 days after planting Valencia orange and Murcott tangor seedlings. The increments in the dry matter of both cultivars verified in this study, indicate that positive effects resulting from the use of EM1® and EMN inoculants can be obtained through the cultivation of the respective citrus plants in a system with oat straw mulch.

KEYWORDS: Citrus; seedling; dry matter; cover straw.

INTRODUÇÃO

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos - USDA (2019), o Brasil é o maior produtor mundial citros, com destaque para as laranjas do grupo comum de dupla finalidade, consumo *in natura* e suco. Uma das variedades de maior importância deste grupo para produtores da região sul do Brasil é a laranja Valência (*Citrus sinensis*), com frutos de boa aceitação comercial e plantas com significativa tolerância a períodos de baixas temperaturas (SOUZA et al., 2010; MANJA; AOUN, 2019).

Em média, 90% da produção brasileira de suco de laranja é exportada, estando a União Europeia e os Estados Unidos entre os maiores compradores do suco de laranja brasileiro, oriundo principalmente do Estado São Paulo, o qual responde por 60% da área brasileira plantada e 74,5% do total da produção nacional (VIDAL, 2018).

No Rio Grande do Sul, o cultivo de laranjas encontra-se predominantemente em pequenas propriedades familiares, ocupando juntamente com as demais cultivares de citros cerca de 42 mil hectares de área plantada, movimentando financeiramente mais de 150 milhões de reais por ano, situação esta que não isenta o estado de importar a fruta para abastecer o mercado interno, tanto para a produção de suco quanto para o consumo *in natura* (DE OLIVEIRA; SCIVITTARO, 2003; EFROM; SOUZA, 2018).

Assim como a laranja Valência, o tangor Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*) também apresenta como importante característica a dupla aptidão dos frutos. O tangor Murcott é um híbrido que tem ganhado cada vez mais espaço em áreas de cultivo destinadas aos citros, uma vez que quando comparado com as variedades comerciais de laranja, inclusive a Valência, tem apresentado maior resistência ao “declínio dos citros” e a “clorose variegada dos citros” (CVC), moléstias que vem acometendo severamente as plantações de laranja (ROSSETTI, 2001; MATTOS JUNIOR et al., 2004).

Em adequadas condições de clima e solo, as plantas de citros começam a produzir a partir do terceiro ano de idade, aumentando a produção gradativamente até o décimo ano, quando então a produção tende a se estabilizar e se manter até o vigésimo ano, momento a partir do qual a produção entra em declínio (MATTOS JUNIOR et al., 2005a). De acordo com Koller (2013), um dos principais fatores limitantes da produção dos citros em pomares novos é o porte das plantas, as quais deverão ter estrutura vegetativa aérea e radicular adequadas para suportar a produção de frutos já nos primeiros anos de vida.

De modo a antecipar o retorno decorrente da implantação dos pomares citrícolas, o setor tem adotado ao longo do tempo o uso crescente de significativas quantidades de adubos químicos e agrotóxicos. Tais práticas tem comprometido a sustentabilidade das unidades produtivas, aumentando a dependência dos citricultores por insumos externos, diminuindo os lucros e causando graves problemas ambientais.

Dentre as possibilidades existentes para reduzir o uso de insumos agrícolas externos a propriedade rural e aumentar a lucratividade dos pomares cítricos tem-se a inoculação de microrganismos eficientes (EM) nos ambientes de cultivo (PASCHOAL et al., 1993).

Segundo HUSSAIN et al (1999) e HIGA (2000), o uso de EM em áreas de cultivo permite incrementar de forma otimizada o desenvolvimento das plantas, melhorando as taxas de decomposição e liberação de nutrientes existentes na matéria orgânica presente no solo, além de fornecer proteção para as plantas contra o ataque de pragas e doenças.

Afim de se estabelecerem e se multiplicarem, os microrganismos presentes no solo metabolizam uma grande variedade de compostos para satisfazer suas demandas de carbono e energia, influenciando fortemente a dinâmica de acumulação e perda de matéria orgânica do solo (FREY et al., 2013; KARHU et al., 2014).

Considerando a importância socioeconômica da cadeia citrícola nacional e visando contribuir para uma maior sustentabilidade do setor, o presente trabalho tem como principal objetivo avaliar os efeitos do uso de microrganismos eficientes nativos (EMN) e do produto comercial EM1® em plantas jovens de laranja Valência e tangor Murcott sob situações de cobertura com palhadas de aveia (*Avena sativa*) e pousio (vegetação espontânea).

Considerando ainda que em culturas perenes como os citros o correto manejo da cobertura vegetal nas entrelinhas de cultivo é algo indispensável para a manutenção da produção e conservação do solo, bem como o fato de os microrganismos eficientes terem ação direta sobre a matéria orgânica presente no solo, objetivou-se também verificar a influência dos inoculantes EMN e EM1® na persistência das colunas de palha de aveia e pousio associadas aos cultivos da laranja Valência e do Tangor Murcott.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, nas dependências da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Erechim/RS, Brasil (27° 43' 37,97" S - 52° 17' 16,23" O). O município de Erechim localiza-se na região norte do Rio Grande do Sul, a uma altitude média de 783 metros, em Zona Temperada, com clima Subtropical Úmido e chuvas bem distribuídas ao longo do ano todo, com verões quentes e invernos frios (AYOADE, 2010; WREGEMS et al., 2013).

Captura, multiplicação e ativação do EMN e ativação do EM1®

Ver capítulo 3, item “Material e métodos”.

Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com tratamentos arranjos de forma independente para cada uma das culturas (Laranja Valência e tangor Murcott). O esquema fatorial para cada cultura cítrica foi de três por dois (3x2). O primeiro fator se refere aos 3 (três) tratamentos: produto comercial EM1®; microrganismos eficientes nativos (EMN); e controle (C). O segundo fator é composto por 2 (duas) situações de cobertura morta: palha de aveia (*Avena sativa*) e palha oriunda de pousio (vegetação espontânea). Foram utilizadas 5 (cinco) repetições por tratamento e 1 (uma) planta por unidade experimental.

Coleta e preparo do solo utilizado para o preenchimento dos vasos

O solo utilizado para o preenchimento dos vasos foi coletado na profundidade de 0 a 20 cm, nas dependências da área experimental da UFFS – Campus Erechim, em área próxima ao local de onde foram capturados os microrganismos eficientes nativos (EMN). O solo foi corrigido nutricionalmente 90 dias antes da coleta, com base em análise laboratorial de solo e nas recomendações de Silva et al (2016). A coleta do solo ocorreu no início do mês de agosto de 2019, sendo que 30 dias antes da coleta foi realizada a roçada da vegetação de

nabo e aveia existente sobre o solo a ser coletado, visando a prévia decomposição do sistema radicular.

Plantio e manejo das mudas

As mudas foram adquiridas do viveiro de mudas Mondini¹, localizado no município de Severiano de Almeida – RS. Foram utilizadas mudas isentas de pragas e doenças, em formato de “vareta”, com tronco único e vertical, com ponto de enxertia tratado com pasta bordalesa e bem cicatrizado, sistema radicular bem desenvolvido e sem raízes enoveladas, retorcidas ou quebradas (APÊNDICE F), conforme os padrões mínimos de qualidade para mudas cítricas sugerido por Da Silva et al (2004).

As mudas de laranja Valência foram propagadas pelo viveirista, acima mencionando, utilizando-se o porta-enxerto citrumelo Swingle (*Citrus paradisi* x *Poncirus trifoliata*) e as mudas do tangor Murcott utilizando-se o porta-enxerto tangerina Cleópatra (*Citrus reshni*).

O plantio das mudas ocorreu no dia 14 de agosto de 2019. Foram utilizados vasos com capacidade volumétrica de 25 litros, preenchidos até o limite de 10 cm abaixo da borda superior com uma mistura composta por 1 litro de cama de aviário curtido, 150 gramas de superfosfato simples e solo peneirado até completar o volume, seguindo-se a regra geral de plantio de citros proposta por Koller (2013) e a metodologia de adubação para citros cultivados em vasos utilizada por Soares et al (2015).

Imediatamente após o plantio, todas as mudas foram podadas na altura de 50 cm. De modo a formar a copa das plantas, assim que começaram a surgir as primeiras brotações da haste única (vareta da muda), foram selecionados três ramos, optando-se pelos mais vigorosos e convenientemente espaçados, distribuídos em espiral em torno da haste (APÊNDICES I, J, K e L). Todas as brotações que surgiram no tronco abaixo dos ramos selecionados para a formação da copa foram removidas a medida em que surgiam, inclusive as oriundas do porta-enxerto, conforme sugerido por LEDO et al (1997).

Demais aspectos técnicos referentes ao plantio, adubação em cobertura e manejo geral das plantas foram desenvolvidos observando-se as recomendações sugeridas por Souza et al. (2010) e Koller (2013).

¹ Razão Social - Citrícola Alto Uruguai; Renasem SC-00543/2007;

CNPJ:10.777.107/0001-02); responsável técnico Eng. Agr. Raulino Gabriel Herdt.

Coleta das palhadas e disposição sobre os vasos

As palhadas de Aveia (*Avena sativa*) e pousio (vegetação espontânea) foram colhidas nas dependências da área experimental da UFFS – Campus Erechim/RS. A palhada de pousio estava composta em sua maioria por Papuã (*Brachiaria plantaginea*) em final de ciclo. A escolha das espécies ocorreu levando em consideração o tempo médio de permanência das palhadas destas sobre o solo em condições naturais, que segundo Ferreira et al (1999) pode chegar a até 200 dias.

As palhadas foram colhidas em meados do mês de junho de 2019 e dispostas para secar a sombra. Antes do uso, de modo a facilitar a disposição sobre o vaso, as palhadas foram fragmentadas com o auxílio de um triturador de resíduos orgânicos (modelo TR-200, TRAPP, Jaraguá do Sul, Brasil) com diâmetro de peneira/saída de 5 cm.

Cada vaso recebeu uma camada de palha levemente compactada de 7 centímetros, disposta sobre a superfície do solo, procedimento este realizado imediatamente após o plantio das mudas (APÊNDICES F e G).

Dosagem e forma de aplicação

A aplicação dos tratamentos EM1® e EMN iniciou-se no dia 16 de agosto de 2019 e estendeu-se até o dia 14 de setembro de 2020, com frequência mensal e dosagem por aplicação, tanto para o EM1® quanto para o EMN, de 16,65 l/há de inoculante ativado².

Para a produção das caldas de aplicação, procedeu-se a mistura do EM1® ou do EMN, já ativados, em água, na proporção de 16,65/500, a mesma utilizada por Zydlik e Zydlik (2008).

A aplicação do EMN e do EM1® deu-se via pulverização direta sobre a cobertura de palha presente no vaso, utilizando-se um pulverizador manual com capacidade de 600 ml (Marca Guarany, Itu, Brasil) (APÊNDICE H). De modo a atender as recomendações de Andrade et al (2011), os quais orientam aplicar caldas contendo microrganismos eficientes preferencialmente após a ocorrência de chuvas, as aplicações foram sempre realizadas após um momento de irrigação.

² Recomendações de dosagem para os microrganismos eficiente nativos sugeridas por Leite e Meira (2017) e para o EM1® indicada pelo fabricante.

Coleta de dados

A evolução do crescimento do diâmetro do caule (DC) foi determinado a partir da mensuração do diâmetro do caule da planta na altura de 5 cm acima do ponto de enxertia, utilizando-se paquímetro digital e régua graduada. Considerando que não foi possível obter plantas com diâmetro do caule padronizado, foi realizada a mensuração inicial do diâmetro do caule de cada planta no momento do plantio, afim de que com as leituras mensais subsequentes fosse possível identificar os valores de incremento.

A evolução do crescimento da altura das plantas (AP) foi obtida pela mensuração da altura máxima das plantas, considerando-se do colo até o ápice, mensuração realizada com o auxílio de uma trena metálica. Uma vez que por meio da poda de formação realizada no momento do plantio foi possível padronizar a altura das plantas a 50 cm, as leituras para esta variável iniciaram aos 30 dias após o plantio (DAP), estendendo-se com frequência mensal.

A mensuração do decréscimo da coluna de palha foi realizada mensalmente com o auxílio de um paquímetro digital, uma régua e uma base acrílica de 2,5 cm x 10 cm. Para cada vaso (parcela) foram coletadas quatro leituras mensais em pontos preestabelecidos, distribuídos equidistantes sobre a superfície da palha presente no vaso.

A coleta das plantas para as análises laboratoriais foi realizada no dia 08 de outubro de 2020 aos 419 DAP, momento em que foram realizadas as seguintes análises:

- Determinação do número de folhas (NF), através da contagem manual do número total de folhas completamente formadas.
- Determinação do volume da copa (VC), por meio da expressão abaixo, proposta por Zekri et al (2000), aonde H é a altura da planta (AP), DL o diâmetro da copa na direção da linha e DE o diâmetro da copa na direção da entrelinha.

$$VC = \pi \left(\frac{\pi}{6} \right) x H x DL x DE$$

- Determinação da área foliar, realizada por meio da captura de imagem fotográfica das folhas e posterior processamento no software ImageJ (Processamento e Análise de Imagens em Java, v. 1.52d, EUA).
- Determinação do índice de área foliar (IAF), através da razão entre a área foliar total (ATF) de cada planta e a sua respectiva área de superfície ocupada (ASO).

$$ASO = \pi \left(\frac{DL+DE}{4} \right)^2$$

$$IAF = \frac{ATF}{ASO}$$

- Mensuração do diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC), procedimento realizado com o auxílio de um paquímetro digital.
- Para a obtenção dos valores referentes as variáveis área superficial total de raízes (ASTR, cm²) e volume total de raízes (VTR, cm³), foi realizada a remoção do substrato de cultivo das raízes por meio de lavagem com água, seguida da captura das imagens das raízes com uma câmera digital (13MP; 3264x1836px) e posterior processamento das imagens obtidas no software Safira v1.1 (Sistema de Análise de Fibras e Raízes, Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Paulo, Brasil).
- Os valores de Massa Seca (MS) foram obtidos através da colheita e secagem das estruturas vegetais, separando-se caule, folhas e raízes. A secagem ocorreu em estufa com temperatura de 65 °C e ventilação forçada até atingir peso constante. Os valores de massa seca de folhas (MSF) (g), massa seca de caule (MSC) (g) e massa seca de raiz (MSR) (g) foram obtidos diretamente por meio da pesagem das estruturas vegetais secas em balança semianalítica.
- A massa seca da parte aérea (MSPA) (g) foi obtida pela soma entre a MSF e a MSC.
- A massa seca total (MST) (g) foi obtida pela soma entre a MSPA e a MSR.

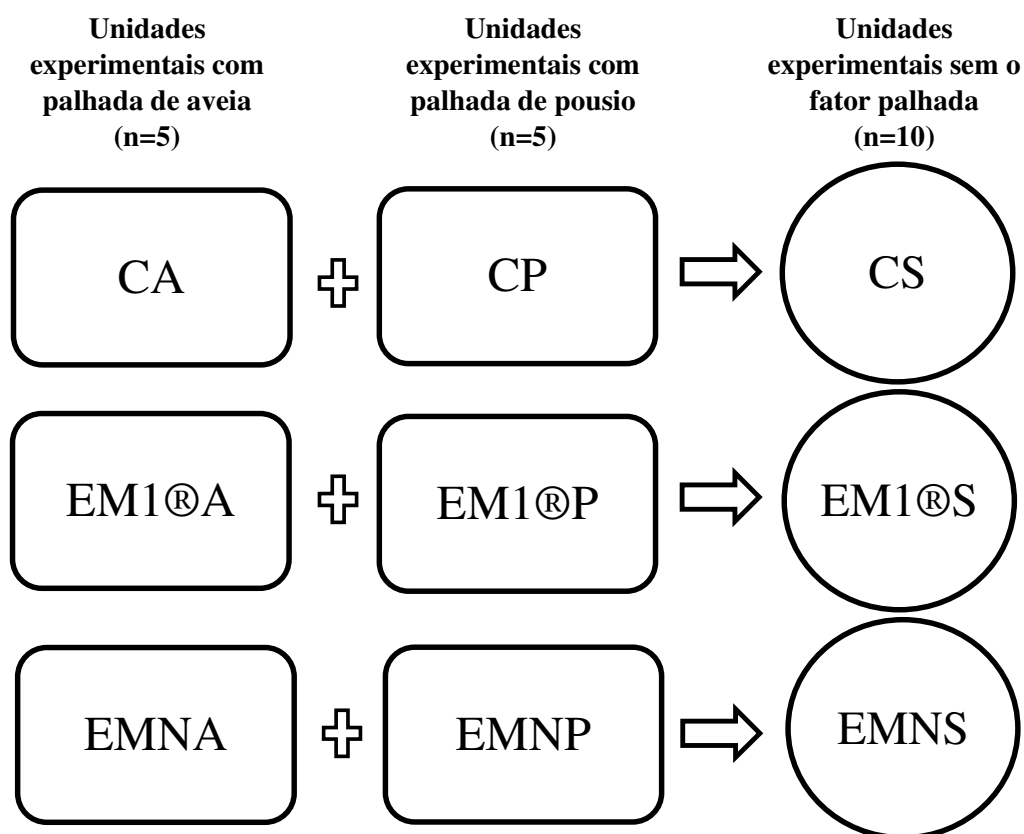
Análise estatística dos dados

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey, utilizando-se o software estatístico Past v. 3.24.

Para os valores obtidos aos 419 DAP com a análise das variáveis massa seca, morfologia da parte aérea e do sistema radicular das plantas de laranja Valência e tangor Murcott, realizou-se uma análise estatística adicional afim de desconsiderar o fator palhada das unidades experimentais. Para isto, tanto para o experimento envolvendo a cultura da laranja Valência quanto para o experimento envolvendo o tangor Murcott, realizou-se a junção das unidades experimentais da seguinte forma (representação gráfica na Figura 8): os tratamentos controle com palhada de aveia (CA) e controle com palhada de pousio (CP) foram considerados uma única unidade experimental, controle sem fator palhada (CS); os tratamentos produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A) e produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P) foram considerados outra única unidade experimental, EM1® sem fator palhada (EM1®S); e os tratamentos microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos

eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP) foram considerados outra única unidade experimental, EMN sem fator palhada (EMNS).

Figura 8 - Representação gráfica do procedimento realizado para, a partir das unidades experimentais controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), obter-se as unidades experimentais controle sem fator palhada (CS), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S) e microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS).



RESULTADOS

Evolução da persistência das colunas de palha

Aos 60 dias após o início das aplicações dos inoculantes EMN e EM1®, a análise da evolução mensal da persistência da coluna de palha (Tabela 4) demonstrou que todos os tratamentos envolvendo o uso do EMN (VEMNA, MEMNA, VEMNP e MEMNP), assim como os tratamentos contendo EM1® e palhada de aveia envolvendo ambas as culturas cítricas estudadas (VEM1®A e MEM1®A), apresentaram maior decréscimo da coluna de palha em comparação com os tratamentos sem a aplicação de quaisquer um dos inoculantes (VCA, MCA, VCP e MCP).

Os tratamentos laranja Valência com palhada de pousio sob aplicação de produto comercial EM1® (VEM1®P) e tangor Murcott com palhada de pousio sob aplicação de produto comercial EM1® (MEM1®P) não apresentaram diferenças com nenhum dos tratamentos mediante a análise da evolução mensal da persistência da coluna de palha (Tabela 4).

Aos 60 dias, o inoculante a base de microrganismos eficientes nativos (EMN) influenciou significativamente no decréscimo das colunas de palha de aveia e de pousio, em ambas as culturas estudadas (Tabela 4).

Exceto para os tratamentos VEM1®P e MEM1®P, os quais possuíam em comum a associação do produto comercial EM1® com palhada de pousio, todos os demais tratamentos contendo microrganismos eficientes (EM1® ou EMN) aceleraram o decréscimo da coluna de palha aos 60 dias após o início dos tratamentos (Tabela 4).

Diferentemente do EMN que acelerou o decréscimo das colunas de palha de aveia e pousio, o EM1® somente influenciou no decréscimo da coluna de palha de aveia.

Tabela 4 - Evolução mensal da persistência da coluna de palha de aveia e pousio (vegetação espontânea) avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após o início das aplicações dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Valores representam as médias ($n=5$), em centímetros (cm), do decréscimo mensal da coluna de palha sobre o vaso.

Tratamento*	Dias após o início da aplicação dos tratamentos							
	30	60	90	120	150	180	210	240
VCA	0,02 a**	0,48 b	0,46 a	0,86 a	0,62 a	1,04 a	0,50 a	0,60 a
MCA	0,00 a	0,52 b	0,48 a	0,74 a	0,78 a	1,08 a	0,50 a	0,52 a
VCP	0,02 a	0,48 b	0,44 a	0,84 a	0,68 a	0,92 a	0,66 a	0,56 a
MCP	0,06 a	0,51 b	0,49 a	0,68 a	0,80 a	1,08 a	0,62 a	0,58 a
VEM1®A	0,02 a	0,84 a	0,54 a	0,50 a	0,76 a	1,00 a	0,56 a	0,54 a
MEM1®A	0,00 a	0,85 a	0,57 a	0,48 a	0,64 a	0,86 a	0,50 a	0,52 a
VEM1®P	0,00 a	0,66 ab	0,50 a	0,68 a	0,84 a	1,04 a	0,48 a	0,52 a
MEM1®P	0,00 a	0,66 ab	0,56 a	0,76 a	0,78 a	0,94 a	0,58 a	0,54 a
VEMNA	0,02 a	0,86 a	0,46 a	0,62 a	0,92 a	0,96 a	0,56 a	0,58 a
MEMNA	0,02 a	0,84 a	0,54 a	0,60 a	0,58 a	0,96 a	0,48 a	0,56 a
VEMNP	0,08 a	0,85 a	0,44 a	0,66 a	0,82 a	1,02 a	0,58 a	0,52 a
MEMNP	0,02 a	0,83 a	0,56 a	0,46 a	0,72 a	0,94 a	0,58 a	0,50 a

* Tratamentos: laranja Valência com palhada de aveia (VCA), tangor Murcott com palhada de aveia (MCA), laranja Valência com palhada de pousio (VCP), tangor Murcott com palhada de pousio (MCP), laranja Valência com palhada de aveia sob aplicação de produto comercial EM1® (VEM1®A), tangor Murcott com palhada de aveia sob aplicação de produto comercial EM1® (MEM1®A), laranja Valência com palhada de pousio sob aplicação de produto comercial EM1® (VEM1®P), tangor Murcott com palhada de pousio sob aplicação de produto comercial EM1® (MEM1®P), laranja Valência com palhada de aveia sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (VEMNA), tangor Murcott com palhada de aveia sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (MEMNA), laranja Valência com palhada de pousio sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (VEMNP) e tangor Murcott com palhada de pousio sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (MEMNP).

** Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A evolução acumulada da persistência da coluna de palha analisada aos 90 dias (Tabela 5) demonstra que os tratamentos laranja Valência com palhada de aveia sob aplicação de produto comercial EM1® (VEM1®A), tangor Murcott com palhada de aveia sob aplicação de produto comercial EM1® (MEM1®A), tangor Murcott com palhada de aveia sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (MEMNA) e tangor Murcott com palhada de pousio sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (MEMNP) mantiveram as mesmas diferenças com os tratamentos sem microrganismos eficientes (VCA, MCA, VCP e MCP) verificadas aos 60 dias na análise da evolução mensal da coluna de palha (Tabela 4).

Com base na evolução acumulada da persistência da coluna de palhada aos 90 dias (Tabela 5), verificou-se que o EM1® somente acelerou o decréscimo da coluna de palhada de aveia, tanto para os vasos com plantas de laranja Valência quanto os vasos com o tangor Murcott, confirmando mais uma vez, assim como na análise da evolução mensal da persistência da coluna de palha (Tabela 4), a ineficiência do produto comercial EM1® em interferir na persistência da coluna de palha de pousio.

O EMN por sua vez, apesar de não demonstrar diferenças acumuladas aos 90 dias sob nenhuma das situações de palhada associadas a laranja valência (Tabela 5), manteve a versatilidade observada aos 60 dias com respeito aos tipos de palhadas, sustentando a influência sobre o decréscimo das colunas de palha de aveia e de pousio na cultura do tangor Murcott aos 90 dias.

Tabela 5 - Evolução acumulada da persistência da coluna de palha de aveia e pousio (vegetação espontânea) avaliados aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após o início das aplicações dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Valores representam as médias ($n=5$), em centímetros (cm), do decréscimo acumulado da coluna de palha sobre o vaso.

Tratamento*	Dias após o início da aplicação dos tratamentos							
	30	60	90	120	150	180	210	240
VCA	0,02 a**	0,50 b	0,96 c	1,82 a	2,44 a	3,48 a	3,98 a	4,58 a
MCA	0,00 a	0,52 b	1,00 bc	1,74 a	2,52 a	3,60 a	4,10 a	4,62 a
VCP	0,02 a	0,50 b	0,94 c	1,78 a	2,46 a	3,38 a	4,04 a	4,74 a
MCP	0,06 a	0,57 b	1,06 bc	1,74 a	2,54 a	3,62 a	4,24 a	4,82 a
VEM1®A	0,02 a	0,86 a	1,40 a	1,90 a	2,66 a	3,66 a	4,22 a	4,76 a
MEM1®A	0,00 a	0,85 a	1,42 a	1,90 a	2,54 a	3,40 a	3,90 a	4,42 a
VEM1®P	0,00 a	0,66 ab	1,16 ac	1,84 a	2,68 a	3,72 a	4,20 a	4,72 a
MEM1®P	0,00 a	0,66 ab	1,22 ac	1,98 a	2,76 a	3,70 a	4,28 a	4,82 a
VEMNA	0,02 a	0,88 a	1,34 ab	1,96 a	2,88 a	3,84 a	4,40 a	4,98 a
MEMNA	0,02 a	0,86 a	1,40 a	2,00 a	2,58 a	3,54 a	4,02 a	4,58 a
VEMNP	0,08 a	0,93 a	1,37 ab	2,03 a	2,85 a	3,87 a	4,45 a	4,97 a
MEMNP	0,02 a	0,85 a	1,41 a	1,87 a	2,59 a	3,53 a	4,11 a	4,61 a

* Tratamentos: laranja Valência com palhada de aveia (VCA), tangor Murcott com palhada de aveia (MCA), laranja Valência com palhada de pousio (VCP), tangor Murcott com palhada de pousio (MCP), laranja Valência com palhada de aveia sob aplicação de produto comercial EM1® (VEM1®A), tangor Murcott com palhada de aveia sob aplicação de produto comercial EM1® (MEM1®A), laranja Valência com palhada de pousio sob aplicação de produto comercial EM1® (VEM1®P), tangor Murcott com palhada de pousio sob aplicação de produto comercial EM1® (MEM1®P), laranja Valência com palhada de aveia sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (VEMNA), tangor Murcott com palhada de aveia sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (MEMNA), laranja Valência com palhada de pousio sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (VEMNP) e tangor Murcott com palhada de pousio sob aplicação de microrganismos eficientes nativos (MEMNP).

** Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

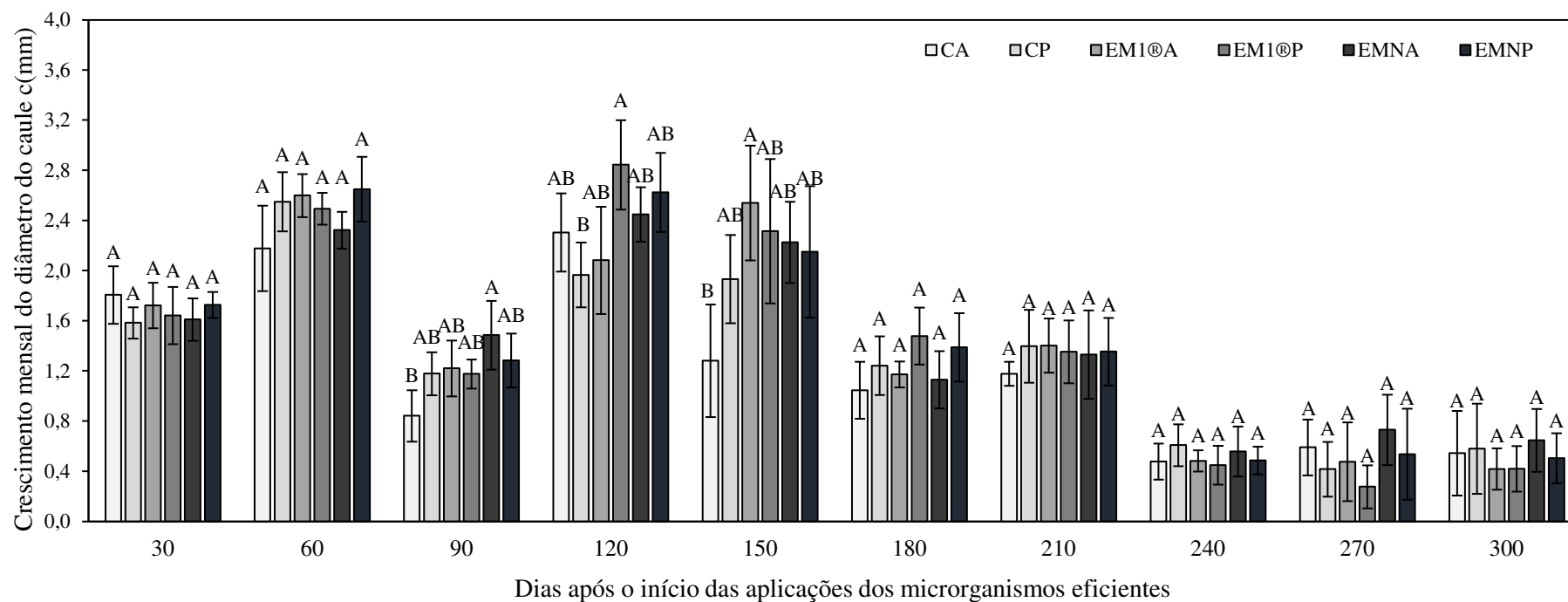
Evolução do crescimento do diâmetro do caule das plantas de laranja Valência e Tangor Murcott

A análise da evolução do crescimento mensal do diâmetro do caule da laranja Valência demonstrou que aos 90 dias o tratamento microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) apresentou crescimento superior ao tratamento controle com palhada de aveia (CA); aos 120 dias o tratamento produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P) apresentou crescimento mensal superior ao tratamento controle com palhada de pousio (CP); e aos 150 dias o tratamento produto comercial EM1® (EM1®A) apresentou crescimento mensal superior ao tratamento controle com palhada de aveia (CA) (Figura 9).

O tratamento EMNP foi o único tratamento com microrganismos eficientes que não apresentou quaisquer diferenças com os demais tratamentos na análise do crescimento mensal do diâmetro do caule da laranja Valência (Figura 9). O produto comercial EM1® apresentou resultados positivos no incremento mensal do diâmetro do caule da laranja Valência com 30 dias de antecedência quando associado a palhada de pousio em comparação com a associação com palha de aveia (Figura 9).

Dentre os tratamentos que apresentaram resultados significativos na análise mensal do crescimento do diâmetro do caule da laranja Valência, o EMN associado com palha de aveia foi o que apresentou resposta no crescimento do diâmetro do caule da laranja Valência em menor tempo, 30 dias antes do produto comercial EM1® associado com a palha de pousio e 60 dias antes do produto comercial EM1® associado com a palha de aveia (Figura 9).

Figura 9 - Crescimento mensal do diâmetro do caule da laranja Valência nas condições de tratamento controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em milímetros (mm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).



Diferentemente do verificado na análise da evolução do crescimento mensal do diâmetro do caule da laranja Valência, aonde pode-se constatar diferenças entre os tratamentos a partir dos 90 dias após o início das aplicações dos microrganismos eficientes (Figura 9), na análise da evolução acumulada do crescimento do diâmetro do caule da laranja Valência (Figura 10), somente foi possível verificar diferenças a partir dos 150 dias.

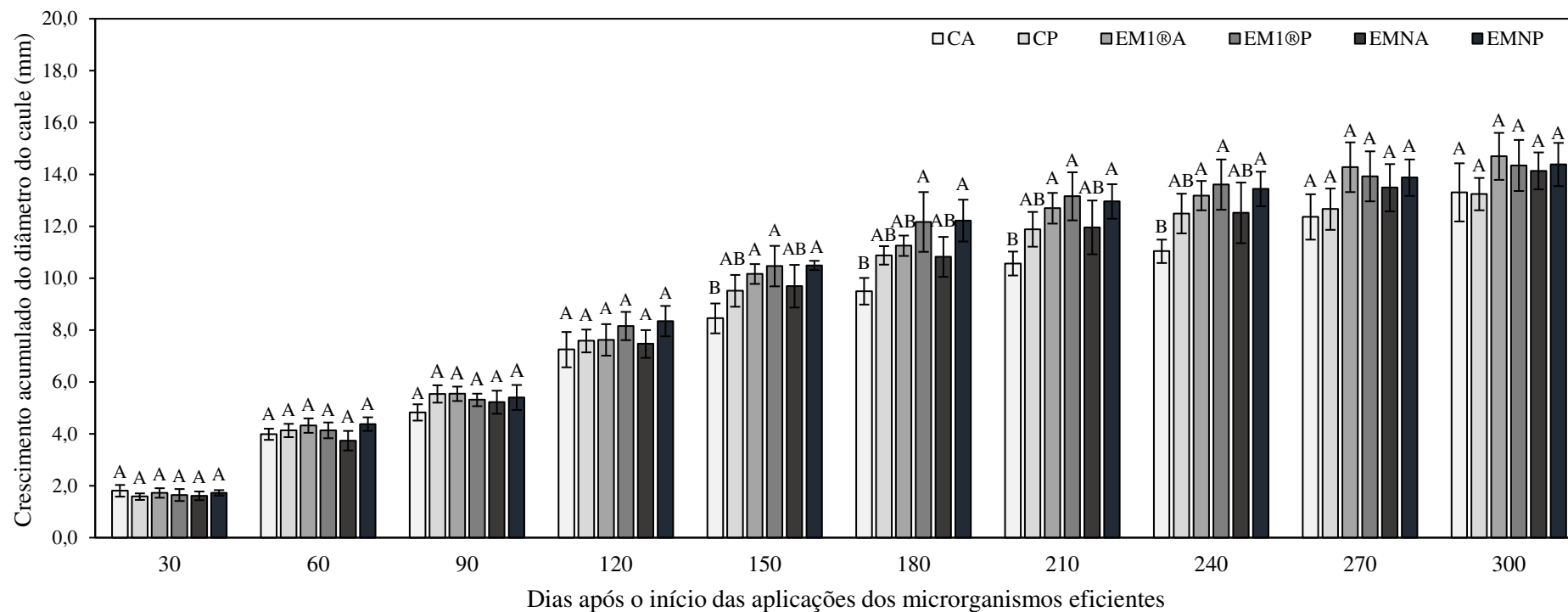
As plantas de laranja Valência submetidas aos tratamentos produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP) apresentaram maior crescimento acumulado do diâmetro do caule em comparação com o tratamento controle com palhada de aveia (CA), demonstrando diferenças a partir dos 150 dias e mantendo-as até os 240 dias (Figura 10).

Ao se analisar os incrementos mensais do crescimento do diâmetro do caule da laranja Valência (Figura 10), percebe-se que o tratamento microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP) não apresentou diferenças com os demais em nenhum dos períodos avaliados, todavia, ao se verificar os valores acumulados de crescimento do diâmetro do caule, percebe-se que este passou a apresentar diferenças significativas com o tratamento controle com palhada de aveia (CA) aos 150 dias e as manteve até os 240 dias (Figura 10).

O tratamento microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) apresentou-se superior ao tratamento controle com palhada de aveia (CA) na análise mensal do crescimento do diâmetro do caule da laranja Valência aos 90 dias (Figura 9), entretanto, não apresentou diferenças com nenhum dos tratamentos em nenhum dos períodos de tempo na análise acumulada de crescimento do diâmetro do caule (Figura 10).

Ao se analisar os valores acumulados de crescimento do diâmetro do caule da laranja Valência (Figura 10), percebe-se que ambos os inoculantes apresentaram em geral um melhor efeito quando associados com a palhada de pousio e em comparação com o tratamento controle com palhada de aveia (CA).

Figura 10 - Evolução acumulada do crescimento do diâmetro do caule da laranja Valência nas condições de controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em milímetros (mm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n=5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).



Quando associado com palhada de pousio, o produto comercial EM1® apresentou resultados positivos no crescimento mensal do diâmetro do caule do tangor Murcott 60 dias antes do que quando associado com palhada de aveia (Figura 11).

A análise da evolução acumulada do crescimento do diâmetro do caule do tangor Murcott (Figura 12), demonstrou que unicamente aos 150 dias os tratamentos produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A) e produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P) apresentaram-se superiores ao tratamento controle com palhada de aveia (CA).

Figura 11 - Crescimento mensal do diâmetro do caule do tangor Murcott nas condições de tratamento controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em milímetros (mm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

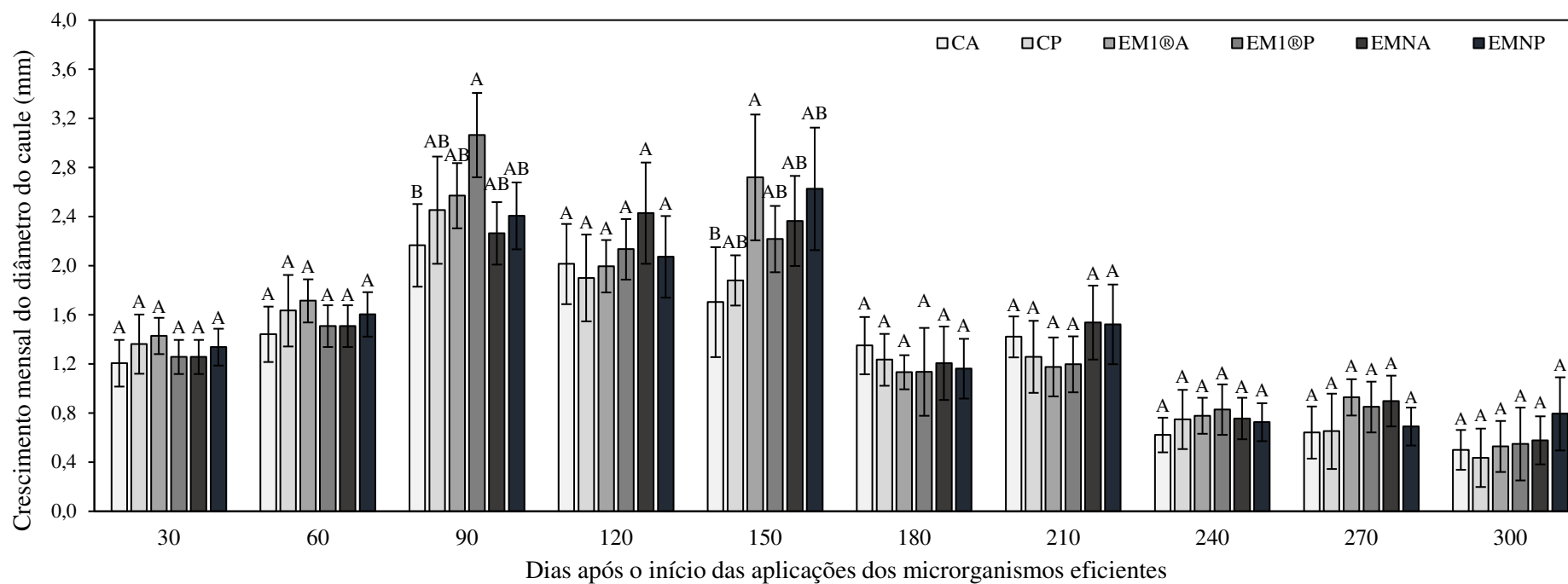
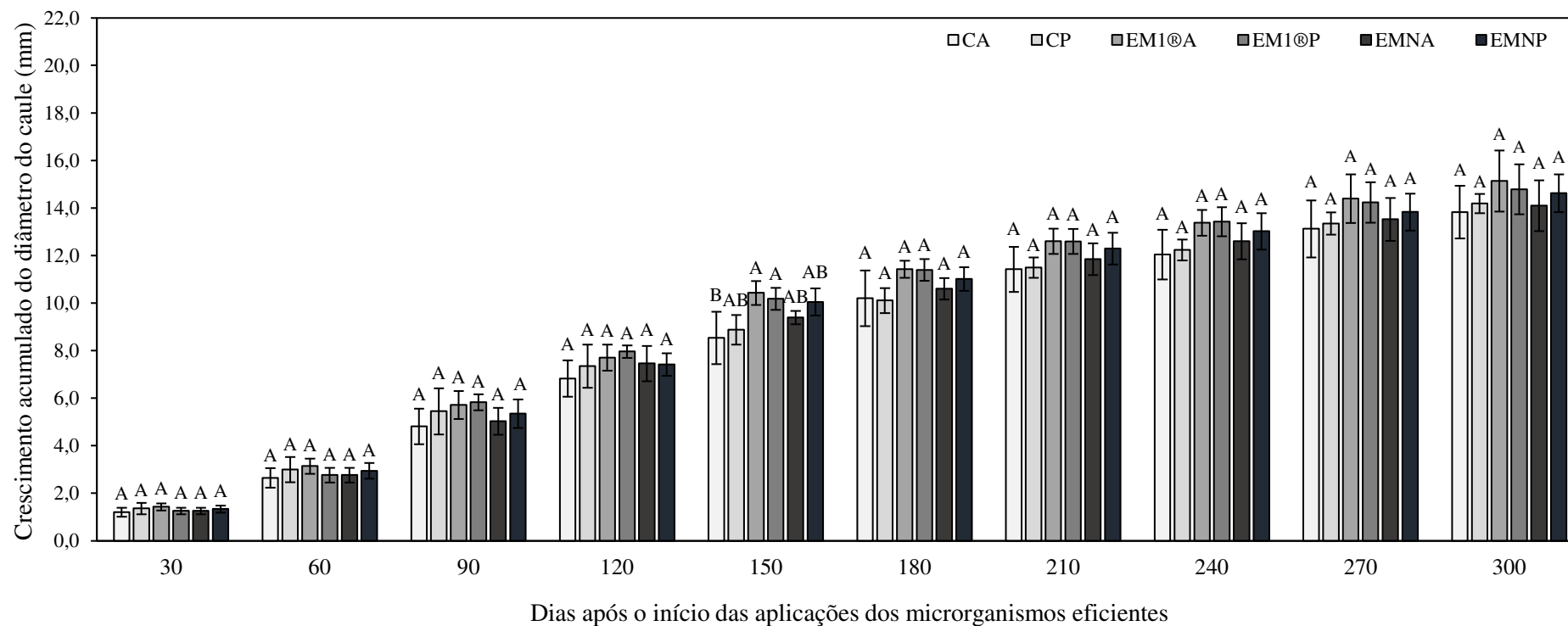


Figura 12 - Evolução acumulada do crescimento do diâmetro do caule do tangor Murcott nas condições de controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicações dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em milímetros (mm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n=5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



De modo geral, com base na análise do crescimento mensal do diâmetro do caule das plantas de laranja Valência e tangor Murcott (Figuras 9 e 11), ainda que nenhum dos tratamentos com microrganismos eficientes tenha influenciado no crescimento do diâmetro do caule do tangor Murcott aos 90 dias, percebe-se uma concentração dos efeitos dos microrganismos eficientes no diâmetro do caule no período entre os 90 e 150 dias após o início dos tratamentos.

Uma maior consistência do produto comercial EM1® foi observado aos 150 dias, considerando o crescimento acumulado do diâmetro do caule de ambas as culturas (Figuras 10 e 12), aonde foi possível perceber que o produto comercial EM1® associado a ambas as culturas e coberturas de palha foi superior às situações em que as culturas (laranja Valência ou tangor Murcott) estavam sujeitas a cobertura de palha de aveia sem a aplicação de microrganismos eficientes.

Uma maior capacidade de resposta dos tratamentos EM1® e EMN na cultura da laranja Valência, frente ao tangor Murcott, pode ser constatada ao se analisar o crescimento acumulado do diâmetro do caule da laranja Valência e do tangor Murcott (respectivamente figuras 10 e 12), aonde percebe-se que o tangor Murcott (Figura 12) somente demonstrou respostas ao EM1® aos 150 dias, enquanto que a laranja Valência (Figura 10) começou a apresentar resultados significativos aos 150 dias, tanto para o EM1® quanto para o EMN, mantendo-os de modo geral até os 240 dias.

Evolução do crescimento em altura das plantas de laranja Valência e tangor Murcott

As plantas de laranja Valência submetidas aos tratamentos produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A) e microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) apresentaram crescimentos acumulados superiores aos tratamentos controle com palhada de aveia (CA) e controle com palhada de pousio (CP) dos 180 aos 210 dias após o início dos tratamentos (Figura 13). Para os demais tratamentos e períodos de tempo avaliados não houveram diferenças entre os tratamentos na variável altura das plantas de laranja Valência (Figura 13).

Tanto o produto comercial EM1® quanto o EMN quando associados com palhada de aveia foram superiores em incrementar a altura das plantas de laranja Valência em comparação com os tratamentos sem microrganismos eficientes dos 180 aos 240 dias (Figura 13).

O crescimento em altura das plantas do tangor Murcott submetidas ao tratamento microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP) apresentou-se superior ao tratamento controle com palhada de aveia (CA) aos 180 dias (Figura 14). Para os demais

tratamentos e períodos de tempo avaliados não houveram diferenças na altura das plantas do tangor Murcott (Figura 14).

Figura 13 - Evolução do crescimento em altura das plantas de laranja Valência nas condições de tratamento controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em centímetros (cm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

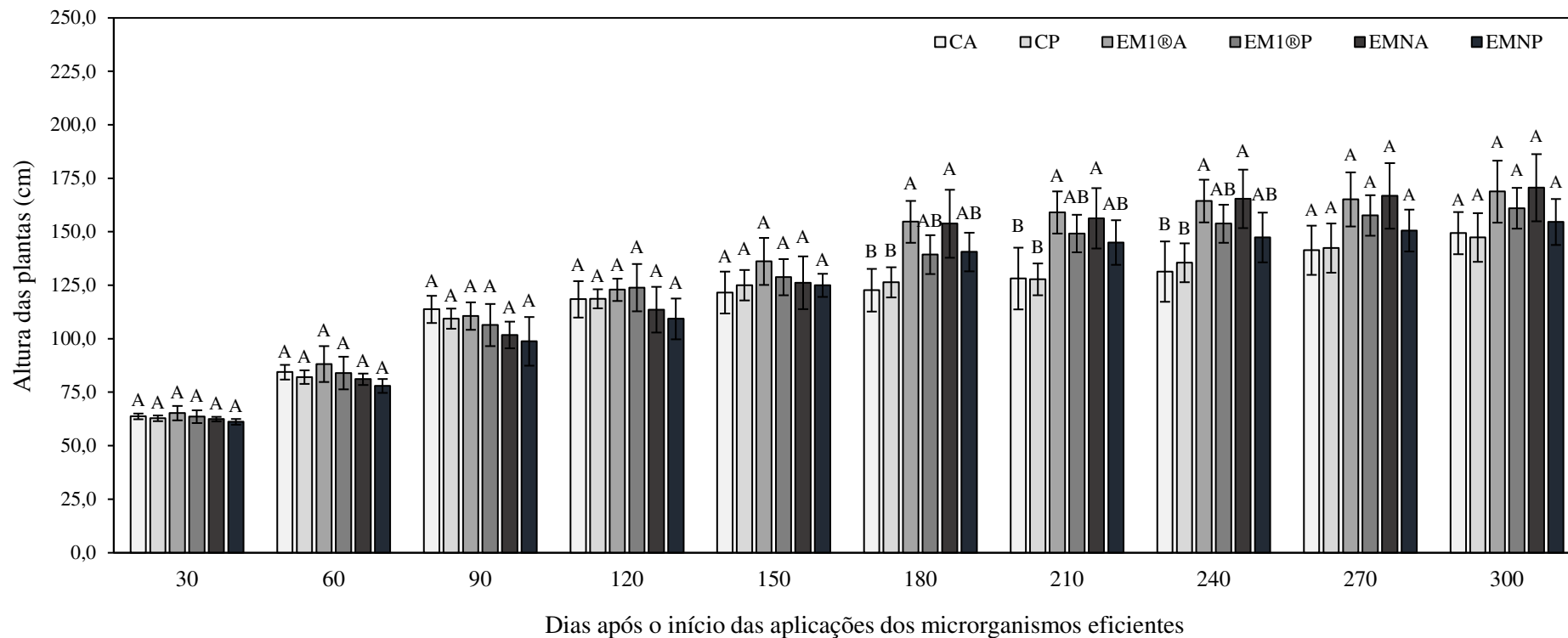
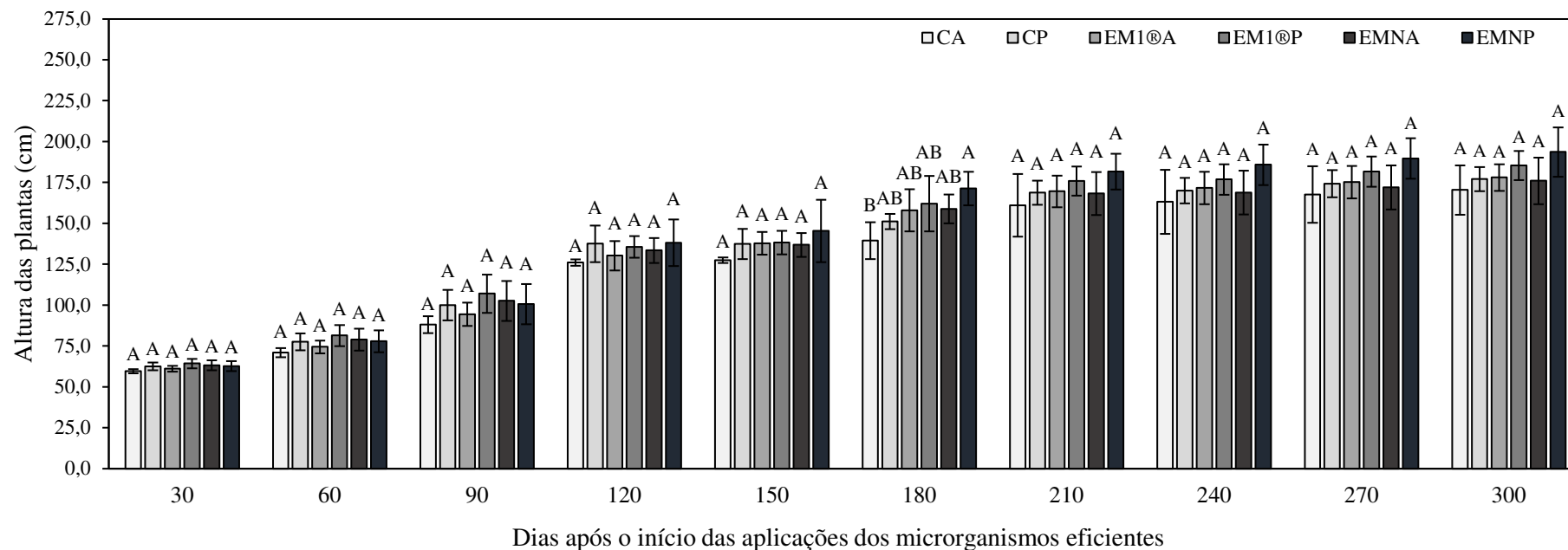


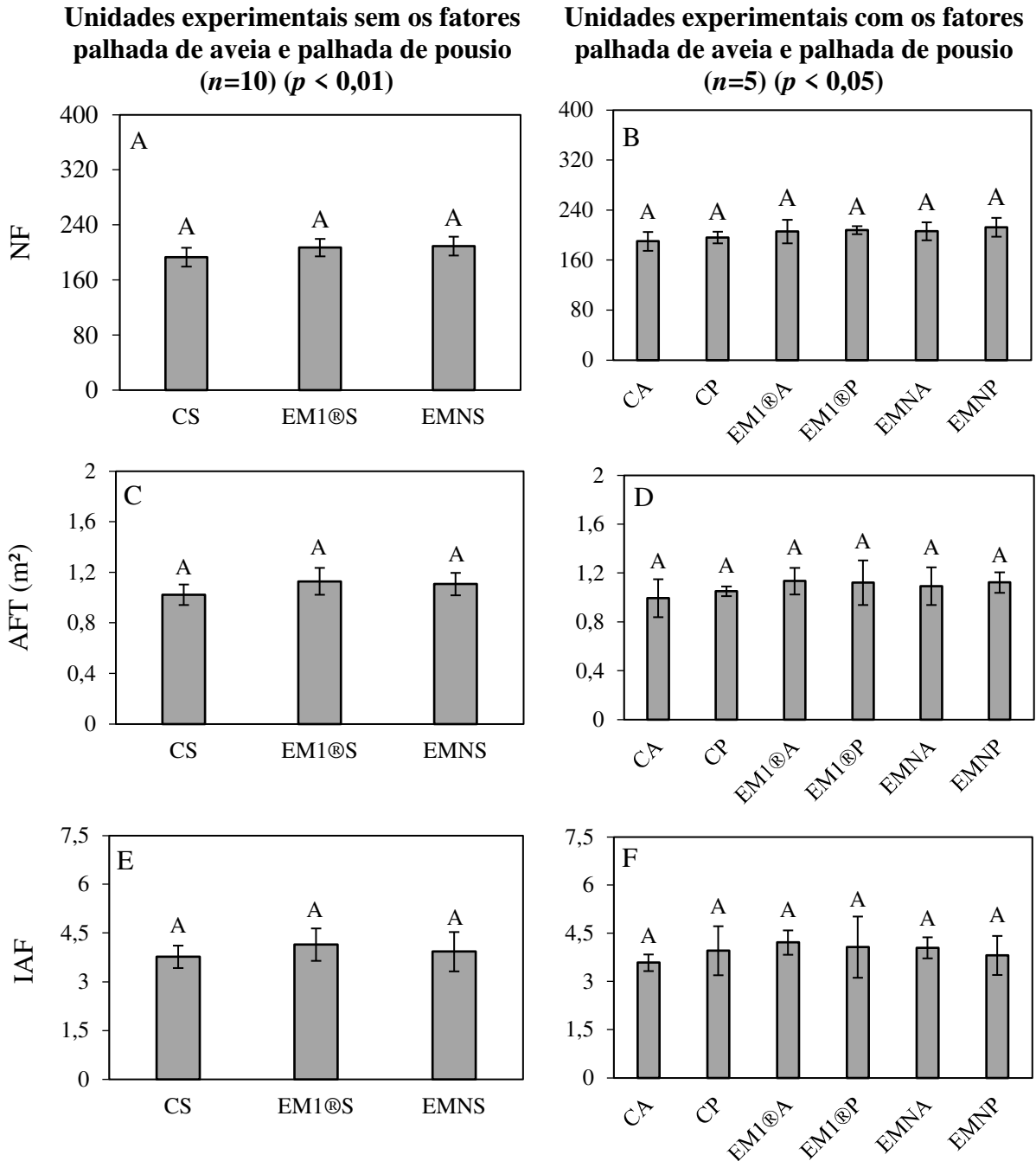
Figura 14 - Evolução do crescimento em altura das plantas do tangor Murcott nas condições de tratamento controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 dias após o início das aplicação dos microrganismos eficientes (EM1® e EMN). Barras representam as médias, em centímetros (cm), do crescimento mensal do diâmetro do caule ($n = 5$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).



Massa seca, morfologia da parte aérea e do sistema radicular das plantas de laranja Valência

Para as plantas de laranja Valência, não foram identificadas diferenças entre os tratamentos EM1® e EMN nas variáveis número de folhas (NF) (Figuras 15A e 15B), área foliar total (AFT) (Figura 15C e 15D) e índice de área foliar (IAF) (Figuras 15E e 15F).

Figura 15 - Número de folhas (NF) [A, B], área foliar total (AFT) [C, D] e índice de área foliar (IAF) [E, F] das plantas da laranja Valência submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey.



O volume de copa (VC) das plantas de laranja Valência não foi influenciado por nenhum dos tratamentos (Figuras 16A e 16B).

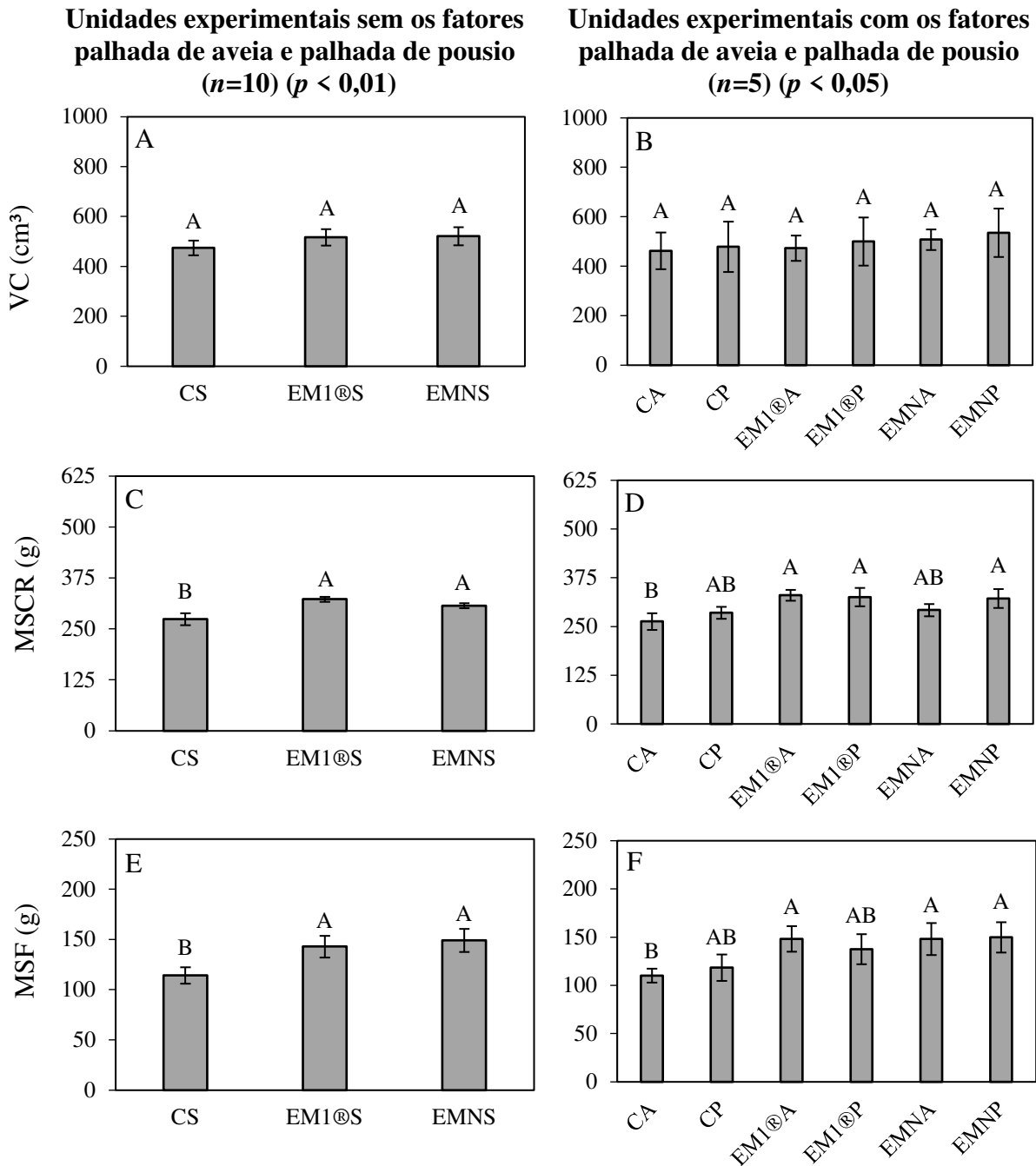
Os valores obtidos para massa seca do caule e ramos (MSCR) das plantas de laranja Valência utilizando-se as unidades experimentais arranjadas de forma a desconsiderar o fator palhada (Figura 16C), demonstraram que os tratamentos EM1® sem fator palhada (EM1®S) e EMN sem fator palhada (EMNS) foram, respectivamente, 17% e 12% superiores ao tratamento controle sem fator palhada (CS).

Entretanto, ao se analisar a MSCR das plantas de laranja Valência considerando o fator palhada (Figura 16D), percebe-se que os incrementos significativos se encontram nas unidades experimentais EM1® com palhada de aveia (EM1®A), EM1® com palhada de pousio (EM1®P) e EMN com palhada de pousio (EMNP), os quais são, respectivamente, 25%, 23% e 22% superiores ao tratamento controle com palhada de aveia (CA).

Assim como ocorreu para a MSCR, para a variável massa seca das folhas (MSF) os tratamentos EM1® sem fator palhada (EM1®S) e EMN sem fator palhada (EMNS) também se mostraram superiores ao tratamento controle sem fator palhada (CS) (Figura 16E), com incrementos respectivos de 16% e 14%.

Com respeito a MSF, ao se analisar as unidades experimentais considerando o fator palhada (Figura 16E), identifica-se que os resultados se concentram nos tratamentos EM1® com palhada de aveia (EM1®A), EMN com palhada de aveia (EMNA) e EMN com palhada de pousio (EMNP), os quais foram respectivamente 25%, 25% e 26% superiores ao tratamento controle com palhada de aveia (CA).

Figura 16 - Volume de copa (VC) [A, B], massa seca do caule e ramos (MSCR) [C, D] e massa seca das folhas (MSF) [E, F] das plantas da laranja Valência submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey.

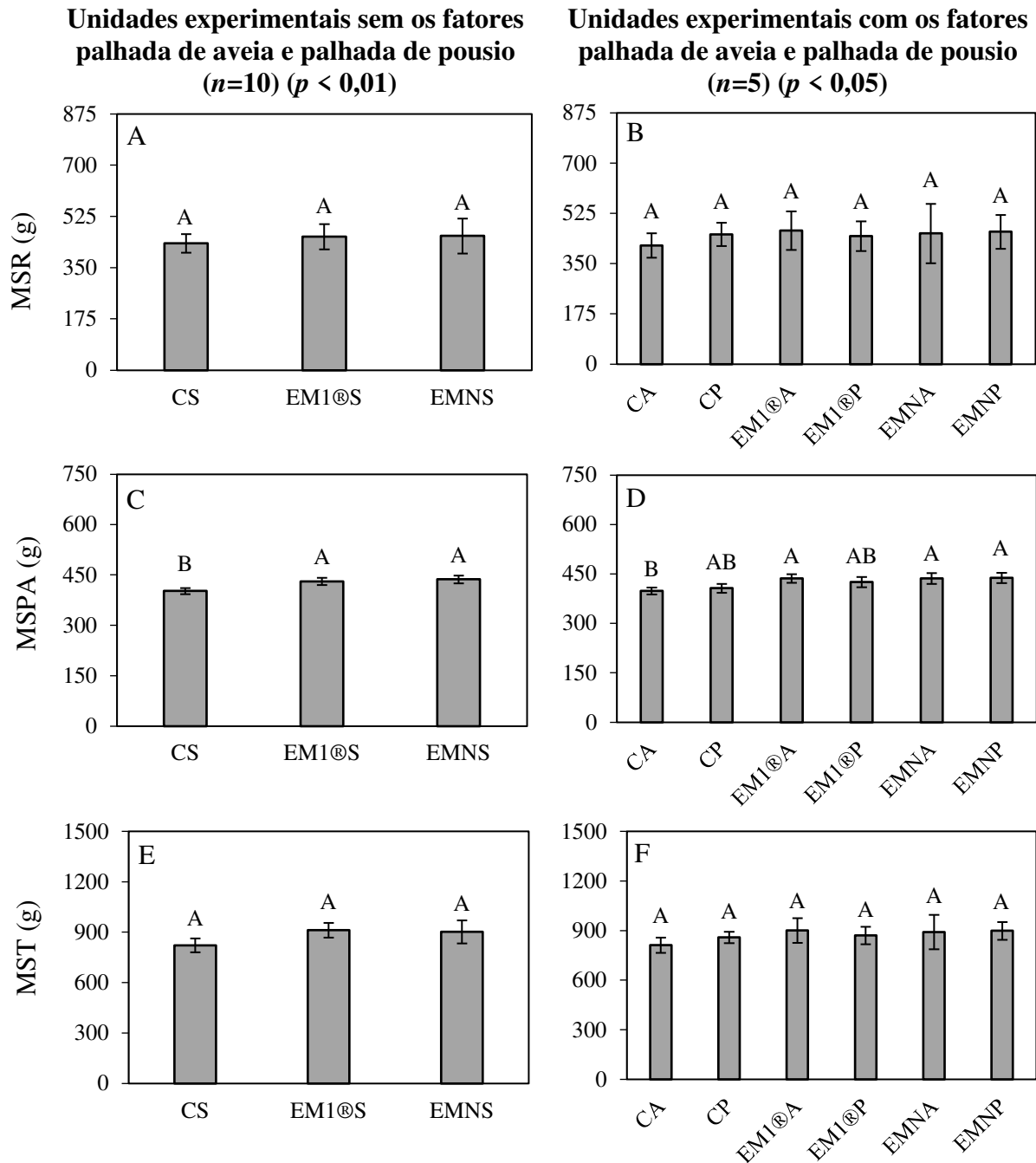


As variáveis massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) das plantas da laranja Valência não foram influenciadas por nenhum dos tratamentos (Figuras 17A, 17B, 17E e 17F).

Os resultados para massa seca da parte aérea (MSPA) das plantas de laranja Valência desconsiderando-se o fator palhada (Figura 17C) demonstraram que os tratamentos EM1® sem fator palhada (EM1®S) e EMN sem fator palhada (EMNS) foram, respectivamente, 7% e 8% superiores ao tratamento controle sem fator palhada (CS).

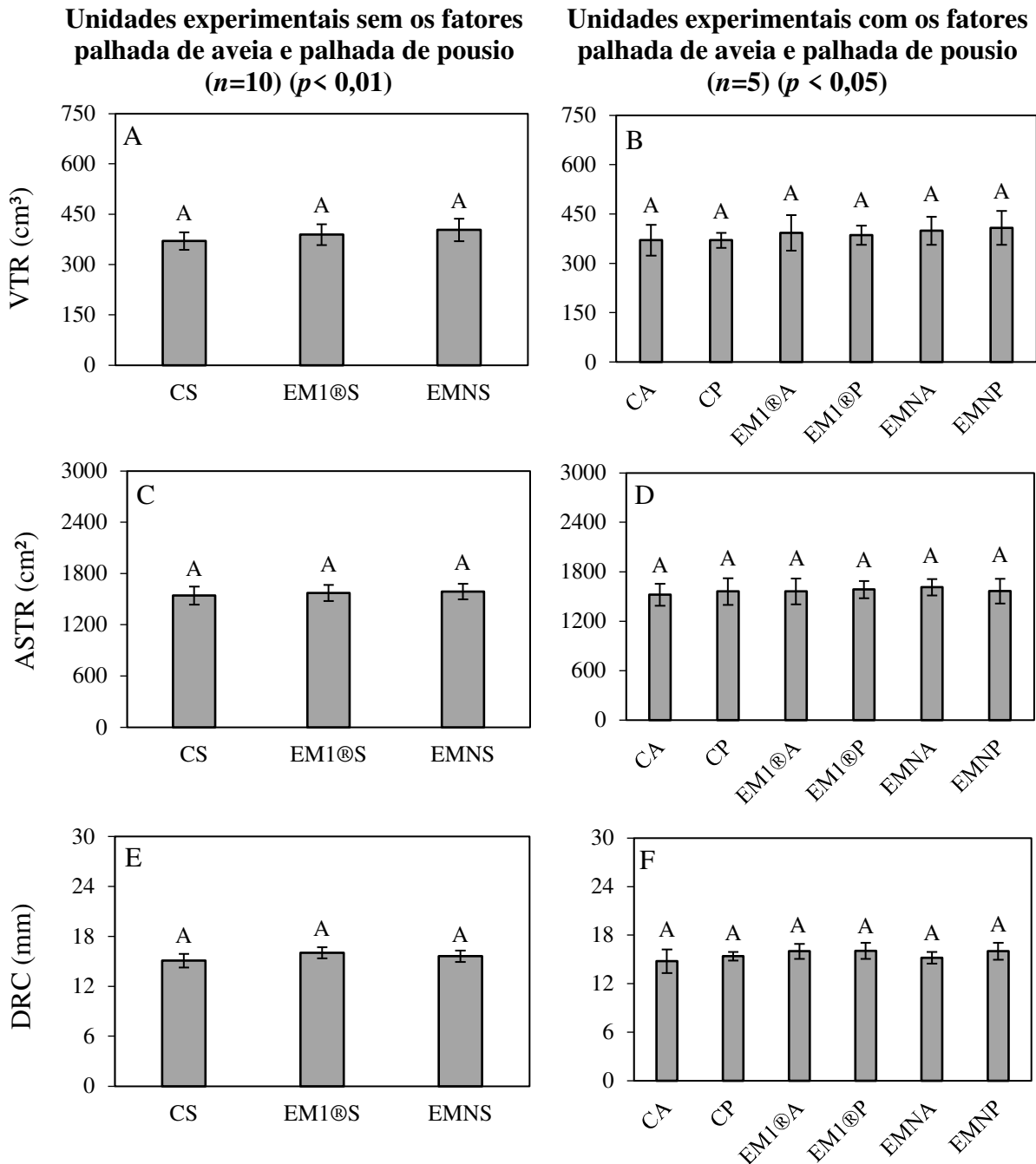
Assim como verificado nas variáveis MSCR e MSF considerando-se o fator palhada (Figuras 16D e 16F), ao se analisar a MSPA das unidades experimentais considerando o fator palhada (Figura 17D), também se identifica que nem todos os tratamentos com EM apresentaram incrementos significativos, sendo neste caso os tratamentos EM1® com palhada de aveia (EM1®A), EMN com palhada de aveia (EMNA) e EMN com palhada de pousio (EMNP) os que se demonstraram, respectivamente, 9%, 9% e 10% superiores ao tratamento controle com palhada de aveia (CA).

Figura 17 - Massa seca da raiz (MSR) [A, B], massa seca da parte aérea (MSPA) [C, D] e massa seca total (MST) [E, F] das plantas da laranja Valência submetidas às condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey.



As variáveis volume total de raiz (VTR), área superficial total de raiz (ASTR) e diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) das plantas da laranja Valência não foram influenciadas por nenhum dos tratamentos (Figura 18).

Figura 18 - Volume total de raiz (VTR) [A, B], área superficial total de raiz (ASTR) [C, D] e diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) [E, F] das plantas da laranja Valência submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey.

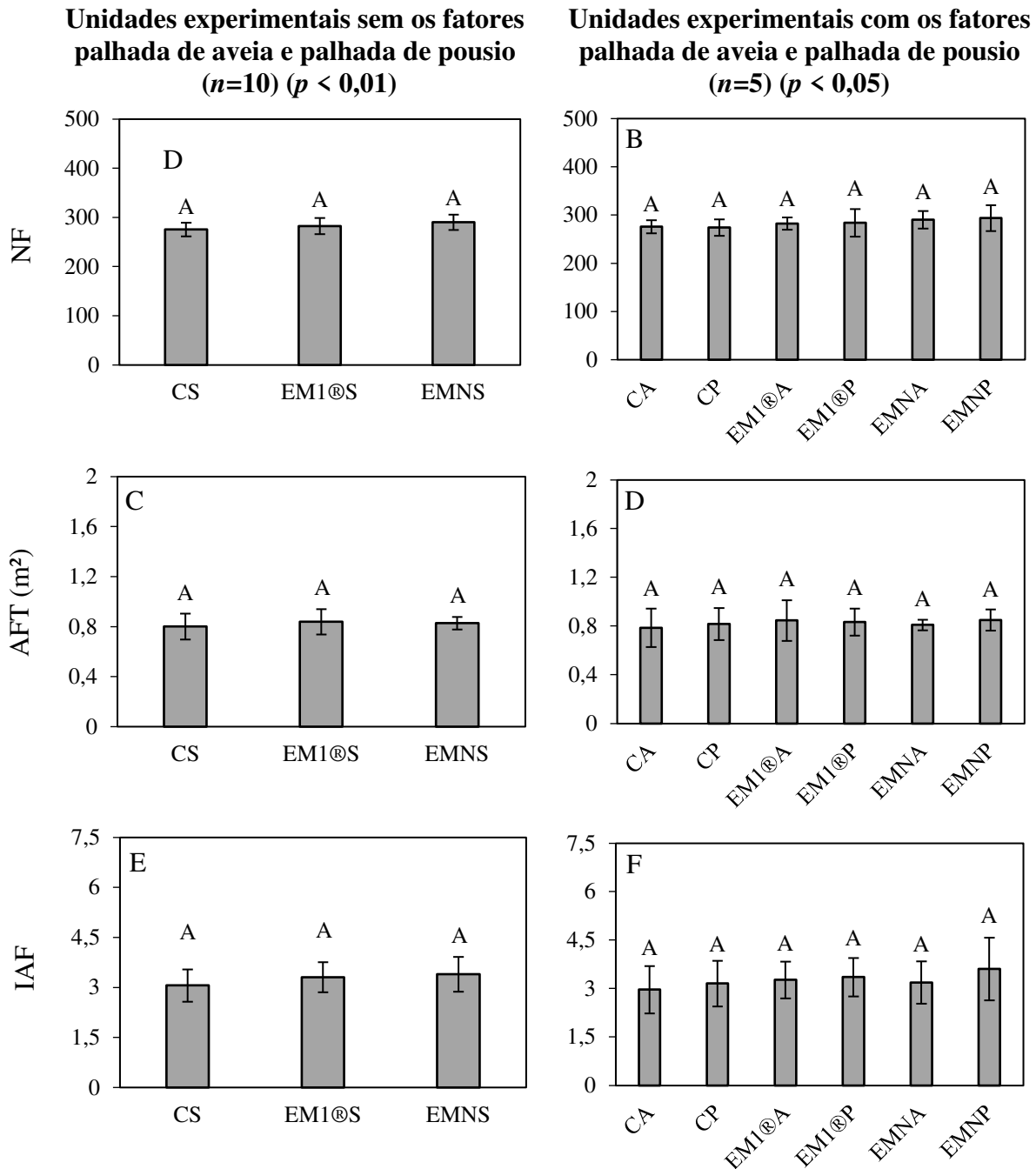


Ao se considerar a análise das unidades experimentais incluindo o fator palhada, identifica-se que em todos os casos os aumentos na MS das plantas de laranja Valência, causados pelos inoculantes EM1® e EMN (Figuras 16D, 16F e 17D), estão em comparação com o tratamento controle com palhada de aveia (CA), não tendo sido observado diferenças com o tratamento controle com palhada de pousio (CP).

Massa seca, morfologia da parte aérea e do sistema radicular das plantas do tangor Murcott

Para as plantas de tangor Murcott não foram identificadas diferenças entre os tratamentos EM1® e EMN para as variáveis número de folhas (NF) (Figuras 19A e 19B), área foliar total (AFT) (Figura 19C e 19D) e índice de área foliar (IAF) (Figuras 19E e 19F).

Figura 19 - Número de folhas (NF) [A, B], área foliar total (AFT) [C, D] e índice de área foliar (IAF) [E, F] das plantas do tangor Murcott submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey.



O volume de copa (VC) das plantas de tangor Murcott não foi influenciado por nenhum dos tratamentos com EM1® e EMN (Figuras 20A e 20B).

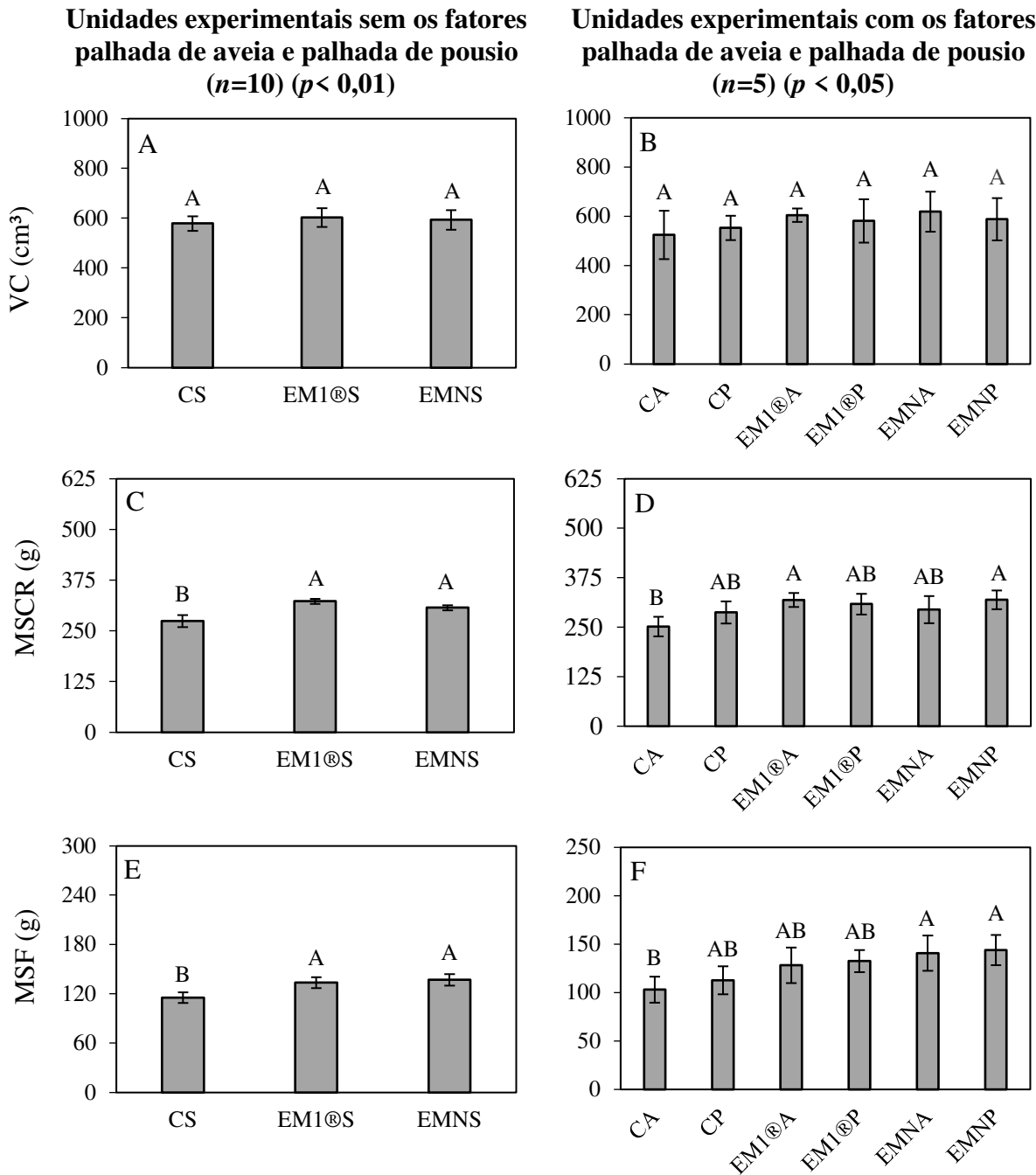
Os valores obtidos para massa seca do caule e ramos (MSCR) das plantas de tangor Murcott, utilizando-se unidades experimentais arranjadas de forma a desconsiderar o fator palhada (Figura 20C), demonstraram que os tratamentos EM1® sem fator palhada (EM1®S) e EMN sem fator palhada (EMNS) foram, respectivamente, 16% e 14% superiores ao tratamento controle sem fator palhada (CS).

Ao se analisar a MSCR das plantas do tangor Murcott considerando o fator palhada (Figura 20D) é possível identificar que os incrementos significativos, decorrentes da aplicação dos inóculos a base de EM1® e EMN, concentram-se nas unidades experimentais EM1® com palhada de aveia (EM1®A) e EMN com palhada de pousio (EMNP), os quais são respectivamente 26% e 27% superiores ao tratamento controle com palhada de aveia (CA).

Para a variável massa seca das folhas (MSF), a análise das unidades experimentais desconsiderando o fator palhada apresentou os tratamentos produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S) e microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS) superiores ao tratamento controle sem fator palhada (CS) (Figura 20E), com incrementos respectivos de 13% e 16%.

Ao passo que com respeito a MSF das plantas jovens de tangor Murcott desconsiderando o fator palhada (figura 20E) o produto comercial EM1® demonstrou resultados positivos frente ao tratamento controle sem fator palhada, ao se analisar a MSF considerando o fator palhada (Figura 20F), identificou-se que EM1® não apresentou quaisquer resultados significativos em nenhuma das situações de palhada, enquanto que o EMN mostrou-se superior ao tratamento controle com palhada de aveia (CA) em 20 % quando associado com palhada de aveia e 24% quando associado com palhada de pousio.

Figura 20 - Volume de copa (VC) [A, B], massa seca do caule e ramos (MSCR) [C, D] e massa seca das folhas (MSF) [E, F] das plantas do tangor Murcott submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey.

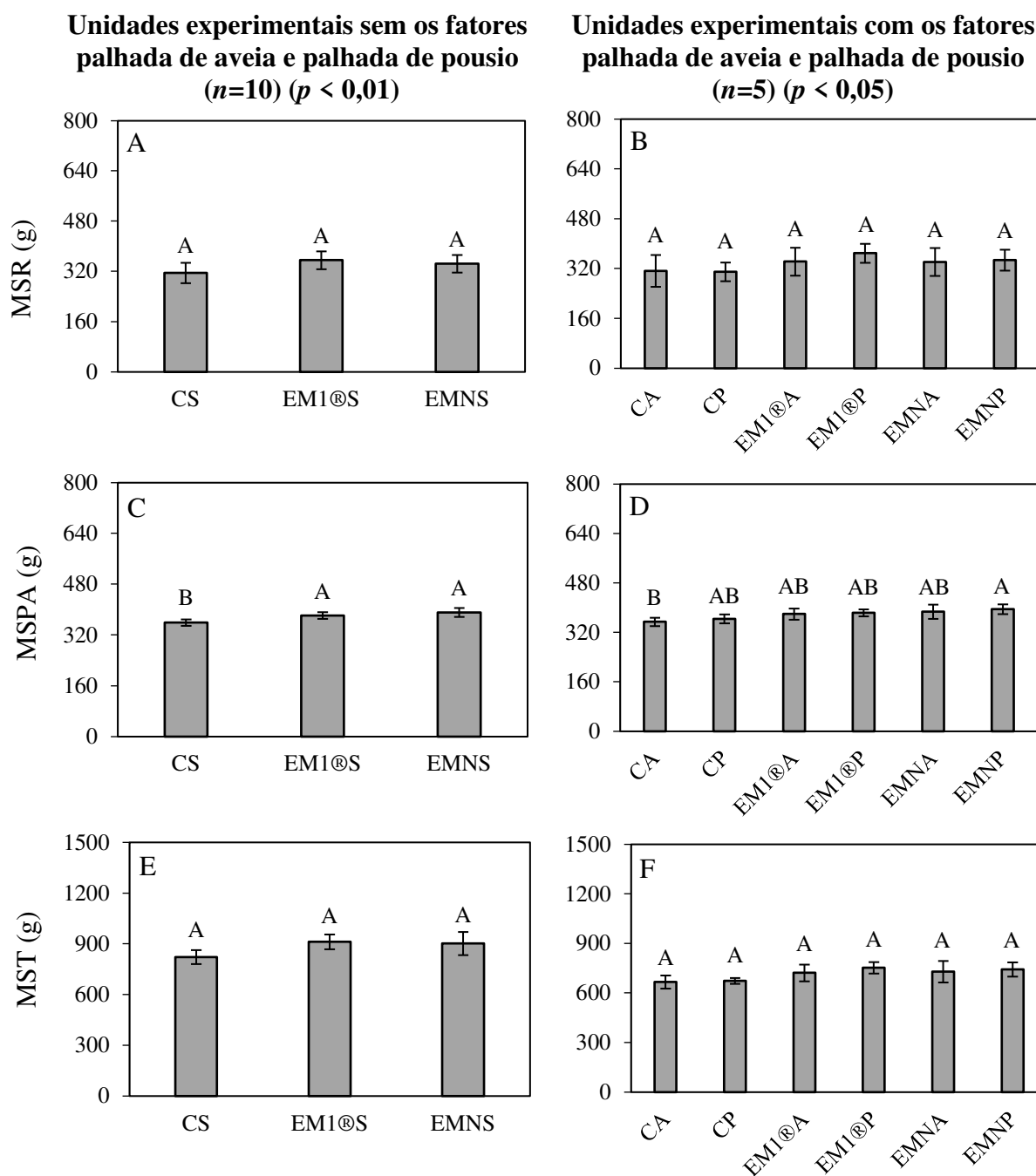


As variáveis massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) das plantas do tangor Murcott não foram influenciadas por nenhum dos tratamentos (Figuras 21A, 21B, 21E e 21F).

Os resultados obtidos para massa seca da parte aérea (MSPA) das plantas tangor Murcott desconsiderando-se o fator palhada (Figura 21C) demonstraram que os tratamentos EM1® sem fator palhada (EM1®S) e EMN sem fator palhada (EMNS) foram, respectivamente, 6% e 9% superiores ao tratamento controle sem fator palhada (CS).

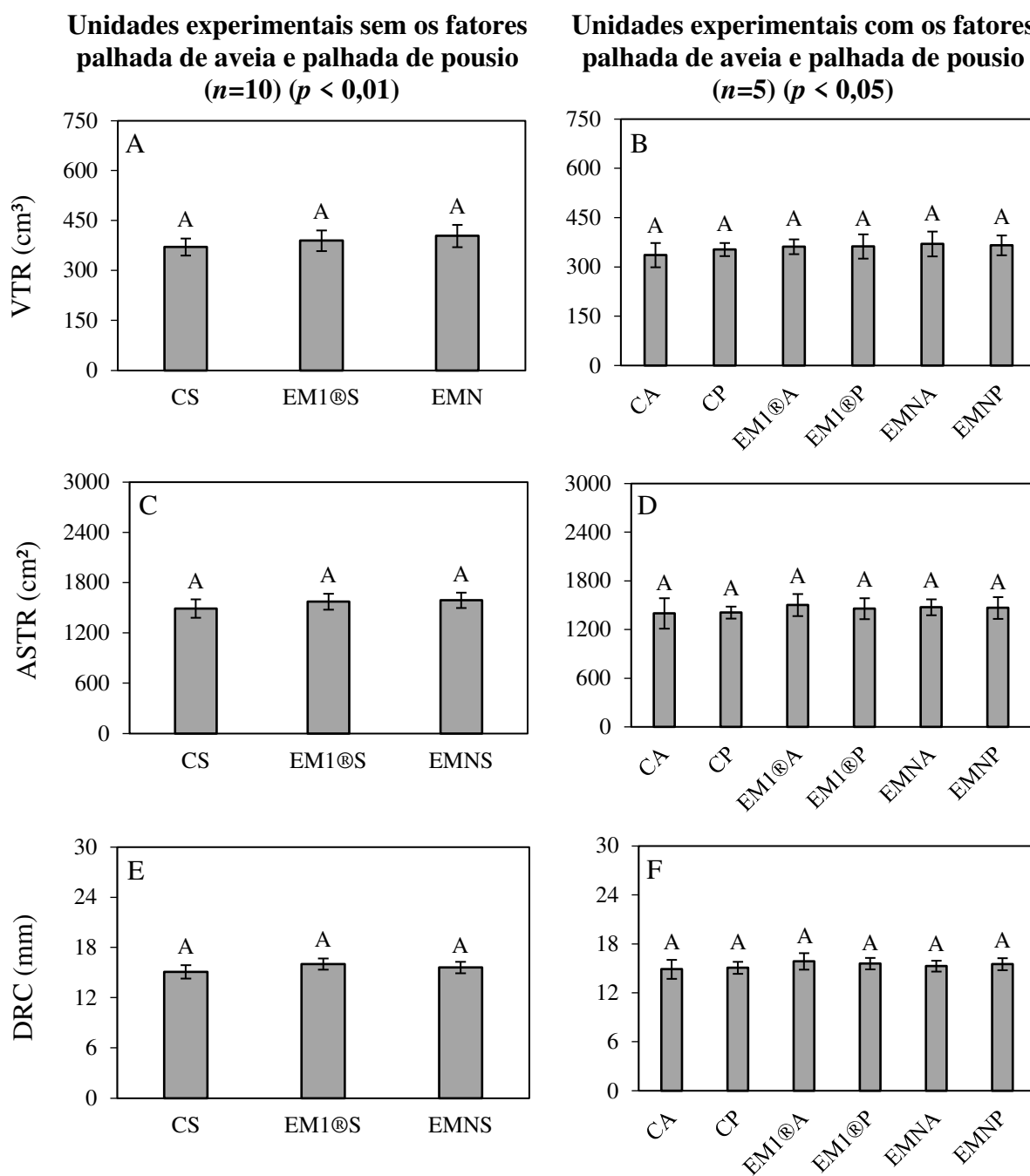
O tratamento EMN com palhada de pousio (EMNP) foi o único a apresentar efeito positivo na análise da MSPA do tangor Murcott considerando-se o fator palhada (Figura 21D), com incremento de 11% em relação ao tratamento controle com palhada de aveia (CA).

Figura 21 - Massa seca da raiz (MSR) [A, B], massa seca da parte aérea (MSPA) [C, D] e massa seca total (MST) [E, F] das plantas do tangor Murcott submetidas as condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey.



As variáveis volume total de raiz (VTR), área superficial total de raiz (ASTR) e diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) das plantas do tangor Murcott não foram influenciadas por nenhum dos tratamentos testados (Figuras 22A, 22B, 22C, 22D, 22E e 22F).

Figura 22 - Volume total de raiz (VTR) [A, B], área superficial total de raiz (ASTR) [C, D] e diâmetro da raiz ao nível do colo (DRC) [E, F] das plantas do tangor Murcott submetidas às condições de tratamentos controle sem fator palhada (CS), controle com palhada de aveia (CA), controle com palhada de pousio (CP), produto comercial EM1® sem fator palhada (EM1®S), produto comercial EM1® com palhada de aveia (EM1®A), produto comercial EM1® com palhada de pousio (EM1®P), microrganismos eficientes nativos sem fator palhada (EMNS), microrganismos eficientes nativos com palhada de aveia (EMNA) e microrganismos eficientes nativos com palhada de pousio (EMNP), avaliadas aos 419 DAP. Barras representam as médias. Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey.



Ao se analisar as variáveis MSCR (Figura 20D), MSF (Figura 20F) e MSPA (Figura 21D) das plantas jovens de tangor Murcott considerando-se o fator palhada, percebe-se que

dentre os tratamentos contendo EM que apresentaram diferenças significativas, o tratamento microrganismos eficientes nativos (EMNP) foi o único que se demonstrou estatisticamente superior, simultaneamente em todas as variáveis supracitadas, quando comparado com o tratamento controle com palhada de aveia (CA).

Assim como ocorrido no experimento envolvendo a laranja Valência, ao se considerar o fator palhada, percebe-se que os efeitos positivos do EM1® e do EMN nas variáveis MSCR (Figura 20D), MSF (Figura 20F) e MSPA (Figura 21D) são estatisticamente significativos unicamente quando comparados com o tratamento controle com palhada de aveia (CA).

DISCUSSÃO

Evolução da persistência das colunas de palha

O maior decréscimo na coluna de palha observado nos tratamentos VEM1®A, MEM1®A, VEMNA, MEMNA, VEMNP e MEMNP em comparação com os tratamentos VCA, MCA, VCP e MCP aos 60 dias (Tabelas 4 e 5), dos tratamentos VEM1®A, MEM1®A, MEMNA e MEMNP em comparação com os tratamentos VCA, MCA, VCP e MCP aos 90 dias (Tabela 5) e dos tratamentos MEMNA e MEMNP em comparação com os tratamentos VCA e VCP (Tabela 5), decorre da influência dos microrganismos eficientes (EMN e EM1®) na decomposição das palhas de aveia e pousio (APÊNDICE M), processo que implica na consequente diminuição da espessura das colunas das respectivas palhadas. Segundo Vicentini et al (2009) e Schenck e Müller (2009), uma das principais características associadas a inoculação de microrganismos eficientes em áreas de cultivos agrícolas é a capacidade destes em acelerar os processos de decomposição da matéria orgânica presente no solo.

Acredita-se que a verificação de maior diminuição da coluna de palha concentrada aos 60 dias (Tabela 4, análise mensal) seja consequência da maior população microbiana no momento inicial do processo de decomposição das palhadas. Esta maior população microbiana no momento inicial do processo de decomposição das palhadas permitiu o uso antecipado, se comparado com os tratamentos sem microrganismos eficientes, dos recursos de carbono disponíveis. Como após o período de 60 dias (Tabela 4), considerando a evolução mensal da persistência da coluna de palhada, não foram mais verificadas diferenças nos decréscimos de coluna de palha entre os tratamentos, entende-se que deste momento em diante os tratamentos

sem microrganismos eficientes alcançaram um nível de colonização microbiana natural similar em quantidade aos tratamentos inoculados.

A ineficiência do produto comercial EM1® em atuar na palhada de pousio (Tabelas 4 e 5) pode estar atrelada a composição desta palhada, composta predominantemente por Papuã (*Brachiaria plantaginea*), espécie integrante de um gênero já conhecido pela sua característica em produzir cobertura morta com alta capacidade de persistência na superfície do solo, conforme relatado por Nascente et al (2014). Neste sentido, acredita-se que a restrita diversidade microbiana do EM1® (Tabela 3) tenha sido determinante para que este não incrementasse as taxas de decomposição e consequente diminuição da coluna de palha de pousio em nenhuma das situações estudadas.

De acordo com Grayston et al (2001), a diversidade de substratos orgânicos tem forte influência sobre a abundância e a diversidade dos grupos microbianos presentes nos solos. Assim sendo, ainda que predominasse na palhada de pousio a *Brachiaria plantaginea* (Papuã), haviam também outras espécies de plantas espontâneas presentes, fato este que pode ter contribuído para uma maior presença natural de microrganismos nativos. Desta forma, a ineficiência do EM1® na palha de pousio pode ser resultado de uma relação desfavorável entre as espécies *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* presentes no EM1® (Tabela 3) e as de ocorrência natural na palhada de pousio.

Segundo Nascente et al (2014), palhadas de diferentes gramíneas podem possuir coeficientes de degradação e tempo de persistência diferentes. Neste caso, considerando que os tratamentos controle (VCA, MCA, VCP e MCP) (Tabelas 4 e 5) não apresentaram diferenças entre si, é possível afirmar que as palhadas de aveia e pousio utilizadas para este estudo possuem tempos de persistência natural similares.

Tendo em vista que aos 60 dias todos os tratamentos com EMN (VEMNA, MEMNA, VEMNP e MEMNP) foram superiores a todos os tratamentos sem microrganismos eficientes (VCA, MCA, VCP e MCP) é possível afirmar também que os preparados a base de microrganismos eficientes nativos (EMN) tiveram uma influência mais consistente que o EM1® na diminuição das colunas de palha de aveia e de pousio em ambas as culturas.

A flexibilidade do EMN em interferir tanto na persistência da coluna de palha de aveia quanto de pousio, em ambas as culturas (Tabelas 4 e 5), decorreu muito provavelmente da composição microbiana do EMN (Tabelas 1 e 2), o qual estava composto de uma variedade de microrganismos muito superior ao EM1® (Tabela 3). Kennedy (1999) expõe neste sentido, descrevendo a importância em se manter significativa abundância de espécies de microrganismos no solo, pois como consequência do dinamismo dos processos, a perda de uma

espécie pode ser rapidamente substituída por outra com função igual ou semelhante, dando continuidade aos processos biológicos, fazendo com que o sistema como um todo esteja menos suscetível a variações.

Se considerarmos unicamente a evolução acumulada da persistência das colunas de palha (Tabela 5), verificamos que do grupo de tratamentos que demonstraram diferenças entre si aos 60 dias, nem todos se mantiveram aos 90 dias, como é o caso dos tratamentos VEMNA e VEMNP em comparação com MCA e MCP. Isto se deve muito provavelmente a influência resultante da interrelação entre as espécies de plantas cultivadas nos vasos e os microrganismos eficientes nativos (EMN), pois segundo Rengel (1997; 2002), diferentes espécies de plantas, ou mesmo diferentes genótipos dentro de uma mesma espécie vegetal, podem interferir qualitativa e quantitativamente na comunidade microbiana da rizosfera, devido as variações quantitativas e qualitativas dos exsudatos radiculares produzidos por cada planta.

Resultados semelhantes aos verificados neste trabalho foram obtidos por Li-Feng et al (2008), os quais verificaram aumento nas taxas de decomposição dos restos vegetais da cultura do milho mediante a aplicação de EM e por Herath et al (2004) e Samsudin et al (2013) que constatarem aceleração da decomposição da palha de arroz tratada com EM.

Diferentemente do constatado neste trabalho, aonde não foi possível identificar diferenças entre o EMN e o produto comercial EM1®, Xin et al (2011), ao estudarem influência do uso de EM em palhas de milho e arroz, verificaram que a taxa de redução das palhas de milho e de arroz submetidas aos EM capturados em área de floresta foram, respectivamente, 37% e 20% superiores às taxas verificadas com o uso de EM oriundos de formulação comercial.

Ainda que determinadas práticas de manejo dos resíduos vegetais sobre o solo sejam utilizadas para acelerar a sua decomposição e antecipar a liberação de nutrientes minerais para as culturas em crescimento, De Oliveira et al (2002) atentam que em determinadas circunstâncias o mais desejável é adotar procedimentos que diminuam a taxa de decomposição, afim de prolongar a vida útil da cobertura protetora sobre o solo, de modo que o tempo de decomposição se estenda pelo período necessário para a proteção do solo contra agentes erosivos até o estabelecimento da cultura subsequente.

Neste sentido, considerando que a maior redução da coluna de palha observada neste trabalho esteja associada a aceleração do processo de decomposição pelos EM aplicados, o maior decréscimo das colunas de palha verificado unicamente aos 60 dias após o início dos tratamentos (Tabela 4) pode trazer como benefício para as culturas agrícolas a antecipação da disponibilização dos nutrientes presentes na palha. Ademais, como a partir dos 120 dias (Tabela 5) não houveram diferenças na persistência acumulada da coluna de palha entre os tratamentos,

pode-se afirmar que o uso de EM não comprometeu o tempo de permanência das camadas de palha de aveia e pousio dispostas sobre o solo nos cultivos da laranja Valência e do Tangor Murcott.

Evolução do crescimento do diâmetro do caule das plantas de laranja Valência e Tangor Murcott

A análise do crescimento mensal do diâmetro do caule das plantas de laranja Valência e tangor Murcott (Figuras 9 e 11), tratadas com EM1® e EMN, demonstrou diferenças a partir dos 120 dias após o início da aplicação dos tratamentos. Considerando que as aplicações de EM foram com intervalos de tempo regulares, a cada 30 dias, e iniciaram imediatamente após o plantio das mudas, acredita-se que a ausência de resultados em determinados períodos não se deva a ausência de EM nos substratos de plantio, mas sim a característica de crescimento das plantas, pois de acordo com Bevington e Castle (1985), mesmo que não existam fatores limitantes relacionados as características do solo, os citros apresentam um ritmo de crescimento cíclico, alternado entre a parte aérea e as raízes. Neste sentido, nos períodos em que as plantas estavam crescendo em ritmo maior na parte aérea foi quando os tratamentos com EM, com situação em potencial, puderam se expressar de forma a incrementar o diâmetro do caule.

Ainda que na análise mensal do diâmetro do caule da laranja Valência tenha sido verificado que aos 90 dias o EMN associado com palhada de aveia influenciou positivamente o crescimento das plantas (Figura 9), ao se analisar o crescimento acumulado (Figura 10) não foi possível verificar o efeito do EMN no diâmetro do caule da laranja Valência associado com palhada de aveia em nenhum dos períodos. Acredita-se que a ausência de diversidade de espécies vegetais da palhada de aveia pode ter sido fator limitante para o estabelecimento e desenvolvimento do grande número de espécies de microrganismos existentes no EMN (Tabelas 1 e 2), os quais poderiam ter causado incremento no diâmetro do caule, uma vez que segundo Daly et al (1999), a manutenção de uma maior diversidade microbiana nos ambientes de cultivos agrícolas é muito dependente da diversidade da matéria orgânica presente no solo.

Na análise da evolução acumulado de crescimento do diâmetro do caule do tangor Murcott, somente foi verificado influência do EM1® aos 150 dias (Figura 12), em ambas as situações de palhada. A presença menos expressiva de efeitos dos tratamentos EM1® e EMN no diâmetro do caule do tangor Murcott (Figuras 11 e 12), quando analisado em comparação com a laranja Valência (Figuras 9 e 10), pode estar relacionado ao fato de ter ocorrido florescimento das plantas do tangor Murcott no mês de dezembro de 2019. De acordo com Mehouchi et al (1995) e Ruiz et al (2001), o florescimento das plantas é um evento que atua

como um dreno, o qual reduz as reservas das plantas disponíveis para outras fases. Neste sentido, mesmo embora as flores tenham sido manualmente removidas à medida que surgiam, acredita-se que o florescimento das plantas de tangor Murcott tenha utilizado as reservas das plantas que poderiam ter sido destinadas ao crescimento vegetativo, minimizando o efeito dos tratamentos aplicados.

Incrementos no crescimento do diâmetro do caule de plantas submetidas a aplicação de EM também foram observados por Zydlik e Zydlik (2008) em porta-enxertos M9 para macieiras.

Giassi et al (2015) ao testarem isolados de bactérias do gênero *Bacillus* e ácido lácticas, ambos grupos contidos nos preparados a base EM utilizados para este trabalho, identificaram um maior crescimento do diâmetro do caule de espécies cítricas submetidas aos tratamentos, o que permite pressupor que os efeitos observados no diâmetro do caule das plantas da laranja Valência e do tangor Murcott deste estudo estejam relacionados em parte à presença das bactérias *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis* e *Bacillus cereus* no EMN (Tabela 2) e das bactérias *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* no EM1® (Tabela 3).

Evolução do crescimento em altura das plantas de laranja Valência e tangor Murcott

A altura das plantas de laranja Valência foi influenciada pelos tratamentos EM1® e EMN somente quando associados a palhada de aveia, dos 180 aos 210 dias (Figura 13). Nas plantas de tangor Murcott, somente o EMN associado a palhada de pousio apresentou efeito aos 180 dias (Figura 14). Os efeitos do EMN na altura das plantas de laranja Valência (Figura 13) de certo modo contestam a hipótese de que a baixa diversidade de matéria orgânica da palhada de aveia possa ter limitado o desenvolvimento e ação dos microrganismos eficientes nativos (EMN), conforme observado e discutido no item anterior na análise dos efeitos dos EM no diâmetro do caule das plantas de laranja Valência e tangor Murcott, uma vez que ambos os inoculantes, EMN e EM1®, demonstraram-se eficientes em incrementar a altura das plantas de laranja Valência quando associados com palhada de aveia (Figura 13).

Entende-se neste caso, que assim como os EM aplicados possam ter se beneficiado da maior diversidade de matéria orgânica contida na palhada de pousio, microrganismos de ação indesejada também o fizeram. Assim sendo, o fato dos tratamentos EM1® e EMN associados com palhada de pousio não terem resultado em incrementos na altura das plantas de laranja Valência da mesma forma como o ocorrido quando da associação destes com palhada de aveia,

pode estar relacionado a presença de microrganismos de ocorrência natural na palhada de pousio, os quais podem ter inibido o efeito dos tratamentos aplicados.

Efeitos positivos na altura de plantas submetidas ao uso de bactérias do gênero *Pseudomonas* (presentes no EMN utilizado para este estudo) foram observadas em plântulas de Cafeeiro (*Coffea sp*) por Freitas (1989) e em Abeto (*Abies normannianna*) por Chanway et al. (2000). Em contrapartida Freitas e Vildoso (2004) avaliaram o efeito de bactérias do gênero *Pseudomonas*, *Bacillus spp.* (também presentes no EMN utilizado para este estudo) e outras bactérias rizosféricas em tangerineira Cleópatra (*Citrus reshni*), limoeiro Cravo (*Citrus limonia*) e limoeiro Volcameriano (*Citrus volkameriana*) e não identificaram incrementos na altura das plantas.

Ainda que Freitas (1989) e Chanway et al. (2000) tenham associado o uso de bactérias do gênero *Pseudomonas* a maior altura de plantas e que a composição do EMN utilizado para este trabalho contenha duas espécies do gênero em questão (Tabela 1), não é possível atribuir a maior altura das plantas a estas, pois resultados semelhantes ao EMN também foram identificados nas plantas tratadas com o produto comercial EM1®, o qual não continha bactérias do referido gênero em sua composição (Tabela 3).

Tendo em vista que efeitos na altura de plantas de *Moringa oleifera* Lam foram observados por Soto et al (2017) mediante a aplicação de bactérias ácido lácticas é possível supor que os efeitos na altura das plantas da laranja Valência e do tangor Murcott identificados neste trabalho estejam relacionados as bactérias ácido lácticas, uma vez que tanto o EMN quanto o EM1® continham diferentes espécies de bactérias ácido lácticas em sua composição (Tabelas 1 e 3). Nas situações deste estudo aonde não foram observados efeitos dos tratamentos EM1® e EMN na variável altura das plantas, entende-se ser possível que as diferentes combinações entre cultivo cítrico (laranja Valência ou tangor Murcott) e palhada (aveia ou pousio) tenham se demonstrado desfavoráveis as bactérias ácido lácticas, pois segundo Giassi et al (2015) o estabelecimento e o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas nos ambientes de cultivo é altamente influenciado por uma elevada complexidade de interrelações.

Massa seca, morfologia da parte aérea e do sistema radicular das plantas de laranja Valência e tangor Murcott

Os maiores acúmulos de MSCR e MSF das plantas jovens de laranja Valência e tangor Murcott, observados neste trabalho, decorrem muito provavelmente da maior disponibilidade do nutriente fósforo (P) para as plantas tratadas com o EMN e EM1® (Figuras 16C, 16F, 20C e 20F), pois de acordo com Mendes e Dos Reis Junior (2003), inoculantes do tipo EM contém

bactérias produtoras de ácido lático, as quais agem como solubilizadoras de P, um macronutriente para citros que demonstrou incremento quadrático na MSPA de mudas de limoeiro Cravo (*Citrus limonia*) em um estudo realizado por Do Vale e Prado (2009).

O supracitado por Mendes e Dos Reis Junior (2003) a respeito da presença de bactérias ácido lácticas nos preparados a base de EM também pode ser confirmado mediante a verificação dos resultados de análise laboratorial realizados nas amostras dos inoculantes utilizados para este estudo (Tabelas 2 e 3), podendo-se neste caso citar como exemplo as espécies *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* presentes tanto no EMN quanto no EM1®.

A maior consistência nos incrementos na MSCR, MSF e MSPA das plantas jovens de tangor Murcott submetidas ao tratamento EMNP pode estar associada a maior disponibilidade do macronutriente nitrogênio (N) para as plantas, pois Do Vale e Prado (2009) identificaram que este nutriente também demonstrou ter relação direta com a MSPA de plantas cítricas. A maior disponibilidade de N pode ser consequência da presença da bactéria *Bacillus cereus* no inóculo a base de EMN (Tabela 2), uma espécie que segundo De Souza Moreira et al (2010) é fixadora de nitrogênio do tipo associativa, a qual teve sua atividade da enzima nitrogenase detectada por Xie et al (1998).

Ainda que de acordo com De Sousa Moreira et al (2010) a contribuição de bactérias fixadoras de nitrogênio do tipo associativa não seja tão significativa quanto as simbioses, mesmo assim acredita-se que maiores teores de N disponíveis podem ter influenciado a MSPA das plantas de tangor Murcott tratadas com EMN, uma vez que a melhor assimilação do N disponibilizado na forma de adubação também pode ter ocorrido, visto que bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico do tipo associativa também são descritas por Baldani e Baldani (2005) e Moreira et al (2013) como sintetizadoras de fitormônios que influenciam positivamente o metabolismo do nitrogênio nas plantas.

Os principais benefícios decorrentes do aumento no acúmulo de massa seca em plantas perenes como os citros consiste do fato que as reservas contidas, principalmente na porção lenhosa da árvore, contribuem com uma porção significativa dos nutrientes necessários para o crescimento da primavera, a floração e a frutificação (DOU et al., 1993; ALVA; FARES, 2003). Isto ocorre, segundo Wallace et al (1954), devido à baixa absorção de nutrientes pelas raízes das plantas cítricas no início da primavera.

Não foram encontrados na literatura consultada relatos de efeitos do uso EM na MSPA de plantas cítricas, entretanto, Kang et al (2015) identificaram incrementos na MST em *Cucumis sativus* (pepino) mediante a aplicação da levedura *S. cerevisiae*, espécie presente no inóculo EM1® utilizado neste estudo (Tabela 3) e Dos Santos et al (2020) constataram aumento

da MSPA de plantas de *Glycine max* (soja) submetidas a aplicação da bactéria *L. acidophilus*, espécie presente tanto no EM1® quanto no EMN utilizados neste estudo (Tabelas 2 e 3).

Tendo em conta os resultados obtidos para MSCR, MSF e MSPA mediante a análise das unidades experimentais considerando-se o fator palhada, percebe-se que tanto para a cultura da laranja Valência quanto para o tangor Murcott, os incrementos na MS causados pelo EM1® e pelo EMN são percebidos somente quando comparados com o tratamento controle com palhada de aveia (CA). Acredita-se que isto se deva muito provavelmente a maior diversidade de espécies vegetais que constituíam a palhada de pousio, fato que pode ter contribuído para a maior ocorrência e desenvolvimento natural de microrganismos de efeitos benéficos, fazendo com que as plantas submetidas ao tratamento controle com palhada de pousio (CP) expressassem desenvolvimento estatisticamente similar as plantas tratadas com EMN e EM1®. D'Andrea et al (2002) e Pragana et al (2012) descrevem neste sentido, afirmando que uma maior diversidade de substratos vegetais resulta em maior diversidade de compostos orgânicos presentes na rizosfera, os quais por sua vez podem melhor contribuir para a sobrevivência e desenvolvimento de diferentes grupos de microrganismos no solo.

Devido aos tratamentos EM1® e EMN terem demonstrado efeitos na MSCR e MSF das plantas de laranja Valência e tangor Murcott somente quando comparados com o tratamento controle com palhada de aveia (CA), infere-se que o uso destes inóculos poderá trazer benefícios nas referidas plantas quando cultivadas em sistema com cobertura com palha de aveia, sendo que os resultados obtidos serão equivalentes ao cultivo em sistema com palhada de pousio sem a aplicação de qualquer um dos inoculantes testados.

CONCLUSÕES

Os inoculantes microbianos EM1® e EMN não comprometeram o tempo de permanência das colunas de palha de aveia e pousio dispostas sobre o solo cultivado com as culturas da laranja Valência e do tangor Murcott.

Incrementos nas variáveis diâmetro de caule e altura de planta causados pelos tratamentos EM1® e EMN nas plantas jovens de laranja Valência e tangor Murcott foram verificados até 240 dias após o plantio das mudas.

Os resultados obtidos com a análise da massa seca das plantas de laranja Valência e tangor Murcott indicam que efeitos positivos decorrentes do uso dos inóculos EM1® e EMN poderão ser obtidos mediante o cultivo das respectivas culturas em sistema com cobertura de palhada de aveia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, Flávia Aparecida de et al. Adubação verde na recuperação da fertilidade de um Latossolo Vermelho-Escuro degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 277-288, 2000.
- ALVA, A. K.; FARES, A.; DOU, H. Managing citrus trees to optimize dry mass and nutrient partitioning. **Journal of plant nutrition**, v. 26, n. 8, p. 1541-1559, 2003.
- ANDRADE, F.M.C. de et al. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM):** instruções práticas sobre o uso ecológico e social do EM. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- AYOADE, J. O. **Introdução à climatologia para os trópicos.** 13. ed. Rio de Janeiro, 2010.
- BACK, M. M. **Uso de fungos micorrizas arbusculares na produção de porta-enxertos de citros.** Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 84. 2017.
- BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 3, p. 549-579, 2005.
- BALDASSARI, Ricardo Braga; GOES, Antonio de; TANNURI, Fernando. Declínio dos citros: algo a ver com o sistema de produção de mudas cítricas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 357-360, 2003.
- BARBER, S.A. **Soil nutrient bioavailability: A mechanistic approach.** New York, John Wiley, 1984. 397p.
- BASTOS, D. C.; FERREIRA, E. A.; PASSOS, O. S.; SÁ, J. F.; ATAÍDE, E. M.; CALGARO, M.: Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.35, n.281, p.36-45, jul./ago. 2014.
- BELIMOV, A. A. et al. Pseudomonas brassicacearum strain Am3 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase can show both pathogenic and growth-promoting properties in its interaction with tomato. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 6, p. 1485-1495, 2007.
- BELIMOV, A. A. et al. Rhizobacteria that produce auxins and contain ACC deaminase decrease amino acid concentrations in the rhizosphere and improve growth and yield of well-watered and water-limited potato (Solanum tuberosum). **Ann Appl Biol**, v. 167, p. 11-25, 2015.
- BERTOL, Ildegardis et al. Propriedades físicas do solo relacionadas a diferentes níveis de oferta de forragem numa pastagem natural. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 779-786, 1998.
- BEVINGTON, K. B.; CASTLE, W.S. Annual root growth pattern of young citrus trees in relation to shoot growth, soil temperature, and soil water content. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 110, n. 6, p. 840-845, 1985.

BOAVENTURA, Paulo Roberto Ronchini et al. Balanço de nutrientes na produção de mudas cítricas cultivadas em substrato. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 300-3005, 2004.

BÖHM W (1979) **Methods of studying root systems**. New York: Springer-Verlag 188p.

BORGES, Rogério de Sá; PIO, Rose Mary. Comparative study of the mandarin hybrid fruit characteristics: Nova, Murcott and Ortanique in Capão Bonito SP, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 448-452, 2003.

BRAGA, Márcia Regina; DIETRICH, Sônia. Defesas químicas de plantas: fitoalexinas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 1, n. 1, p. 3-16, 1987.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução normativa No 48 de 24 de setembro de 2013**. Disponível em:

<http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/31061276/do1-2013-09-25-instrucao-normativa-n-48-de-24-de-setembro-de-2013-31061272>. Acesso em: 04 out. 2019.

CALONEGO, Juliano Carlos et al. Persistência e liberação de nutrientes da palha de milho, braquiária e labe-labe. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 5, 2012.

CALVO-POLANCO, Mónica et al. Exploring the use of recombinant inbred lines in combination with beneficial microbial inoculants (AM fungus and PGPR) to improve drought stress tolerance in tomato. **Environmental and Experimental Botany**, v. 131, p. 47-57, 2016.

CAPORASO, J. Gregory et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 108, n. Supplement 1, p. 4516-4522, 2011.

CARMO, CAF de S. et al. Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos. **Embrapa Solos-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2000.

CARVALHO, S. A.; GRAF, C. C. D.; VIOLANTE, A. R. Produção de material básico e propagação. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo: Fundag, 2005. p. 279-316.

CHANWAY, C.P.; SHISHIDO, M.; NAIRN, J.; JUNGWIRTH, S.; MARKHAM, J.; XIAO, G. & HOLL; F.G. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. **For. Ecol. Manag.**, 133:81-88, 2000.

CHEN, Iou-Zen; CHENG, Cheng-Yung. **Effect of effective microorganisms an growth media on the growth of potted Taiwan cherry seedlings (Prunus campanulata Maxim)**. 2013. Disponível em< <http://www.emtech.org/>>. Acesso em novembro de 2019.

CHIEN, Po-Jung; SHEU, Fuu; LIN, Hung-Ren. Coating citrus (Murcott tangor) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. **Food chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1160-1164, 2007.

CRUSCIOL, C. A. C. et al. Persistência de palhada e liberação de nutrientes do nabo forrageiro no plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.2, p.161-168, 2005.

DA SILVA PUGAS, Adevan et al. 13787-Efeito dos Microrganismos Eficientes na taxa germinação e no crescimento da Abobrinha (*Curcubita Pepo* L.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, 2013.

DA SILVA, S. E. L. et al. Recomendações para a produção de citros no Estado do Amazonas. **Embrapa Amazônia Ocidental-Documentos (INFOTECA-E)**, 2004.

DALY, M. J.; STEWART, D. P. C. Influence of “effective microorganisms” (EM) on vegetable production and carbon mineralization—a preliminary investigation. **Journal of Sustainable Agriculture**, v. 14, n. 2-3, p. 15-25, 1999.

D'ANDREA, A. F. et al. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, n. 4, p. 913-923, 2002.

DAYKIN, A., Scott, I.M., Francis, D., Causton, D.R. 1997. Effects of gibberellin on the cellular dynamics of dwarf pea internode development. **Planta** 203: 526-535.

DE LEY, J.; GOSSELÉ, F.; SWINGS, J. Genus I *Acetobacter*. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. Bergey's manual of systematic bacteriology. **Maryland: Williams & Wilkens**, 1984. p. 268-274. (v. 1)

DE LUCENA, C. C.; DE CARVALHO, J. E. B.; XAVIER, FA da S. Manejo de coberturas vegetais em pomares de citros nos tabuleiros costeiros. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2017.

DE OLIVEIRA, Antonio Carlos et al. Development of genetic maps of the citrus varieties ‘Murcott’ tangor and ‘Pera’ sweet orange by using fluorescent AFLP markers. **Journal of applied genetics**, v. 48, n. 3, p. 219-231, 2007.

DE OLIVEIRA, R. P. et al. Produção de sementes de porta-enxertos de citros. **Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E)**, 2016.

DE OLIVEIRA, R. P., & SCIVITTARO, W. B. (2003). **Normas e padrões para produção de mudas certificadas de citros em parceria com a Embrapa**. Embrapa Clima Temperado.

DE OLIVEIRA, R. P., SCHUCH, J. L. D., CARVALHO, F. L. C., SCIVITTARO, W. B., & DE SOUZA, P. V. D. (2016). Análise de sistemas de produção de mudas de citros utilizados em viveiros telados no Rio Grande do Sul. **Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E)**.

DE OLIVEIRA, R. P., SCIVITTARO, W. B., Carvalho, F. L. C., de SOUZA, P. V., & Tarillo, V. R. C. (2017). Produção de mudas de citros em ambiente protegido. **Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E)**.

DE OLIVEIRA, R. P., SCIVITTARO, W., & RADMANN, E. (2002). Tecnologia para produção de mudas de citros: conservação do poder germinativo de sementes de 'Trifoliata'. **Embrapa Clima Temperado-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**.

DE OLIVEIRA, Roberto Pedroso et al. Porta-enxertos para citros. **Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.

DE OLIVEIRA, Roberto Pedroso et al. Produção de citros orgânico no Rio Grande do Sul. **Embrapa Clima Temperado-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 2010.

DE OLIVEIRA, Roberto Pedroso; NAKASU, Bonifácio Hideyuki; SCIVITTARO, Walkyria Bueno. Cultivares apirênicas de citros recomendadas para o Rio Grande do Sul. **Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E)**, 2007.

DE SOUZA MOREIRA, Fatima Maria et al. Biazotrophic associative bacteria: diversity, ecology and potential applications. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74, 2010.

DE VALDEZ, G. F.; DE GIORI, G. S. Effectiveness of soy milk as food carrier for *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of food protection**, v. 56, n. 4, p. 320-322, 1993.

DERPSCH, R.; CALEGARI, A. **Plantas para adubação verde de inverno**. Londrina: IAPAR, 1992. 80 p. (IAPAR. Circular, 73).

DO CARMO, Davi Lopes et al. Pesquisa em Agroecologia: conquistas e perspectivas. In: **Simpósio de Pós-Graduação em Agroecologia – UFV, 2012-2018, Viçosa**. Anais [...]. Viçosa: FUNARBE, 2019. p. 22 – 40.

DO VALE, Diego W.; PRADO, Renato de M. Adubação com N, P e K no crescimento inicial do porta-enxerto limoeiro cravo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 1, p. 35-41, 2009.

DOS SANTOS, Ana Claudia; KANDASAMY, Saveetha; RIGOBELLO, Everlon Cid. *Bacillus cereus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Succinovibrio dextrinosolvens* promoting the growth of maize and soybean plants. **African Journal of Microbiology Research**, v. 14, n. 5, p. 189-197, 2020.

DOU, H.; ALVA, A. K.; KHAKURAL, B. R. Nitrogen mineralization from citrus tree residues under different production conditions. **Soil Science Society of America Journal**, v. 61, n. 4, p. 1226-1232, 1997.

EFROM, Caio Fábio Stoffel; SOUZA, Paulo Vitor Dutra de (Org.). **Citricultura do Rio Grande do Sul: indicações técnicas**. 1. ed. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI; DDPA, 2018.

EISSENSTAT, D. M.; ACHOR, D. S. Anatomical characteristics of roots of citrus rootstocks that vary in specific root length. **The New Phytologist**, v. 141, n. 2, p. 309-321, 1999.

EISSENSTAT, David M. On the relationship between specific root length and the rate of root proliferation: a field study using citrus rootstocks. **New phytologist**, v. 118, n. 1, p. 63-68, 1991.

FAVARIN, José Laércio et al. Equações para a estimativa do índice de área foliar do cafeeiro. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 37, n. 6, p. 769-773, 2002.

FAVERO, Claudenir et al. Modificações na população de plantas espontâneas na presença de adubos verdes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 11, p. 1355-1362, 2001.

- FEICHTENBERGER, E., MULLER, G.W. & GUIRADO, N. Doenças dos citros. In: Kimati, H., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo. Agronômica Ceres. 1997. pp.261-296.
- FERREIRA, Adao de Siqueira; CAMARGO, Flavio Anastacio de Oliveira; VIDOR, Caio. Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 23, n. 4, p. 991-996, 1999.
- FIGUEIREDO, JO de. Variedades copa de valor comercial. **Citricultura brasileira**, v. 1, p. 228-264, 1991.
- FILIPP, Martin et al. Influence of effective microorganisms (EM) on yield and quality in organic apple production. **Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Früchteverwertung**, v. 59, n. 4, p. 250-258, 2009.
- FITTER, A. H. The ecological significance of root system architecture: an economic approach. **Plant Root Growth: an ecological perspective**, p. 229-243, 1991.
- FLEET, Graham H. Yeast interactions and wine flavour. **International journal of food microbiology**, v. 86, n. 1-2, p. 11-22, 2003.
- FOCHESATO, Mário Luís et al. Crescimento vegetativo de porta-enxertos de citros produzidos em substratos comerciais. **Ciência rural**, Santa Maria. Vol. 37, n. 4 (jul./ago. 2007), p. 970-975, 2007.
- FREITAS, S. S.; VILDOSO, C. I. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 6, p. 987-994, 2004.
- FREITAS, S.S. Desenvolvimento de plântulas de café pela inoculação de *Pseudomonas* sp. **R. Bras. Ci. Solo**, 13:31-34, 1989.
- FREY, Serita D. et al. The temperature response of soil microbial efficiency and its feedback to climate. **Nature Climate Change**, v. 3, n. 4, p. 395-398, 2013.
- FROST, H.B.; SOOST, R.K. Seed reproduction: development of gametes and embryos. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. (Ed.). **The citrus industry**. Berkeley: University of California, 1968. v.2, p.290-324.
- FUNDO, DE DEFESA DA CITRICULTURA. Manual de morte súbita dos citros. Araraquara, **FUNDECITRUS**, 2006.
- GASSEN, Dirceu; GASSEN, Flavio. **Plantio Directo o Caminho do Futuro**. ALDEIA SUL, 1996.
- GEYER, Kevin M. et al. Microbial carbon use efficiency: accounting for population, community, and ecosystem-scale controls over the fate of metabolized organic matter. **Biogeochemistry**, v. 127, n. 2-3, p. 173-188, 2016.
- GIASSI, V. **Bactérias como agentes de controle de *Phytophthora nicotianae* e como promotoras de crescimento de porta-enxertos de citros**. Dissertação (Mestrado em

Agroecologia e Desenvolvimento Rural) - Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, p. 60. 2015.

GIASSI, Valdionei; KIRITANI, Camila; KUPPER, Katia Cristina. Bacteria as growth-promoting agents for citrus rootstocks. **Microbiological research**, v. 190, p. 46-54, 2016.

GIULIANI, J. C. **Avaliação de substratos e recipientes para a produção de porta-enxertos de citros**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 85. 2012.

GRAYSTON, Susan J. et al. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 4-5, p. 533-551, 2001.

GUIA, AP de O. Produtividade de milho verde cultivado em sucessão a adubação verde com aplicação de microrganismos eficientes, nas condições de Matias Barbosa, MG. **Embrapa Agrobiologia-Tese/dissertação (ALICE)**, 2018.

HE, Muyang; JIANG, Jianjun; CHENG, Daifeng. The plant pathogen *Gluconobacter cerinus* strain CDF1 is beneficial to the fruit fly *Bactrocera dorsalis*. **Amb Express**, v. 7, n. 1, p. 207, 2017.

HERATH, H. M. I. K. et al. Use of effective microorganisms (EM) and urea in accelerating the decomposition of rice straw. **Tropical Agricultural Research and Extension**, v. 7, p. 62-68, 2004.

HIGA, T. 1988. Studies on the application of microorganisms in nature farming II: The practical application of effective microorganisms (EM) in Japan. **International Nature Farming Research Center**, Atami, Japan, p. 1-11. Unpublished.

HIGA, T.; WIDIDANA, G. N. Changes in the soil microflora induced by effective microorganisms. In: **Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming**. US Department of Agriculture, Washington, DC, USA. 1991. p. 153-162.

HIGA, Teruo. What is EM technology. **EM World J**, v. 1, p. 1-6, 2000.

HIGA, Teruo; PARR, James F. **Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment**. Atami: International Nature Farming Research Center, 1994.

HODGSON, R.W. Horticultural varieties of citrus. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. **The Citrus Industry**. Berkeley, California: University of California / Division of Agricultural Sciences, 1967. v.1, p.431-591.

HUSSAIN, T.; JAVAID, T.; PARR, J.F.; JILANOI, G.; HAQ, M.A. Rice and wheat production in Pakistan with effective microorganisms. **Am. J. Altern. Agric.**, 14:30-36, 1999.

JAVAID, Arshad; BAJWA, Rukhsana. Field evaluation of effective microorganisms (EM) application for growth, nodulation, and nutrition of mung bean. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 35, n. 4, p. 443-452, 2011.

KANG, Sang-Mo et al. Cucumber performance is improved by inoculation with plant growth-promoting microorganisms. **Acta Agriculturae Scandinavica**, Section B—Soil & Plant Science, v. 65, n. 1, p. 36-44, 2015.

KARHU, Kristiina et al. Temperature sensitivity of soil respiration rates enhanced by microbial community response. **Nature**, v. 513, n. 7516, p. 81-84, 2014.

KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 65-76, 1999.

KOLLER, O. L., STUKER, H., VERONA, L. A. F., & SOPRANO, E. (1993). Efeito da umidade da semente, da temperatura de estocagem e da duração de estocagem sobre a germinação de *Poncirus trifoliata* e de outros porta-enxertos de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, 15(1), 27-33.

KOLLER, O.C. **Citricultura: laranja, limão e tangerina**. Porto Alegre: Rigel, 1994. 446p

KOLLER, Osvino Leonardo. Citricultura catarinense. Florianópolis: **Epagri**, 2013.

KOLTUNOW, A.M. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **Plant Cell**, v.5, p.1425- 1437, 1993.

KORNDÖRFER, G. H. et al. Resposta da cana planta a diferentes fontes de fósforo. **Boletim Técnico Copersucar**, v. 45, n. 1, 1989.

KUPPER, Katia Cristina et al. Avaliação de microrganismos antagonísticos, *Saccharomyces cerevisiae* e *Bacillus subtilis* para o controle de *Penicillium digitatum*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 425-436, 2013.

LAVELLE, P. Ecological challenges for soil science. **Soil Science**, Washington, v. 165, n. 1, p. 73-86, 2000.

LEDO, A. da S. et al. Recomendação das laranjas Natal e Valência e técnicas para o plantio no Estado do Acre. **Embrapa Acre-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 1997.

LEITE, C. D.; MEIRA, A. L. **Preparo de Microrganismos Eficientes (E.M)**, Fichas Agroecológicas Tecnologias Apropriadas para Agricultura Orgânica, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/fichasagroecologicas/arquivos-fertilidade-do-solo>>. Acesso em: 14/08/2019.

LENCIONI, Livio et al. Controlled mixed fermentation at winery scale using *Zygorhynchus florentina* and *Saccharomyces cerevisiae*. **International journal of food microbiology**, v. 234, p. 36-44, 2016.

LI-FENG, H. U. et al. Effect of Effective Microorganisms on Straw Decay Rate under Different Cultivation Environments [J]. **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, v. 20, 2008.

LOPES, J. M. S. et al. Importância econômica dos citros no Brasil. **Revista Científica de Agronomia**, Garça-SP, v. 2, n. 2, p. 1-4, 2011.

- MACEDO, Renata F. et al. Production and shelf-life studies of low cost beverage with soymilk, buffalo cheese whey and cow milk fermented by mixed cultures of *Lactobacillus casei* ssp. shirota and *Bi-fidobacterium adolescentis*. **Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms**, v. 39, n. 4, p. 243-251, 1999.
- MADHAIYAN, Munusamy et al. *Methylophilus rhizosphaerae* sp. nov., a restricted facultative methylotroph isolated from rice rhizosphere soil. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 59, n. 11, p. 2904-2908, 2009.
- MAGALHÃES, A. C. Considerações sobre a fisiologia do sistema radicular: o caso das plantas cítricas. **Laranja, Cordeirópolis**, v. 2, n. 9, p. 401-404, 1988.
- MANJA, Karen; AOUN, Mirella. The use of nets for tree fruit crops and their impact on the production: A review. **Scientia Horticulturae**, v. 246, p. 110-122, 2019.
- MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2013). **Instrução Normativa nº 48**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/semntes-e-mudas/publicacoes-semntes-e-as/INN48de24desetembrede2013.pdf>>. Acesso em: 25 de jan. 2018.
- MARTINEZ, Andrea del Pilar Campo et al. Evaluación de microorganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de Popayán. **Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA**, v. 12, n. 1, p. 79-87, 2014.
- MATHEIS, Hector Alonso San Martin; DE AZEVEDO, Fernando Alves; VICTÓRIA FILHO, Ricardo. Adubação verde no manejo de plantas daninhas na cultura de citros. **Citrus Research & Technology**, v. 27, n. 1, p. 0-0, 2020.
- MATTOS JUNIOR, D. de et al. Citros: principais informações e recomendações de cultivo. **Boletim Técnico**, v. 200, 2005a.
- MATTOS JUNIOR, D. et al. Citros, Campinas: **Instituto Agronômico e Fundag**, 2005b, 929p.
- MATTOS JUNIOR, Dirceu et al. Superfícies de resposta do tangor'Murcott' à fertilização com N, P e K. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 164-167, 2004.
- MAYER, Jochen et al. How effective are 'Effective microorganisms®(EM)'? Results from a field study in temperate climate. **Applied soil ecology**, v. 46, n. 2, p. 230-239, 2010.
- MEHOUACHI, J. et al. Defoliation increases fruits abscission and reduces carbohydrate levels in developing fruits and woody tissues of *Citrus unshiu*. **Plant Science**, v.107, p.189-197, 1995.
- MEI, Li et al. Growth, root morphology and boron uptake by citrus rootstock seedlings differing in boron-deficiency responses. **Scientia Horticulturae**, v. 129, n. 3, p. 426-432, 2011.
- MENDES, I. de C.; DOS REIS JUNIOR, F. B. Microorganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica. **Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E)**, 2003.

MOREIRA, F. M. S.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F.; SILVA K. Bactérias associativas: fixadoras de nitrogênio atmosférico. In: MOREIRA, F. M. S.; CARES, J. E.; ZANETTI, R.; STÜMER, S. L. (eds). **O ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal**. Lavras: UFLA. Pp. 341-350. 2013.

MOURA, L. M. F. **Integrações morfo-fisiológicas de raiz e parte aérea conferem tolerância à seca em plantas de *Crambe abyssinica* Hochst e *Raphanus sativus* L.** Tese (Doutorado em Ciências Agrárias - Agronomia) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. Rio Verde - GO, p. 98. 2019.

MURTHY, K. N.; MALINI, M.; SAVITHA, J.; SRINIVAS, C. Lactic acid bacteria (LAB) as plant growth promoting bacteria (PGPB) for the control of wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. **Pest Management In. Horticultural Ecosystems**, v.18, p. 60-65, 2012.

NALLY, María Cristina et al. Biocontrol of fungi isolated from sour rot infected table grapes by *Saccharomyces* and other yeast species. **Postharvest biology and technology**, v. 86, p. 456-462, 2013.

NASCENTE, Adriano Stephan; CRUSCIOL, Carlos Alexandre Costa. Época de dessecação de plantas de cobertura para o plantio do arroz de terras altas. **Embrapa Arroz e Feijão- Documentos (INFOTECA-E)**, 2014.

NEVES, Marcos Fava et al. O retrato da citricultura brasileira. Ribeirão Preto: **CitrusBR**, p. 137, 2010.

NEY, L. et al. Examining trophic-level nematode community structure and nitrogen mineralization to assess local effective microorganisms role in nitrogen availability of swine effluent to forage crops. **Applied Soil Ecology**, v. 130, p. 209–218, 2018.

OLIVEIRA, A. A. R. Micorrização de mudas cítricas. Cruz das Almas, BA: **EMBRAPA – CNPMF**, 1999. (Citros em foco).

OLIVEIRA, R. P. de et al. Mudanças de citros. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2001.

OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B.; RADMANN, E. B. Escarificação química da semente para favorecer a emergência e o crescimento do porta-enxerto Trifoliata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 9, p. 1429-1433, set. 2006.

OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B.; RADMANN, E. B. Procedimentos para o armazenamento de sementes de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25 n. 3, p. 461-463, 2003.

PANG, Jiayin et al. Variation in morphological and physiological parameters in herbaceous perennial legumes in response to phosphorus supply. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1-2, p. 241-255, 2010.

PASCHOAL, A. D. et al. Effect of EM on soil properties and nutrient cycling in a citrus agroecosystem. In: **Third International Conference on Kyusei Nature Farming. Proceedings of a Conference on nature Farming for a Sustainable Agriculture held in Santa Barbara, California, USA**. 1993.

PASSOS, O.S., FILHO, W. dos S.S., SOBRINHO, A.P. da C. (2005) Classificação Botânica. In: Filho, H.P.S., Magalhães, A.F.de J., Coelho, Y. da S. (Ed.) **Citros – 500 Perguntas 500 Respostas**, Embrapa, Brasília – DF, p. 15 – 18.

PEGORER, APR et al. Informações sobre o uso do EM (Microorganismos Eficazes) – Apostila. **Agricultura Natural Messiânica** - Fundação Mokiti Okada – Rio de Janeiro, 1995.

PINEDA, Ana et al. Beneficial microbes in a changing environment: are they always helping plants to deal with insects. **Functional Ecology**, v. 27, n. 3, p. 574-586, 2013.

PLATANIA, Claudia et al. Efficacy of killer yeasts in the biological control of *Penicillium digitatum* on Tarocco orange fruits (*Citrus sinensis*). **Food microbiology**, v. 30, n. 1, p. 219-225, 2012.

POMPEU JUNIOR, J. (2005) Porta-enxertos. In: Mattos Junior, D., De Negri, J. D., Pio, R.M., Pompeu Junior, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, p. 61-104.

PRAGANA, Rossanna Barbosa et al. Atributos biológicos e dinâmica da matéria orgânica em Latossolos Amarelos na região do Cerrado piauiense sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 3, p. 851-858, 2012.

PRETORIUS, Isak S. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**, v. 16, n. 8, p. 675-729, 2000.

RAHIMIAN, Mohamad Hossein; ZABIHI, Hamid Reza. Effects of effective microbes biofertilizer and curing time on powdery, granular and vermicompost maturity. **Net Journal of Agricultural Science**. v. 8(1), p. 8-16, 2020.

RAMACHANDRAN, K., SRINIVASAN, V., HAMZA, S., ANANDARAJ, M. Phosphate solubilizing bacteria isolated from the rhizosphere soil and its growth promotion on black pepper (*Piper nigrum* L.) cuttings. **Developments in Plant and Soil Sciences**. v. 20, p. 325–331, 2007.

RENGEL, Z.; MARSCHNER, P. Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences. **New Phytologist**, Oxford, v. 168, p. 305-312, 2005.

RENGEL, Zed. Genetic control of root exudation. **Plant and Soil**, v. 245, n. 1, p. 59-70, 2002.

RENGEL, Zed. Root exudation and microflora populations in rhizosphere of crop genotypes differing in tolerance to micronutrient deficiency. In: **Plant Nutrition for Sustainable Food Production and Environment**. Springer, Dordrecht, 1997. p. 243-248.

RIO GRANDE DO SUL. **Atlas socioeconômico do Rio Grande do Sul**, 2019. Disponível em < <https://atlassocioeconomico.rs.gov.br/laranja-e-tangerina#:~:text=O%20Rio%20Grande%20do%20Sul,Uruguai%20e%20na%20Campanha%20ga%C3%BAcha.>>. Acesso em: 03 de março de 2020.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Produção Vegetal. Comissão Estadual de Sementes e Mudanças do Estado do Rio Grande do Sul. **Normas e padrões de produção de mudas de fruteiras para o Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: CESM, 1998. 100p.

RODRIGUES, T.J.D., Leite, I.C. 2004. Fisiologia vegetal – hormônios das plantas. **Funep**, Jaboticabal, Brasil. 78p.

ROSOLEM, Ciro Antonio et al. Morfologia radicular e suprimento de potássio às raízes de milho de acordo com a disponibilidade de água e potássio. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 27, n. 5, p. 875-884, 2003.

ROSSETTI, V.V. **Manual ilustrado de doenças dos citros**. Piracicaba: FEALQ, 2001. 207p.

RUIZ, R. et al. Carbohydrate Availability in Relation to Fruitlet Abscission in Citrus. **Annals of Botany**, v.87, p.805-812, 2001.

SACHETTI, Á. S. Caracterização Geotécnica dos Solos de Passo Fundo e Erechim, e Geológica da Rocha de Passo Fundo. **Revista de Engenharia Civil IMED**. 2014, p.11-17.

SAMSUDIN, A. A. et al. The effects of effective microorganisms (EM) on the nutritive values of fungal-treated rice straw. **Malaysian Journal of Animal Science**, v. 16, n. 1, p. 97-105, 2013.

SANTOS, L.F. **Micro-organismos eficientes: diversidade microbiana e efeito na germinação, crescimento e composição química de capim-marandu**. Viçosa. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Federal de Viçosa. 2016.

SCHAFER, G., SOUZA, P. V. D. D., Maciel, H. S., & Fochesato, M. L. (2008). Aproveitamento de plântulas de porta-enxertos cítrico oriundas do desbaste e seu desenvolvimento vegetativo inicial. **Ciência rural**. Santa Maria. Vol. 38, n. 6 (set. 2008), p. 1558-1563.

SCHAFER, G.; DORNELLES, A.L.C. Produção de mudas cítricas no Rio Grande do Sul: diagnóstico da região produtora. **Ciência Rural**, v.30, p.587-592, 2000.

SCHENCK, Mario Zu Schweinsberg-Mickan; MÜLLER, Torsten. Impact of effective microorganisms and other biofertilizers on soil microbial characteristics, organic-matter decomposition, and plant growth. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 172, n. 5, p. 704-712, 2009.

SCIVITTARO, W. B.; DE OLIVEIRA, R. P. Procedimentos para coleta de amostras de tecido foliar e de frutos de citros. **Embrapa Clima Temperado-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2014.

SEAPA/RS. Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado do Rio Grande do Sul. SEAPA. 4 p. **Portaria N° 065/2004**. Acesso em: < www.agricultura.rs.gov.br>. Disponível em: 21 out. 2019.

SERCILOTO, CHRYS MELINSKI et al. Desbaste e desenvolvimento do tangor'Murcott'com o uso de biorreguladores. **Laranja**, v. 24, n. 1, 2003.

SHINGO, Gilberto Yudi; VENTURA, Maurício Ursi. Produção de couve Brassica oleracea L. var. acephala com adubação mineral e orgânica. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 589-594, 2009.

- SHOKOUHIAN, A. A. et al. Investigation of effective microorganisms (EM) impact in water stress condition on growth of almond (*Prunus dulcis* Mill) seedling. **Journal of Basic and Applied Scientific Research**, v. 3, n. 9, p. 86-92, 2013.
- SILVA, Francisco Valfisio et al. Produção de citros irrigados com água moderadamente salina. **Irriga**, v. 1, n. 01, p. 396-407, 2012.
- SILVA, L. da S. et al. **Manual de calagem e adubação para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Núcleo Regional Sul, Comissão de Química e Fertilidade do Solo, 2016.
- SILVA, S. E. L.; SOUZA, A. G. C. Produção de Mudas de Laranja. **Circular Técnica**, v. 14, 2002.
- SILVA, Wesley Zambom et al. Métodos de estimativa de área foliar em cafeeiro. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer–Goiânia**, v. 7, p. 13, 2011.
- SINGH, Shalini; DUTT, Dharm; TYAGI, C. H. Complete characterization of wheat straw (*triticum aestivum* pbw-343 l. Emend. Fiori & paol.)—a renewable source of fibres for pulp and paper making. **BioResources**, v. 6, n. 1, p. 154-177, 2011.
- SIQUEIRA, APP de; SIQUEIRA, MFB de. Bokashi: adubo orgânico fermentado. Niterói: **Programa Rio Rural**, v. 16, 2013.
- SOARES, Lauriane A. dos A. et al. Crescimento de combinações copa-porta-enxerto de citros sob estresse hídrico em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 3, p. 211-217, 2015.
- SOTO, JM Anguiano; CÁRDENAS, J. Anguiano; GARCÍA, JM Palma. Inoculation of substrate with lactic acid bacteria for the development of *Moringa oleifera* Lam plantlets. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 51, n. 2, 2017.
- SOUZA, EL de S.; SCHWARZ, S. F.; DE OLIVEIRA, R. P. Porto-enxertos para citros no Rio Grande do Sul. **Embrapa Clima Temperado-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2010.
- SPIEGEL-ROY, P.; KOCHBA, J. Embryogenesis in Citrus tissue cultures. In: **Advances in Biochemical Engineering, Volume 16**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1980. p. 27-48.
- STANGARLIN, J. R. et al. Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arq. Inst. Biol**, v. 77, n. 1, p. 91-98, 2010.
- TABORA, P.; OKUMOTO, S.; ELANGO, F. Organic and transition bananas: experience with effective microorganisms (EM). **Taller internacional sobre inducción de resistencia y uso de tecnologías limpias para el manejo de plagas en plantas**. Turrialba (Costa Rica), p. 33-39, 2002.
- TOKESHI, H.; CHAGAS, P. R. R. Hormonal effect of EM on citrus germination. In: **Fifth International Conference on Kyusei Nature Farming**. October. 1997. p. 23-26.

TRISTÃO, F.S.M.; ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P.D. Fungos Micorrízicos Arbusculares na Formação de Mudas de Cafeeiro em Substratos Orgânicos Comerciais. **Bragantia, Campinas**, v. 65, n. 4, p. 649-658, 2006.

USDA.gov - United States Department of Agriculture. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/citrus-world-markets-and-trade>>. Acesso em 15/12/2019.

VESSANI F. B. **Qualidade do sistema solo na produção agrícola**. Tese (Doutorado em ciência do solo) – Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 195. 2001.

VEZZANI, Fabiane Machado; TEDESCO, Marino Jose; BARROS, Nairam Felix de. Alterações dos nutrientes no solo e nas plantas em consórcio de eucalipto e acácia negra. **Revista brasileira de Ciência do solo**, v. 25, n. 1, p. 225-231, 2001.

VICENTINI, Luciene Soares; CARVALHO, Kelen; RICHTER, Ana Simone. Utilização de microorganismos eficazes no preparo da compostagem. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, 2009.

VIDAL, Maria de Fátima. Citricultura na área de atuação do BNB. **Caderno Setorial ETENE**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, ano 3, n. 41, set. 2018. (Série Caderno Setorial ETENE, n. 41).

WALLACE, A. et al. Translocation of nitrogen in citrus trees. In: Proceedings of the American Society for Horticultural Science. 701 north saint asaph street, Alexandria, va 22314-1998: **Amer Soc Horticultural Science**, 1954. p. 87-104.

WANG, Yong; QIAN, Pei-Yuan. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. **PloS one**, v. 4, n. 10, p. e7401, 2009.

WULFF, N. A., PASCHOLATI, S. F. 1999. Partial characterization of sorghum phytoalexin elicitors isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. **Fitopatologia Brasileira**. 24:428-435.

WREGEMS, Steinmetz S. et al. **Atlas climático do Rio Grande do Sul** [Internet]. Porto Alegre; CEMETRS/FEPAGRO 2013.

XIE, G.; SU, B.; CUI, Z. Isolation and identification of N₂-fixing strains of *Bacillus* in rice rhizosphere of the Yangtze River valley. **Acta Microbiologica Sinica**, v. 38, n. 6, p. 480-483, 1998.

XIN, YinChuan et al. Screening of effective microorganisms and their combination for degrading the straw of maize and rice. **Journal of Henan Agricultural Sciences**, v. 40, n. 8, p. 125-129, 2011.

ZEKRI, M. Citrus rootstocks affect scion nutrition, fruit quality, growth, yield and economical return. **Fruits**, Paris, v. 55, p. 231-239, 2000.

ZHONG, J.; WANG, Y.; YANG, R.; LIU, X.; YUANG, Q.; QIN, X. The application of ultrasound and microwave to increase oil extraction from *Moringa oleifera* seeds. **Industrial Crops and Products**, v. 120, p. 1-10, 2018.

ZYDLIK, Piotr; ZYDLIK, Zofia. Impact of biological effective microorganisms (EM) preparations on some physico-chemical properties of soil and the vegetative growth of apple-tree rootstocks. **Nauka Przyroda Technologie**, v. 2, n. 1, p. 4, 2008.

APÊNDICES

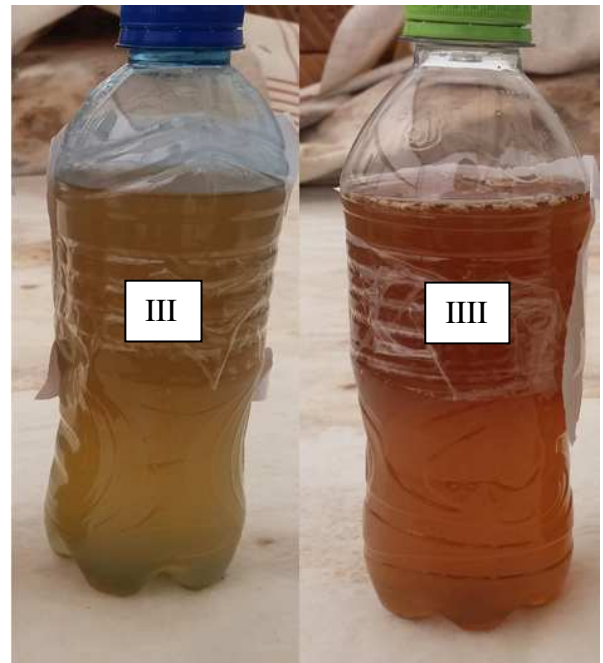
APÊNDICE A – Distribuição das sementes de *P. trifoliata* nos tubetes no momento do plantio (I), muda de *P. trifoliata* no tubete aos 96 DAS (II) e sistema radicular da muda de *P. trifoliata* no momento do transplantio para o saco de polietileno (III).



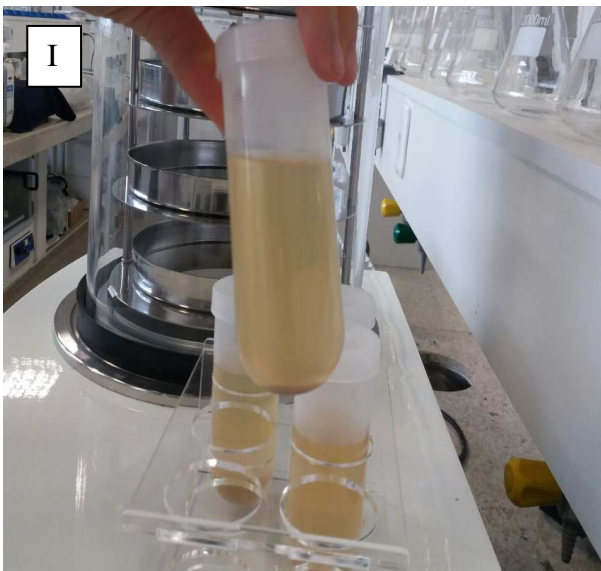
APÊNDICE B - Visão lateral do experimento com *P. trifoliata* aos 155 DAS (I), vista de cima do experimento com *P. trifoliata* aos 155 DAS (II) e vista do caule das plantas do *P. trifoliata* aos 217 DAS (III).



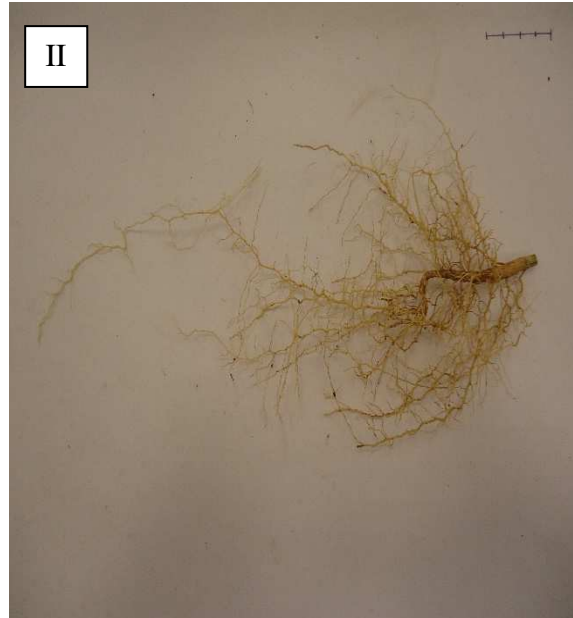
APÊNDICE C - Microrganismos Eficientes Nativos (EMN) estabilizados (I), produto comercial EM1® estabilizado (II), Microrganismos Eficientes Nativos (EMN) ativados (III) e produto comercial EM1® ativado (III).



APÊNDICE D - Microrganismos Eficientes Nativos (EMN) centrifugados (I) e pellet resultante da centrifugação do EMN (II).



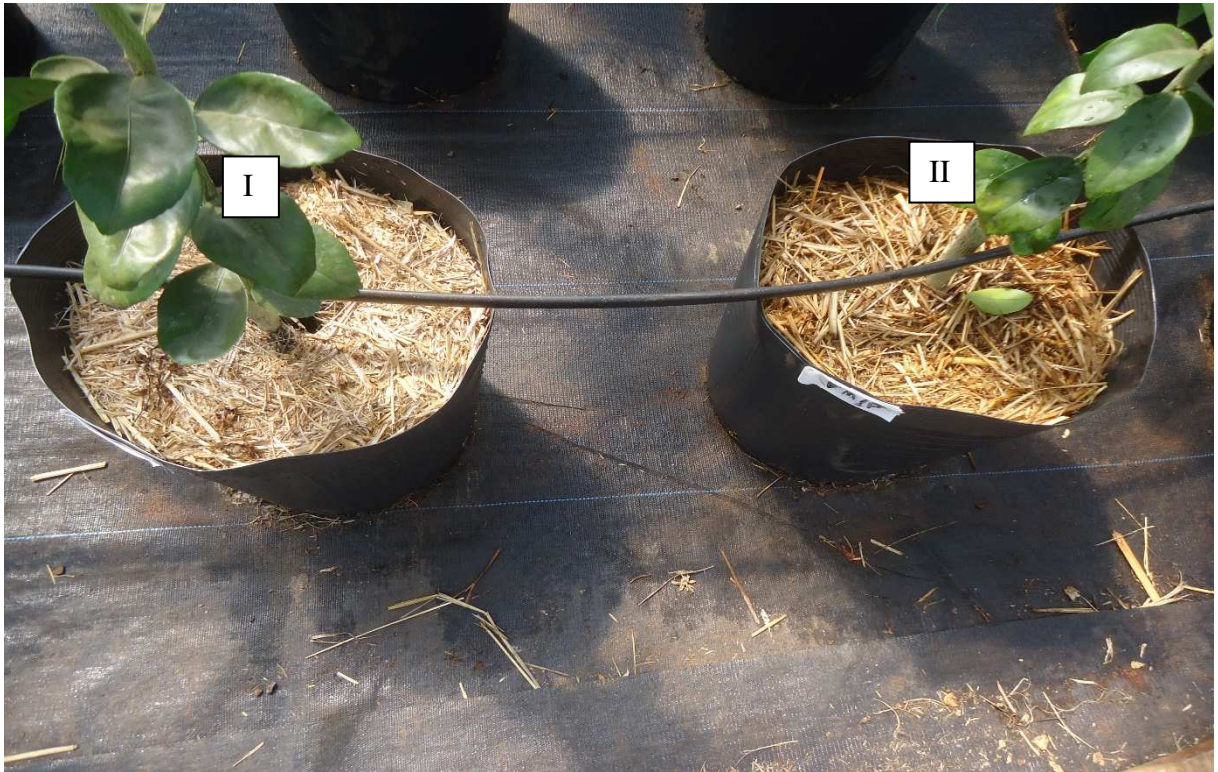
APÊNDICE E - Mensuração do diâmetro da raiz do *P. trifoliata* a nível do colo (DRC) com auxílio de paquímetro (I), sistema radícula do *P. trifoliata* (II), preparo das folhas do *P. trifoliata* para análise da área foliar total (AFT) (III) e pesagem do caule do *P. trifoliata* para obtenção da massa seca (MS) (III)



APÊNDICE F - Momento do plantio das mudas de laranja Valência e tangor Murcott (I), mudas de laranja Valência e tangor Murcott recém plantadas nos vasos (II) e mudas de laranja Valência e tangor Murcott plantadas e com cobertura de palha sobre a superfície do solo presente no vaso (III).



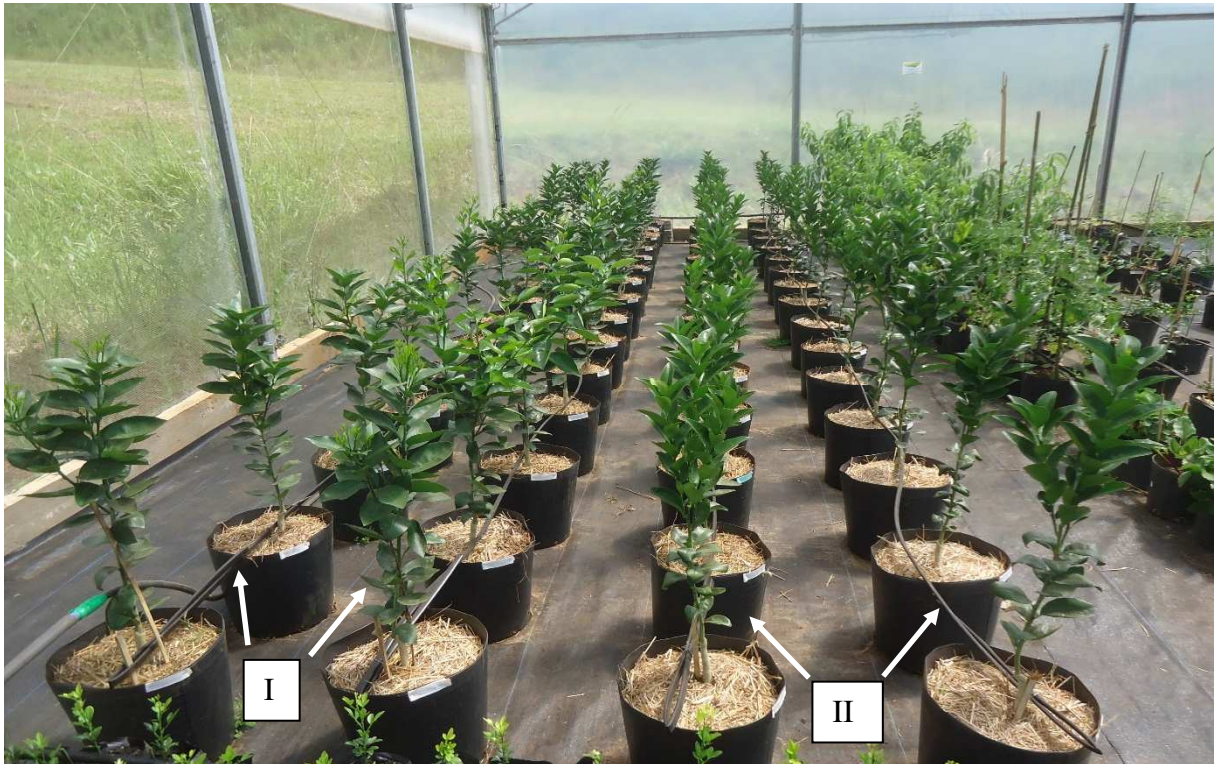
APÊNDICE G - Vaso com cobertura de palha de pousio (I) e vaso com cobertura de palha de aveia (II) em plantas de laranja Valência aos 85 DAP.



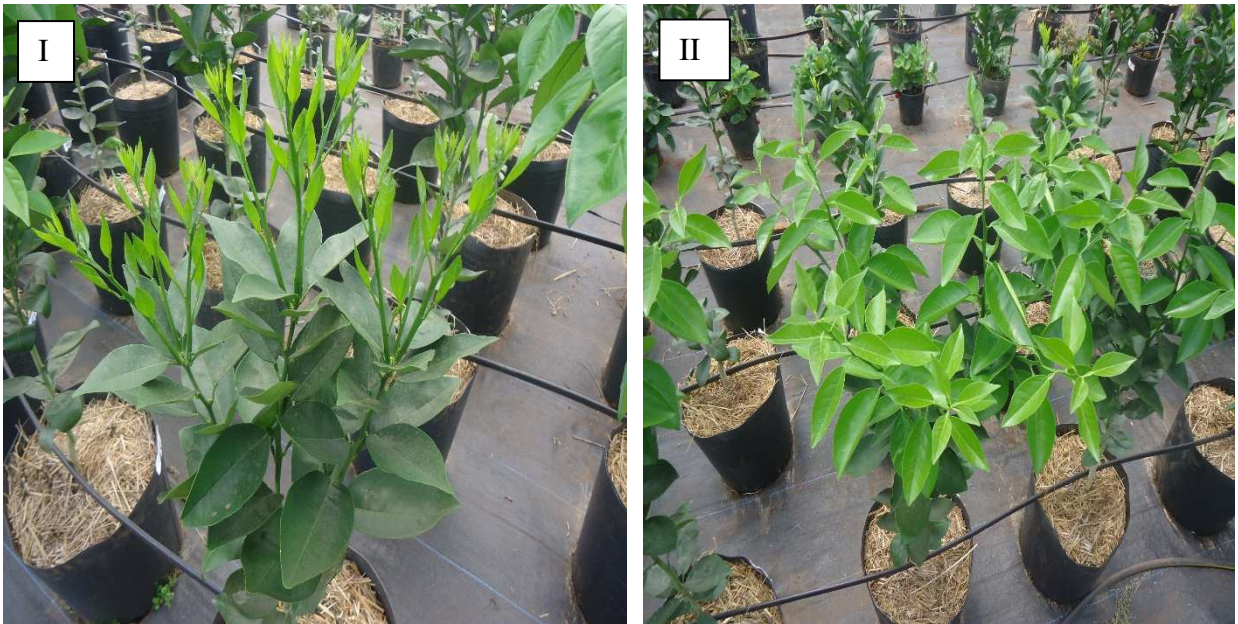
APÊNDICE H - Vista geral do experimento (I) e momento de aplicação dos tratamentos (II) aos 120 DAP.



APÊNDICE I - Vista geral do experimento com laranja Valência (I) e tangor Murcott (II) aos 125 DAP.



APÊNDICE J - Formação em crescimento da copa das mudas da laranja Valência aos 140 DAP (I) e aos 162 DAP (II).



APÊNDICE K – Formação em crescimento dos ramos da laranja (I) e visão geral das plantas de Valência e tangor Murcott (II) aos 175 DAP.



APÊNDICE L - Estado das plantas de tangor Murcott (I) e estado das plantas de laranja Valência (II) aos 264 DAP.



APÊNDICE M – Estado de decomposição das palhadas de aveia (I) e pousio (II) presentes em vasos com plantas de laranja Valência aos 117 DAP.

