



BRUNNO CASSIANO LEMOS ARAÚJO

**SELEÇÃO DE BACTÉRIAS BENÉFICAS PARA O
ENRAIZAMENTO DE MUDAS DE VIDEIRA**

**LAVRAS - MG
2024**

BRUNNO CASSIANO LEMOS ARAÚJO

**SELEÇÃO DE BACTÉRIAS BENÉFICAS PARA O ENRAIZAMENTO DE MUDAS
DE VIDEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia Molecular, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Jorge Teodoro de Souza

Orientador

Dra. Cláudia Rita de Souza

Coorientadora

**LAVRAS – MG
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Araújo, Bruno Cassiano Lemos.

Seleção de bactérias benéficas para o enraizamento de mudas
de videira / Bruno Cassiano Lemos Araújo. - 2024.

50 p.

Orientador(a): Jorge Teodoro De Souza.

Coorientador(a): Cláudia Rita De Souza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Enraizamento. 2. Mudas de videira. 3. Bioestimulantes. I. De
Souza, Jorge Teodoro. II. De Souza, Cláudia Rita. III. Título.

BRUNNO CASSIANO LEMOS ARAÚJO

**SELEÇÃO DE BACTÉRIAS BENÉFICAS PARA O ENRAIZAMENTO DE
MUDAS DE Videira**

**SELECTION OF BENEFICIAL BACTERIA TO PROMOTE ROOTING INGRAFTED
GRAPEVINES**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Fitopatologia, para obtenção do
título de Mestre.


APROVADO em 09/01/2024

Prof. Dr. Jorge Teodoro de Souza UFLA

Dra. Cláudia Rita de Souza EPAMIG Prof. Dr.


Pedro Maranhã Peche UFLA Prof. Dr. Luis

Roberto Batista UFLA

Documento assinado digitalmente
 **JORGE TEODORO DE SOUZA**
Data: 05/03/2024 15:48:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jorge Teodoro de Souza

Orientador

Documento assinado digitalmente
 **CLAUDIA RITA DE SOUZA**
Data: 29/01/2024 20:24:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Cláudia Rita de Souza

Coorientadora

**LAVRAS – MG
2024**

AGRADECIMENTOS

À meus pais Andreia Gonçalves Lemos Araújo e Chelber Cassiano de Araújo, por ajudarem a moldar meu caráter, com valores e princípios, sempre acompanhado de muito amor, atenção e carinho. Além disso, sempre foram os maiores incentivadores dos meus estudos, possibilitando que pudesse ter uma educação de qualidade durante todos esses anos.

À toda minha família, que mesmo distante sempre se mantiveram presentes.

À meu orientador Jorge Teodoro de Souza pela orientação, conhecimento compartilhado, incentivo, amizade e companheirismo durante esses anos.

À minha coorientadora Claudia Rita de Souza por toda ajuda durante esse período, auxiliando não só com meu crescimento profissional como também pessoal.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pela paciência e por todo ensinamento transmitido.

Ao Laboratório de Fitopatologia Molecular, em especial aos meus colegas de pesquisa José Manoel, Valter, Jéssica, Lúcia, Regiane, Ananda, Duda, Julia, Rafael e Luana, por toda amizade, risadas e momentos de descontração, além de todo auxílio durante a pesquisa.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Fitopatologia (DFP) pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

À Empresa Mineira de Pesquisa Agropecuária (EPAMIG), em especial ao Núcleo Tecnológico de Caldas e todos os colaboradores pelo apoio, amizade e todo conhecimento compartilhado.

À técnica do laboratório Luisa e todos os servidores e funcionários da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pela concessão da bolsa de estudos.

Por fim, à Deus por colocar todas essas pessoas no meu caminho, me conceder a oportunidade de fazer o que gosto e sempre abençoar e iluminar minha jornada.

RESUMO

A produção de uvas para a elaboração de vinhos finos na região do Sul de Minas Gerais têm se tornado relevante nos últimos anos. A adesão de produtores ao plantio dessa cultura tem aumentado a cada ano na região e conseqüentemente a demanda por mudas de qualidade segue o mesmo padrão. Para os produtores de mudas algum fator tem limitado a produção, como por exemplo, a baixa taxa de enraizamento das mudas nos viveiros. Nesse sentido, apesar das pesquisas com a cultura da videira nessa etapa do sistema produtivo ainda serem escassas, a utilização de microrganismos com ações benéficas tem demonstrado resultados positivos em diversos outros sistemas de cultivo similares à videira. Alguns gêneros bacterianos estão entre os microrganismos mais utilizados na agricultura atualmente, sendo bastante estudados e empregados como base de diversos bioprodutos. Esses microrganismos são encontrados naturalmente em solos e associados à rizosfera de plantas. O objetivo desse trabalho foi selecionar isolados de bactérias gram-positivas capazes de auxiliar na emissão de raízes e no pegamento de mudas de videira. Os isolados foram obtidos de amostras de solos coletados próximos às raízes ('Bulk soil') e do ambiente rizosférico de mudas de videira. Estacas de porta-enxerto IAC572 foram mergulhadas por 24 h em suspensões bacterianas de cada isolado. Posteriormente, as estacas inoculadas foram plantadas em recipientes plásticos, com uma mistura de areia e substrato, e mantidas em casa de vegetação. Como controle positivo foi utilizado o hormônio vegetal ácido 1-naftaleno- acético (ANA) e negativo apenas água destilada autoclavada. As avaliações consistiram em análises quantitativas de pegamento, massa seca de raiz e parte aérea, comprimento de ramo e teor de clorofila. Os 10 isolados mais promissores foram testados *in vitro* quanto à capacidade de solubilização de nutrientes (P, K) e hidrolisação de proteínas (caseína). Nenhum isolado selecionado nos experimentos *in vivo* foi capaz de solubilizar as fontes disponibilizadas de fosfato (FePO_4) e potássio (mica em pó). A maioria dos isolados com resultados promissores nos testes em casa de vegetação foi capaz de hidrolisar caseína, liberando nitrogênio. As estacas tratadas com os isolados SY01 e INV não se diferenciaram significativamente daquelas tratadas com hormônio vegetal em todas as variáveis analisadas, demonstrando potencial de bioestimulação em estacas de videira. Além desses, os isolados SY18, SY30, BO04 e BO05 também apresentaram resultados semelhantes ao tratamento com hormônio na maioria das variáveis testadas. Os resultados desse trabalho disponibilizam mais uma ferramenta promissora para a produção de mudas de videira, contribuindo com a sustentabilidade do processo. Por fim, se faz necessário a realização de outros estudos, a fim de investigar os mecanismos utilizados por esses isolados e se suas combinações no incremento do pegamento de mudas nos viveiros.

Palavras-chave: enraizamento; mudas de videira; bioestimulantes; bactérias benéficas.

ABSTRACT

The production of grapes for fine wines in the southern region of Minas Gerais has become relevant in recent years. Grapevine planting has increased every year in the region and consequently the demand for high quality grafted grapevine has followed the same trend. However, some factors have limited the production, such as the low rooting rate of grafted vines in nurseries. In this sense, although regional research on grapevines at this stage of production is still scarce, the use of microorganisms with beneficial effects has demonstrated positive results in several other crops. Beneficial bacteria are among the most studied and used microorganisms in agriculture nowadays and are the basis of various bioproducts. These microorganisms can occur naturally in soils and are associated with the plant rhizosphere. The objective of this work was to select isolates of gram-positive bacteria capable of promoting rooting and setting of grafted grapevine plants. The isolates were obtained from soil samples collected close to the roots ('Bulk soil') and from the rhizospheric environment of grapevine plants. Cuttings of rootstock IAC572 were immersed for 24 h in bacterial suspensions of each isolate and subsequently planted in plastic containers filled with a mixture of sand and substrate and kept in a greenhouse. The plant hormone 1-naphthalene-acetic acid (ANA) was used as positive control and autoclaved distilled water as negative control. The evaluations consisted of quantitative analyses of plant setting, root and shoot dry mass, branch length and chlorophyll content. The most promising isolates were evaluated *in vitro* for nutrient solubilization (P, K) and protein hydrolyzation (casein) tests. None of the selected isolates was able to solubilize P (FePO_4) and K. Most of the isolates that showed promising results in the *in vivo* tests were able to hydrolyze casein, releasing nitrogen. The cuttings treated with isolates SY01 and INV did not differ significantly from those treated with the plant hormone in all variables analyzed, demonstrating the potential for biostimulation in grapevine cuttings. In addition to these, the isolates SY18, SY30, BO04 and BO05 also showed results comparable to the hormone treatment in most of the variables tested. The results of this work contributed by providing yet another promising tool for the production of grapevine grafted planting material that may contribute to the sustainability of the process. Finally, it is necessary to carry out more studies to investigate the mechanisms used by these isolates and their combinations to increase setting and growth of grapevines in nurseries.

Keywords: attachment; vine cuttings; beneficial bacterias; biostimulants.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Cultura da videira	11
2.1.1	Aspectos gerais.....	11
2.1.2	Problemas fitossanitários	12
2.1.3	Propagação.....	13
2.2	Microrganismos benéficos do solo e ambientes rizosféricos	16
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
3.1	Coleta.....	19
3.2	Isolamento seletivo de bactérias gram-positivas e contagem de UFCs.....	20
3.3	Extração de DNA, amplificação do gene <i>recA</i> e sequenciamento.....	20
3.4	Experimento <i>in vivo</i> (casa de vegetação)	21
3.5	Seleção dos isolados mais promissores (screening).....	21
3.6	Ensaio com os isolados selecionados.....	22
3.7	Produção dos inóculos bacterianos e aplicação nos porta-enxertos.....	22
3.8	Solubilização de nutrientes	23
3.8.1	Solubilização de fosfato (FePO ₄)	23
3.8.2	Solubilização de potássio (K).....	23
3.8.3	Hidrolisação de caseína.....	24
3.9	Análises estatísticas	24
4	RESULTADOS.....	24
4.1	Diferenças na densidade populacional bacteriana entre ‘bulk soil’ e rizosfera.....	24
4.2	Experimento <i>in vivo</i>	25
4.3	Experimentos <i>in vitro</i>	28
5	DISCUSSÃO	29
6	CONCLUSÃO	32
	REFERÊNCIAS	33
	APÊNDICE	48

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, quando comparado aos países europeus, é considerado novo no cultivo da videira. Apesar disso, a qualidade e produtividade da cultura no país são consideravelmente altas, principalmente devido à utilização de técnicas de manejo específicas e apropriadas para cada região (Favero *et al.*, 2008). Na região do Sul de Minas Gerais, a produção de uvas para vinhos finos tem se tornado relevante nos últimos anos. A maioria das áreas produtoras da região, até então, realizavam uma única colheita no ano durante os meses de verão (entre dezembro e fevereiro) (Amorim; Favero; Regina, 2005). Entretanto, as condições climáticas como altas temperaturas e excesso de chuvas durante o período de maturação das bagas prejudicava a colheita e favorecia a ocorrência de doenças, principalmente o aumento da incidência de podridões dos cachos (Amorim; Favero; Regina, 2005; Jackson; Lombard, 1993). No início do século atual, alguns trabalhos realizados pelo Núcleo Tecnológico da EPAMIG Uva e Vinho (NTEUV) viabilizaram a utilização do manejo de dupla poda, sendo uma no inverno e outra no verão (Amorim; Favero; Regina, 2005; Favero *et al.*, 2008). Esse manejo possibilitou uma mudança no ciclo produtivo da cultura, transferindo a colheita do verão (chuvoso) para o outono/inverno (seco) (Amorim; Favero; Regina, 2005). As baixas precipitações, boa iluminação e amplitude térmica do inverno na região do Sul de Minas possibilitou a colheita com maior acúmulo de açúcares nas bagas e favoreceu a síntese de alguns compostos fenólicos durante a maturação do fruto, fazendo com que o sudeste brasileiro obtenha destaque mundial na produção de “vinhos de inverno” (Favero *et al.*, 2011). Esse manejo viabilizou a mudança no ciclo produtivo da cultura, contribuindo com a qualidade dos frutos e conseqüentemente com a maior adesão de produtores a esse sistema de cultivo. O aumento no interesse de agricultores pela cultura contribuiu para o aumento na demanda de propágulos de qualidade, fazendo-se necessário a otimização dessa etapa do sistema produtivo, a fim de contribuir com o abastecimento de mudas de videira no mercado.

O processo mais comum de produção de mudas de videira é através do sistema de enxertia de mesa. As estacas de porta-enxertos e borbulhas das variedades produtoras comerciais, geralmente, são enxertadas mecanicamente. As mudas enxertadas precisam passar por um período de estratificação (~25 dias), que ocorre em salas com umidade e temperatura controladas, visando à cicatrização da enxertia. Após esse período, as mudas são plantadas em canteiros no campo (comumente chamados de viveiro pelos produtores) durante os meses de verão (novembro-dezembro), onde os brotos e raízes irão se desenvolver para completar o processo de formação de mudas. Ao final do inverno (agosto), as mudas são retiradas do

viveiro e submetidas a uma toaleta (poda de raízes e brotos) e teste de resistência dos enxertos. As mudas então são armazenadas em câmara fria (4°C), durante 2 a 3 meses, até serem disponibilizadas para venda (novembro). Este procedimento auxilia na quebra de dormência e na conservação das estacas enxertadas antes do plantio definitivo no campo (Regina *et al.*, 1998).

A produção de uvas de qualidade está relacionada a diversos fatores, incluindo a cultivar copa, o porta-enxerto e a interação entre eles. A utilização de porta-enxertos de origem americana na viticultura tornou-se obrigatória na produção de mudas. Cultivares americanas são resistentes à filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*), um anfídeo que danifica o sistema radicular ocasionando a morte das videiras. Essa praga afeta principalmente de cultivares européias, que não possuem resistência (Granett *et al.*, 2001). A utilização de porta-enxertos na viticultura tem como intuito aumentar o nível de resistência a doenças das plantas, assegurar o desenvolvimento vegetativo da variedade copa, encurtar a duração no ciclo fenológico da cultura e viabilizar a produção em diferentes condições climáticas (Garrido; Sônego; Gava, 2004; Dias *et al.*, 2012). No Sul de Minas Gerais, os porta-enxertos que se destacam entre os mais utilizados pelos produtores de mudas são ‘IAC 572 Jales’, ‘IAC 766 Campinas’ e ‘Paulsen 1103’, que apresentam boa adaptação às condições de solo e clima da região (Souza *et al.*, 2002). Apesar de serem porta-enxertos vigorosos, alguns trabalhos realizados para avaliar a taxa de enraizamento apresentaram alta variação nos resultados. Driusso e Trevisan (2020), por exemplo, avaliaram a taxa de enraizamento e o crescimento inicial dos porta-enxertos ‘IAC 572’ e ‘IAC 766’ com diferentes doses de hormônio vegetal ácido indol-3-butírico (AIB) e observaram uma variação no tratamento com a dose padrão de 38-72% no pegamento das mudas.

O AIB é um exemplo de regulador de crescimento vegetal aplicado de forma exógena muito utilizado na propagação de mudas. Trata-se de uma auxina que promove o estímulo dos primórdios radiculares, auxiliando no aumento do número e qualidade das raízes formadas. São moléculas naturalmente produzidas pelas plantas, que são estabilizadas e multiplicadas sinteticamente visando sua maior efetividade na formação de raízes dos organismos vegetais (Magevski *et al.*, 2011; Monfort *et al.*, 2018). Entretanto, os resultados da aplicação de reguladores vegetais podem variar dependendo da espécie ou cultivar utilizada, das condições ambientais, da concentração e modo de aplicação do produto, da época do ano e do tipo de estaca (Fachinello *et al.*, 1995).

Objetivando a otimização do sistema de produção de mudas e a disponibilidade de um leque maior de produtos voltados para o desenvolvimento radicular inicial de mudas de

videira, novos insumos têm sido desenvolvidos em instituições públicas e privadas, destacando-se o desenvolvimento de bioestimulantes a base de microrganismos. Aplicados diretamente sobre a planta ou na rizosfera, a ação desses microrganismos é variada, podendo contribuir na melhoria das propriedades físico-químicas do solo, na absorção, translocação e utilização dos nutrientes pelas plantas, no aumento da resistência a pragas e doenças e tolerância a estresses abióticos, na germinação de sementes e no desenvolvimento geral das plantas (Calvo; Nelson; Kloepper, 2014).

Dentre os microrganismos estudados atualmente, fungos e bactérias são os mais empregados na agricultura. *Bacillus* spp. é o gênero do Domínio Bactéria mais utilizado em plantas cultivadas atualmente (Stone; Polishook; White, 2004). São indivíduos gram-positivos que possuem alta capacidade de sobrevivência, principalmente devido à formação de endósporos. Possuem de multiplicação e elevada variação genética dentro do gênero (Köse *et al.*, 2005). São frequentemente descritos como agentes de biocontrole de doenças de plantas. Estudos realizados por Furuya *et al.* (2011), observaram que isolados de *Bacillus subtilis* vivendo endofiticamente foram capazes de suprimir o crescimento de *Botrytis cinerea* (agente causal do mofo cinza da videira) e *Colletotrichum gloeosporioides* (agente causal da podridão madura da videira) em vinhedos já estabelecidos. Além disso, diversos estudos relacionam a ação de metabólitos produzidos por isolados do gênero a funções fitobenéficas voltadas para o sistema radicular (Chen *et al.*, 2009; Rückert *et al.*, 2011). Alguns autores denominam espécies do gênero *Bacillus* como Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP), estimulando o desenvolvimento radicular, através da biodisponibilidade de nutrientes e do estímulo da biossíntese de hormônios vegetais (Compant; Clément; Sessitsch, 2010; STEIN, 2005). Esses estímulos também estão diretamente ligados à tolerância das plantas a estresses abióticos e resistência a estresses bióticos (Compant; Clément; Sessitsch, 2010). Köse *et al.*, (2005) observaram que a aplicação de *Bacillus* spp. promoveu o aumento na taxa de calosidade total em porta-enxertos de videira e proporcionou um incremento na taxa de emissão de raízes.

Nesse sentido, a utilização de microrganismos que auxiliam as plantas no desenvolvimento radicular é bastante conhecida e aplicada na agricultura moderna. No Brasil, os estudos são principalmente direcionados para culturas que são produzidas em larga escala e com valor universal, denominadas commodities agrícolas. Para culturas perenes como a videira existem poucos trabalhos que avaliam o papel desses microrganismos como promotores de crescimento vegetal. Quando estreitamos as buscas na literatura para a utilização desse tipo de manejo biológico na produção de mudas de videira, as pesquisas são

ainda mais escassas. Através do exposto acima, observamos que a etapa de enraizamento dentro do sistema de produção de mudas de videira pode ser aprimorada, obtendo um maior aproveitamento de mudas enraizadas por muda plantada e produzindo um sistema radicular de qualidade. O manejo biológico é uma excelente ferramenta, que tem sido bastante explorada nos últimos anos e pode contribuir com esse objetivo. Dentre os microrganismos benéficos utilizados como agentes biológicos na agricultura atualmente, as bactérias estão entre as mais pesquisadas e utilizadas nos sistemas agrícolas brasileiros. Dessa forma, espera-se que a aplicação de suspensões concentradas de isolados bacterianos obtidos do solo e ambientes rizosféricos da própria cultura de interesse auxilie na bioestimulação de raízes em mudas de videira, visando contribuir com a disponibilidade de mais uma ferramenta de manejo voltada para a otimização dessa etapa do processo de produção de mudas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura da videira

2.1.1 Aspectos gerais

A videira é a planta frutífera mais cultivada no mundo e a produção de uvas representa cerca de 9,5% da produção mundial de frutas (FAO, 2018). As uvas podem ser utilizadas como frutas frescas, frutas secas (passas), suco fresco ou concentrado, vinhos de mesa, espumantes, champanhe, vinhos finos e nobres, licores e destilados derivados de vinhos (conhaque e aguardente). A videira pertence à família *Vitaceae*, que inclui cerca de 60 a 70 espécies do gênero *Vitis* selvagens distribuídas pela Ásia, América do Norte e Europa subtropical (Keller *et al.*, 2010). Teve seus primeiros registros de cultivo há cerca de 7 mil anos, na região do Oriente Médio. Sua dispersão foi intensificada durante o período de domínio do Império Romano, que expandiu o cultivo e consumo da uva por todos os territórios conquistados, sendo eles: Inglaterra, Portugal, França, Alemanha e região norte da África (Neto; Almeida, 1955). Dada à sua alta capacidade de adaptação ao clima e solo de diferentes locais e a possibilidade de utilização de diversas técnicas de manejo, atualmente a videira é cultivada em todos os continentes (OIV, 2017). A China lidera o ranking de produção de uvas com cerca de 19,2% (14,8 milhões de toneladas) do total produzido no mundo (77,5 milhões de toneladas). A Itália vem em seguida, sendo responsável por 10,6% da produção mundial e os EUA com 9,2%. O Brasil ocupa a posição de número 17 no ranking de produção mundial de uvas, com cerca de 1,5 milhões toneladas (1,3%) (FAO, 2018).

No Brasil, os primeiros registros do cultivo da fruta datam os anos de 1532, quando foi trazida por navegadores portugueses. No início, o grande entrave para a produção de uvas de qualidade no país estava relacionado à variação climática das diferentes regiões brasileiras. As condições encontradas por vitivinicultores na época eram bem diferentes do clima europeu, que já produzia vinhos desde 4 mil anos a. C. Contudo, os avanços tecnológicos e as pesquisas realizadas no século XX foram essenciais para que a cultura pudesse se desenvolver nas diferentes regiões edafoclimáticas brasileiras. A evolução da cultura no país foi proporcionada pelo desenvolvimento de porta-enxertos adaptados aos variados solos e climas brasileiros, assim como a escolha de cultivares resistentes, a projeção de novas cultivares-copa e, principalmente, a utilização de técnicas de manejo adaptadas a cada região do país. Todo esse avanço na pesquisa fez com que o Brasil pudesse ser capaz de produzir uvas com qualidade e sustentabilidade, de Norte a Sul do país. Atualmente, a vitivinicultura brasileira ocupa uma área de 75 mil hectares e a uva já alcançou a terceira posição entre as frutas mais

produzidas no Brasil, ficando atrás somente da laranja e banana. Para o abastecimento do mercado interno, os produtores brasileiros utilizam cultivares americanas para frutas de mesa (ex.: Niágara Rosada) e para produção de sucos e vinhos comuns (ex.: Isabel, Bordô). Além disso, na região do Vale do São Francisco, também são produzidas uvas de origem europeia, conhecidas como uvas finas (com ou sem sementes), que abastecem tanto o mercado interno quanto externo. O Brasil tem ganhado notoriedade na produção de vinhos de excelente qualidade, produzidos principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste do país (Visão Agrícola, 2021).

Em Minas Gerais, a tradicional zona vitícola voltada para elaboração de vinhos se concentra na região sul do estado. Nessa região, assim como na maioria das regiões produtoras do Brasil, a videira começa sua fase de brotação em setembro, floresce em outubro e inicia a maturação das bagas em dezembro, para serem colhidas entre janeiro e fevereiro (Favero *et al.*, 2008). Nesse período, é comum que os índices de precipitação pluviométrica mensal da região sejam elevados, o que prejudica a maturação das bagas e fornece condições ideais para o surgimento de doenças (Amorim; Favero; Regina, 2005). Estudos analisaram possíveis manejos que permitiram com que a colheita ocorresse em meses com menores índices de precipitação pluviométrica, associados à amplitude térmica na fase de maturação (Amorim; Favero; Regina, 2005; Favero *et al.*, 2008; Favero *et al.*, 2011). Esse processo favorece o acúmulo de açúcares nas bagas aliado ao maior equilíbrio entre açúcares e ácidos, além de possibilitar um aumento na síntese de polifenóis em comparação ao manejo tradicional (Amorim; Favero; Regina, 2005; Favero *et al.*, 2011). Dias *et al.*, (2011) verificaram boa adaptação de algumas cultivares a um novo manejo, que faz com que o ciclo produtivo seja transferido para os meses de janeiro a julho, permitindo que a colheita seja realizada no período seco da região. Para que ocorra essa mudança no ciclo da cultura, uma abordagem proposta por Favero *et al.*, (2011) têm sido utilizada. Essa proposta consiste basicamente na realização do manejo de dupla poda (uma no inverno e outra no verão), o que possibilita realizar a colheita na estação seca (outono-inverno). Embora esta abordagem pareça muito promissora, outras práticas culturais, como combinações de enxertos, melhorias no enraizamento de estacas e supressão de doenças precisam ser avaliadas para otimização da produção (Dias *et al.*, 2017).

2.1.2 Problemas fitossanitários

A videira é afetada por um grande número de patógenos como fungos, oomicetos e bactérias (Gouadec *et al.* 2007), que podem causar doenças desde o processo de preparação e

formação de mudas até as etapas de pós-colheita. As injúrias causadas pelos fitopatógenos na cultura ocasionam perdas em várias etapas do processo produtivo como na produção em campo, no processamento dos frutos e na exportação do produto final, acarretando em prejuízos para os produtores. A severidade das doenças causadas por fungos, por exemplo, tendem a aumentar quando as plantas são atacadas por insetos como a filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*), que provocam lesões severas nas raízes das plantas, servindo como portas de entrada para a penetração e infecção de fitopatógenos (Edwards *et al.*, 2007; Lotter; Granett; Omer, 1999). Além disso, essas doenças afetam a qualidade dos frutos, gerando danos drásticos também na qualidade dos vinhos e em suas propriedades sensoriais e organolépticas (Gouadec *et al.* 2007). Algumas das doenças mais comuns em *Vitis vinifera* são: mofo cinzento, oídio e míldio, causados por *Botrytis cinerea*, *Erysiphe necator* e *Plasmopara viticola*, respectivamente (Armijo *et al.*, 2016). Outras doenças de suma importância na cultura são conhecidas por ocasionarem murchas e podridões das raízes, causadas por patógenos fúngicos como *Armillaria* spp., *Fusarium* spp. e *Verticillium dahliae*, que foram relatados causando prejuízos de até 100% na produção (Garrido; Sônego; Gomes, 2004; Jiang *et al.*, 2009; Rolshausen *et al.*, 2010; Ziedan; Embaby; Farrag, 2011). O primeiro estudo para investigar a ocorrência de fungos fitopatogênicos associados à morte e podridão radicular em videira constatou a presença e a patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *herbemontis*, causando a morte das plantas da cultivar Herbemont (Tocchetto A., 1954). Estudos posteriores observaram sintomas similares na videira e atribuíram a diferentes fitopatógenos, como: *Rhizoctonia solani* (Walker, 1994), *Pythium ultimum* (Utkhede, 1992), *Phytophthora* spp. (Spies; Mazzola; Mcleod, 2011) e *Phymatotrichium omnivorum* (Ramirez Arredondo, 1994).

2.1.3 Propagação

Em meados do século XIX, a cultura da uva na Europa sofreu com ataques da filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*), um pulgão sugador de raízes que causa a morte das plantas da espécie *Vitis vinifera*, sensível àquela praga. Desde então, o processo de enxertia da videira passou a ser uma prática considerada obrigatória para a cultura, sempre buscando a introdução de porta-enxertos resistentes à praga. A partir de então, a propagação da videira passou a ser realizada através da enxertia, que poder ser realizada diretamente no campo, em porta-enxertos enraizados no local de cultivo ou através da enxertia mecânica (ou de mesa). Atualmente, a principal forma de propagação da videira é através de mudas enxertadas, obtidas através da enxertia de mesa.

A propagação assexuada é amplamente utilizada, gerando plantas que mantêm as características herdadas da planta-matriz. Essa estratégia de multiplicação através de estaquia é uma das principais formas de propagar porta-enxertos de plantas frutíferas atualmente (Tecchio *et al.*, 2007). Algumas cultivares porta-enxerto de videira apresentam alta capacidade de formarem raízes adventícias através de suas estacas. Em contrapartida, existem cultivares que demonstram grande dificuldade nessa etapa de enraizamento (Tofanelli, 1999). A dificuldade de enraizamento das estacas constitui um dos mais sérios problemas de propagação na cultura da videira (Biasi, 1996; Mayer, 2006). O processo de emissão de raízes em estacas de videiras é afetado por vários fatores como a variabilidade genética, a condição fisiológica da planta matriz, a idade da planta, o balanço nutricional, o tipo de estaca, a época do ano, as condições ambientais, o substrato e a capacidade de produção hormonal, que podem atuar de forma isolada ou combinada (Bettoni *et al.*, 2014; Nachtigal; Pereira, 2000). Tem sido observado que o fornecimento de condições e fatores ideais para o enraizamento pode afetar de forma positiva a emissão de raízes em espécies de difícil pegamento (Oliveira *et al.*, 2002). Desse modo, uma forma de potencializar a capacidade de enraizamento de estacas de videira é através da aplicação exógena de reguladores de crescimento. Têm sido utilizados principalmente produtos a base de auxinas como o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftalenacético (ANA), que possuem efeitos positivos no impulso inicial da emissão de raízes (Villa *et al.*, 2003). Antes do tratamento com hormônios vegetais as mudas enxertadas passam por um processo de estratificação, no qual são acondicionadas em ambientes com temperatura e umidade controlados. Essa é uma técnica essencial na cicatrização do enxerto e na formação das mudas, favorecendo o aumento do enraizamento e a emissão de raízes no campo (Salibe *et al.*, 2010). Embora o uso de auxinas sintéticas seja frequente no processo de produção de mudas enxertadas de videira, a porcentagem de pegamento das mudas ainda é relativamente baixa, quando comparados com outras culturas propagadas de forma semelhante. Regina *et al.* (2012) por exemplo, não observaram efeito no uso de AIB durante o enraizamento de mudas de Carbernet Sauvignon enxertadas sob porta-enxertos de 1103Paulsen.

Na tentativa de aumentar o desenvolvimento vegetativo de plantas de videira, alguns estudos buscam investigar os resultados proporcionados com a utilização de fungos e bactérias benéficas (Compant *et al.*, 2005; Compant; Clément; Sessitsch, 2010; Erdogan *et al.*, 2018; Köse *et al.*, 2005; Linderman; Davis, 2001). Entretanto, a maioria das pesquisas nesse sentido é realizada com foco no desenvolvimento vegetativo de plantas adultas, já instaladas no campo. Por isso, é interessante investigar a ação desses agentes biológicos como

ferramenta bioestimulante no processo de propagação das mudas de videira.

Bioestimulantes são substâncias de origem biológica que estimulam direta ou indiretamente melhor desempenho no processo fisiológico das plantas (Rodrigues *et al.*, 2020). São capazes de melhorar a eficiência na absorção de nutrientes pelas raízes, tornar as plantas mais tolerantes a estresses abióticos e resistentes a estresses bióticos. A aplicação de bioestimulantes na cultura da videira tornou-se uma estratégia interessante também para a prevenção de doenças de plantas (Gutiérrez-Gamboa *et al.*, 2019). Os bioestimulantes comerciais contêm geralmente, além de reguladores vegetais, outras substâncias que promovem o crescimento vegetal como carboidratos e aminoácidos. Estes produtos podem ser adicionados próximos às raízes, acompanhando os exsudatos produzidos na rizosfera. São compostos, em sua maioria, por aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares, fenóis e outros metabólitos secundários, capazes de influenciar na manutenção do contato entre o solo e a raiz e contribuir para o desenvolvimento das plantas (Walker *et al.*, 2003). Entre os bioestimulantes podemos citar uma quantidade variada de produtos, tais como: inoculantes microbianos, extrato de algas, compostos contendo aminoácidos, ácidos húmicos e fúlvicos, elicitores, biofertilizantes e reguladores vegetais (Rodrigues *et al.*, 2020). Esses produtos têm capacidade de serem utilizados em várias etapas do ciclo de produção da videira. Na etapa de enraizamento de estacas, por exemplo, uma das linhas de pesquisa mais estudadas é o emprego de reguladores de crescimento, tornando o processo de produção de mudas mais eficiente (Calvo; Nelson; Kloepper, 2014). Esses reguladores são capazes de acelerar a fase de formação de raízes, além de melhorar a qualidade e a uniformidade das mudas (Hartmann; Kester, 1978; Fachinelo, 1994). Entretanto, mesmo com o uso desses reguladores vegetais, algumas cultivares possuem maior dificuldade de emitir raízes. Várias pesquisas analisaram o uso de bioestimulantes na cultura da uva, porém os estudos são direcionados principalmente para a aplicação de extratos de algas, elicitores e resíduos da indústria, além de reguladores de crescimento (Belhadj *et al.*, 2008; Calvo; Nelson; Kloepper, 2014; Samuels; Setati; Blancquaert, 2022). Em contrapartida, a utilização de microrganismos que possuem ações promotoras de crescimento vegetativo é pouco estudada na cultura (Rolli *et al.*, 2017; Shcherbakov *et al.*, 2016) e são ainda mais escassos trabalhos que analisam a influência desses microrganismos benéficos no auxílio do desenvolvimento radicular de mudas de videira.

A utilização de microrganismos com ações benéficas às plantas é bastante estudada em diversas culturas. Estudos realizados em culturas como soja (Araújo; Henning; Hungria, 2005), tomate (González-Pérez *et al.*, 2022), milho (Calzavara *et al.*, 2018) e feijão (Veja *et*

al., 2018) observaram que alguns microrganismos, tais como bactérias, são capazes de acompanhar a síntese de exsudatos das raízes, se desenvolvendo junto com o crescimento radicular e realizando um recrutamento microbiano benéfico de populações já estabelecidas no solo. Apesar do potencial observado no uso desses microrganismos promotores de crescimento para auxiliar no impulso inicial da emissão de raízes em outras culturas (Rolli *et al.*, 2017; Shcherbakov *et al.*, 2016), poucos trabalhos procuraram investigar o emprego dessa ferramenta biológica em culturas perenes como a videira.

2.2 Microrganismos benéficos do solo e ambientes rizosféricos

A maioria dos estudos de interação planta-microrganismos benéficos se concentra em abordagens moleculares para supressão de possíveis fitopatógenos (Oliveri *et al.*, 2007; Schmidt *et al.*, 2003; Singh; Hughes, 2006). A interação entre comunidades de microrganismos benéficos e suas plantas hospedeiras está longe de ser totalmente elucidada. Em videiras, os estudos estão relacionados principalmente com a investigação de comunidades bacterianas associadas ao solo (Andreolli *et al.*, 2016, 2019; Bulgari *et al.*, 2009, 2011; Compant *et al.*, 2005, 2013; Koranda *et al.*, 2011). Nas últimas décadas o interesse por bactérias benéficas vem aumentando devido à descoberta de inúmeras aplicações na agricultura, seja utilizando o próprio microrganismo ou seus produtos naturais (Compant *et al.*, 2013). Vários estudos relatam a colonização interna das plantas por bactérias em diversas espécies hospedeiras e/ou oportunistas. Essas plantas podem abrigar de forma simultânea uma grande variedade genética de bactérias, tanto gram-positivas, quanto gram-negativas (Lodewyckx *et al.*, 2002; Ulrich; Stauber; Ewald, 2008). Esses microrganismos agindo em sinergia com os organismos vegetais podem gerar inúmeros benefícios de proteção às plantas, como interferir na sinalização de fitopatógenos, competir por espaço e nutrientes com possíveis microrganismos invasores ou até mesmo induzir resistência nas plantas colonizadas (Compant *et al.*, 2005). Dependendo das condições, essas bactérias benéficas podem atuar também como promotoras de crescimento (PGPB), influenciando no desenvolvimento radicular dos vegetais (Compant; Clément; Sessitsch, 2010). Vários estudos demonstraram que alguns gêneros bacterianos podem auxiliar na remoção de compostos químicos indesejáveis, na fixação de nitrogênio e na solubilização de alguns nutrientes, tornando-os prontamente disponíveis para as plantas (Hayat *et al.*, 2010; Validov; Kamilova; Lugtenberg, 2009; Compant *et al.*, 2005). Tais benefícios podem ser mediados pela produção de fitohormônios e estimulação de atividades enzimáticas específicas na planta hospedeira, levando a um aumento na absorção de água e nutrientes, e promovendo respostas de defesa

das plantas a fatores bióticos e abióticos (Stone; Polishook; White, 2014). Além disso, a utilização de microrganismos é bastante promissora como estratégia de redução no uso de defensivos químicos na produção de uvas (Compant *et al.*, 2013).

Entre os vários gêneros de bactérias benéficas encontradas no solo, *Bacillus*, *Enterobacter* e *Pseudomonas* estão entre as mais amplamente distribuídas (Adesemoye *et al.* 2008; León *et al.*, 2009; Park *et al.* 2015). Essas bactérias possuem diversas características benéficas para as plantas, como a capacidade de produzir metabólitos secundários, alto potencial de colonização, grande versatilidade nutricional e capacidade de sobrevivência em diversos nichos ecológicos (Chanway *et al.* 2000; Aagot *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2018; Vejan *et al.* 2016). Considerando essa abordagem de exploração de comunidades bacterianas associadas ao solo e ambientes rizosféricos de mudas de videira, são raros os estudos encontrados na literatura, tanto em termos de diversidade microbiana e suas interações com as plantas hospedeiras, quanto no potencial desses microrganismos para aplicações biotecnológicas na cultura.

As populações bacterianas em ambientes rizosféricos podem ser até 1.000 vezes superiores àquelas encontradas no solo (Lugtenberg e Bloemberg 2004), cujas variâncias não estão apenas relacionadas com as características do microambiente, mas também aos mecanismos genéticos das plantas e dos microrganismos (Campos *et al.*, 2013; Vacheron *et al.* 2013). Como o rizoplaneo é nutricionalmente um ambiente mais rico em relação às outras porções do solo (Walker *et al.* 2003), essas diferenças na densidade e diversidade populacional microbiana podem ser parcialmente explicadas pela liberação dos exsudatos das raízes (Lamb *et al.* 1996; Elvira-Recuenco; Van Vuurde 2000). À medida em que as observações se afastam do ambiente rizosférico ocorre um gradiente reducional desses exsudatos no solo, moldando a abundância, riqueza e composição das comunidades microbianas presentes (Trabelsi; Ridha 2013). A exceção desses padrões são geralmente observados em bactérias gram-positivas, que tendem a ter preferências por porções de solo mais afastadas das ações dos exsudatos radiculares, encontrando menos competição em um ambiente mais inóspito à maioria dos gêneros bacterianos. Estudos realizados por Loguercio *et al.*, (2023), encontraram densidades populacionais de bactérias gram-positivas (ex. *Bacillus* spp.) 10x maior em amostras coletadas de solos em relação às amostras coletadas de raízes de cacau. O contrário foi observado com bactérias gram-negativas (ex.: *Pseudomonas*), revelando maior densidade populacional nas raízes das plantas estudadas. Isso acontece porque bactérias gram-positivas possuem maior capacidade de sobrevivência no solo através da formação de endósporos, mas menor capacidade competitiva em ambientes ricos em

nutrientes como é o caso da rizosfera. Foi demonstrado que nesses ambientes, bactérias gram-positivas tendem a ser inibidas, enquanto bactérias gram-negativas tendem a ser estimuladas (Silva; Nahas, 2002; Geetanjali; Jain, 2016). São encontrados índices menores de diversidade e densidade populacional de bactérias gram-positivas em solos desprovidos de nutrientes, nas quais espécies com menor crescimento potencial e maiores habilidades de sobrevivência predominam (Smit *et al.*, 2001).

Algumas bactérias encontradas nos sistemas agrícolas são capazes de colonizar as raízes das plantas e estimular o crescimento e rendimento produtivo das culturas hospedeiras. Esses organismos bacterianos são denominados como Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP) (Chanway *et al.*, 1989). Atualmente, o uso de BPCP nos solos agrícolas vêm ganhando espaço no mercado, podendo ser encontradas como base de biofertilizantes, biocontroladores e fitoestimulantes (Berg; Smalla, 2009; Beneduzi; Ambrosini; Passaglia, 2012). Vários isolados bacterianos são conhecidos por cumprirem funções auxiliares no desenvolvimento de plantas e, alguns gêneros evoluíram na cadeia produtiva e se tornaram produtos comerciais, como *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Azospirillum* (Jha; Saraf, 2015).

O gênero *Bacillus* é um dos mais utilizados na agricultura como base de diversos bioprodutos formulados. São bactérias gram-positivas e podem ser anaeróbias ou aeróbias facultativas, dependendo da espécie. Possuem alta capacidade de produzir uma ampla gama de enzimas, antibióticos e metabólitos secundários (Grover *et al.*, 2011; Vejan *et al.*, 2016). São bactérias formadoras de endósporos, o que lhes permite sobreviver em condições abióticas adversas (Siddikee *et al.*, 2010). Possuem capacidade de formar biofilmes nas superfícies radiculares e de induzir resistência sistêmica do hospedeiro, além de estimularem o crescimento vegetal (Kinsinger *et al.*, 2003). Essas características fez despertar o interesse da cadeia produtiva agrícola e, atualmente é o gênero de bactérias mais utilizado na agricultura extensiva (Kinsinger *et al.*, 2003).

Algumas espécies bacterianas possuem a capacidade de atuar tanto na supressão de doenças (Li *et al.*, 2015) como na promoção de crescimento vegetal (Kinsinger *et al.*, 2003). Seus vários mecanismos de ação, diretos e indiretos, como a secreção de algumas enzimas como proteases, quitinases e glucanases, que atuam como antibióticos e contribuem diretamente na supressão de fitopatógenos (Ali *et al.*, 2018; Tsoetsi *et al.*, 2022). Esses microrganismos bacterianos benéficos também são capazes de secretarem metabólitos secundários como surfactina, que fazem parte do processo de ISR (Resistência Sistêmica Induzida), auxiliando a planta no combate de microrganismos invasores (García-Gutiérrez *et al.*, 2013; Cawoy *et al.*, 2014). Espécies de *Bacillus* spp., por exemplo, são boas

colonizadoras e competidoras por espaço e nutrientes, o que dificulta o estabelecimento de possíveis microrganismos fitopatogênicos. Além disso, alguns isolados bacterianos possuem potencial em estimular a tolerância de plantas a estresses abióticos (Santoyo *et al.*, 2012).

A incorporação de bactérias benéficas como bioestimulantes em sistemas de cultivo tem se mostrado ser uma ferramenta interessante como estratégia para uma agricultura mais sustentável (Backer *et al.*, 2018). A aplicação desses microrganismos em culturas agrícolas pode promover o crescimento de plantas por meio de mecanismos diretos como a produção de sideróforos, fixação de nitrogênio e solubilização de alguns nutrientes; e indiretos como a produção de exopolissacarídeos (EPS), formação de biofilme e produção de enzimas líticas (Vejan *et al.*, 2016). Além disso, após a colonização, algumas espécies são capazes de secretarem compostos orgânicos voláteis (COVs), que modificam o balanço hormonal das plantas, promovendo a divisão celular e o crescimento radicular (Arkhipova *et al.*, 2005). A capacidade de produção de hormônios vegetais por bactérias promotoras de crescimento é considerada um dos mecanismos mais importantes dentro de seus atributos multifuncionais, auxiliando no desenvolvimento vegetativo (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). Os principais fitormônios produzidos por BPCP são auxinas, citocininas e giberelinas. Esses fitohormônios são responsáveis por promover o crescimento vegetal, divisão, expansão e diferenciação celular, auxiliando na absorção de nutrientes pelas plantas e na emissão de raízes primárias (Tsavkelova *et al.*, 2007; Glick, 2014; Wong *et al.*, 2015).

É comum encontrar estudos envolvendo diversas espécies de gêneros bacterianos benéficos no crescimento vegetal de culturas como feijão (Manjula; Podile, 2005), algodão, milho e soja (De Araujo *et al.*, 2008). Entretanto, para culturas frutíferas perenes como a videira, as pesquisas são mais escassas e limitadas a aplicações com intuito de estimular o desenvolvimento de plantas adultas (Sabir *et al.*, 2012; Andreolli *et al.*, 2016; Kose *et al.*, 2005). Apesar disso, há um potencial enorme a ser explorado na utilização desses organismos promotores de crescimento em outras etapas do processo produtivo, principalmente para culturas frutíferas que se propagam de forma assexuada, através da produção de mudas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta

Foram coletadas mudas enxertadas de videira com porta-enxertos das variedades IAC 572 e 1103Paulsen e cultivares copa 'Syrah' e 'Bocaina', no viveiro de mudas da Estação Experimental de Viticultura e Enologia da EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), localizada no município de Caldas, Minas Gerais. Amostras de raízes, solos da

rizosfera e solos próximos às raízes ('bulk soil') foram colocados em sacos plásticos e identificados. As amostras foram mantidas a 4°C no Laboratório de Fitopatologia Molecular da Universidade Federal de Lavras (UFLA) até a realização dos procedimentos de isolamento dos microrganismos das amostras.

3.2 Isolamento seletivo de bactérias gram-positivas e contagem de UFCs

O isolamento seletivo de bactérias gram-positivas através de amostras de solo da rizosfera foi realizado de acordo com método de diluição seriada (Silva, 2014). Inicialmente 5 g de solo foi pesado e colocado em estufa a 60°C por 5 h. Após a secagem das amostras, 1 g de cada solo foi transferido para tubos de Falcon contendo 9 mL de solução salina. Os tubos foram agitados com auxílio do Vortex por 1 min, deixados em banho maria a uma temperatura de 80°C por 12 min e posteriormente transferidos para um recipiente com gelo por 5 min. A suspensão foi agitada novamente em Vortex por 1 min e realizado diluições até 10^{-4} em microtubos de 2 mL. Foi pipetado 100 μ L da solução diluída (10^{-4}) foram transferidos para placas de Petri contendo meio AN (Ágar-Nutriente) e espalhados com auxílio da alça de Drigalski. Foram realizadas 3 repetições para cada amostra de solo. As placas foram acondicionadas invertidas em BOD a 25°C por 24 h. Após o período de incubação, colônias com características morfológicas semelhantes ao gênero *Bacillus* foram selecionadas, contabilizadas e transferidas para novas placas de Petri contendo meio AN (Ágar-Nutriente), de forma a certificar a ausência de outros organismos contaminantes. Os isolados purificados foram transferidos para erlenmeyers de 250 mL, contendo 50 mL de caldo nutriente (peptona bacteriológica e extrato de carne). Os erlenmeyers foram colocados em mesa agitadora a 150 rpm por 24 h. Após o crescimento das bactérias em meio líquido, foram pipetados 0,9 mL da suspensão em microtubos de 2 mL, juntamente com 0,9 mL de glicerol diluído a 40% e armazenados a -20°C para avaliações posteriores. O isolado INV foi o único isolado testado nos experimentos que não foi originado desse trabalho. Esse isolado fazia parte da coleção de culturas do Laboratório de Fitopatologia Molecular da Universidade Federal de Lavras (DFP/UFLA).

3.3 Extração de DNA, amplificação do gene *recA* e sequenciamento

As colônias puras de cada isolado foram cultivadas em placas de Petri contendo meio AN por 24 h a 28°C. Posteriormente foi retirado com uma alça de repicagem uma colônia de cada isolado e transferido para erlenmeyers de 250 mL contendo caldo nutriente. Após 24 h, a solução com os isolados multiplicados foram transferidas para microtudos de 1,5 mL,

centrifugado e ressuspenso em 100 μ L de tampão de extração (0,05 Mol.L⁻¹NaOH + 0,25% SDS). Os microtubos foram incubados em banho-maria a ~97°C por 15 min, sendo agitados manualmente a cada 2 min. Após esse processo, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente por 2 min e centrifugados a 10.000 rpm por 2 min. O DNA total presente no sobrenadante foi diluído 20x em tampão água “MilliQ” ultrapura e armazenado a -20°C para uso posterior.

Para a amplificação foi utilizado um par de primers do gene *recA*, que representa uma das regiões conservadas no genoma do gênero *Bacillus* spp. e outras bactérias gram-positivas. As sequências dos primers utilizados foram as seguintes: *recA*-R (TTCTTCATAAGAATACCACGAACCGC) e *recA*-F (TGAGTGATCGTCAGGCAGCCTTAG), produzindo produtos com tamanho de 600-1000 pb. Um mix de PCR (25 μ L) foi preparado para cada isolado utilizando 1 U de Taq polimerase (Ludwig), 3 mM MgCl₂, 0,2 μ M dNTPs, 2 μ M de cada primer *recA* e 4 μ L DNA (30-120 ng μ L⁻¹). O programa de PCR utilizado consistiu de um ciclo inicial de denaturação a 94°C por 3 min, seguido de 35 ciclos de denaturação a 94°C por 30 seg, anelamento a 57,5°C por 50 seg e extensão a 72°C por 1 min, e um ciclo de extensão final a 72°C por 5 min. Os produtos amplificados foram corridos em gel de agarose a 0,8% e visualizados em transiluminador UV.

Os produtos da PCR foram purificados com kit de purificação para produtos de PCR da Biocell (Bioflux) conforme instrução do fabricante, e posteriormente sequenciados pelo método de Sanger por meio da contratação do serviço da empresa ACTgene.

3.4 Experimento *in vivo* (casa de vegetação)

Os experimentos *in vivo* foram conduzidos na casa de vegetação do Laboratório de Fitopatologia Molecular (LFP) localizado na Universidade Federal de Lavras (UFLA). Estacas porta-enxerto foram cedidas pela EPAMIG (Campo Experimental de viticultura e enologia de Caldas). Os ensaios foram realizados com os porta-enxertos mais utilizados pelos produtores da região (IAC572 e 1103Paulsen).

3.5 Seleção dos isolados mais promissores (screening)

Apenas os isolados que atingiram a concentração padrão estabelecida, medida em espectrofotômetro (OD₆₀₀ = 0,7), no tempo de 24-48 h seguiram para os screenings em experimentos *in vivo*. Os testes iniciais (screenings) foram divididos em duas partes com o total de isolados que atingiram a concentração padrão no tempo estabelecido (32 isolados)

(Apêndice A). No primeiro screening, foram testados 23 isolados, utilizando 4 plantas por repetição por tratamento. No segundo, foi utilizado o restante dos 11 isolados, utilizando 8 plantas por repetição por tratamento. As estacas porta-enxerto foram plantadas em recipientes plásticos de aproximadamente 20 x 7 cm, sendo utilizado como substrato uma mistura de 1:1 de substrato vegetal Tropstrato® e areia autoclavada. Para os screenings foram utilizados ambos os porta-enxertos IAC572 e 1103Paulsen, sendo que, cada um foi representado em metade das plantas utilizadas por tratamento. O delineamento experimental utilizado foi em DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado). Como controle positivo foi utilizado hormônio vegetal ANA 0,0042% e água destilada estéril como controle negativo.

3.6 Ensaios com os isolados selecionados

Foram escolhidos aqueles isolados que obtiveram médias elevadas de massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR), com valores semelhantes aos do tratamento padrão (hormônio vegetal ANA). Além disso, aqueles isolados que obtiveram médias semelhantes ao controle negativo (água), também seguiram para os próximos ensaios. Ao todo 15 isolados foram selecionados nos screenings, seguindo para experimentos com um maior número de repetições apenas com a cultivar IAC 572, que é o porta-enxerto mais utilizado na região. A variedade 1103Paulsen não respondeu a maioria dos tratamentos nos screenings, incluindo o tratamento com hormônio. O experimento foi realizado duas vezes, sendo conduzido em DBC (Delineamento em Blocos Casualizados), com 5 blocos e 20 estacas do porta-enxerto por tratamento.

3.7 Produção dos inóculos bacterianos e aplicação nos porta-enxertos

Para produzir as suspensões livres de metabólitos, uma única colônia de cada isolado foi transferida para erlenmeyers de 250 mL contendo caldo nutriente (peptona bacteriológica e extrato de carne) e incubado em agitador rotativo (150 rpm) por 48 h a 28°C. A densidade ótica das suspensões foi medida em um espectrofotômetro a 600 nm (OD_{600}). Uma $OD_{600} = 0,7$ correspondeu a aproximadamente 10^8 UFC mL⁻¹. Após a multiplicação e padronização de concentrações, as suspensões bacterianas foram transferidas para tubos Falcon e centrifugadas duas vezes a 14.000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi descartado e apenas as células livres foram resuspendidas em água destilada esteril e utilizadas nos experimentos in vivo. Antes do plantio, as estacas foram mergulhadas nas suspensões bacterianas por 24 h, plantadas em copos plásticos de 700 mL contendo o substrato e mantidas em casa de vegetação. Após 60 dias, as estacas foram retiradas e realizadas as avaliações. Nos screenings, as variáveis

analisadas foram: Pegamento (P%), Massa Seca de Raíz (MSR) e Massa Seca de Parte Aérea (MSPA). Já no experimento com os isolados selecionados, foram avaliados ainda teor de clorofila (TC), com o equipamento SPAD-502, medindo três pontos na folha média do ramo de cada planta e comprimento de ramo (CR), além das variáveis mensuradas anteriormente.

3.8 Solubilização de nutrientes

Nos experimentos *in vivo* foram selecionados 10 isolados (6 considerados promissores, se assemelhando com os resultados do hormônio vegetal e 4 que obtiveram resultados semelhantes ao controle negativo) para buscar compreender os mecanismos utilizados para o pegamento das estacas. Para isso, foram realizados ensaios *in vitro*, com o objetivo de observar a capacidade dos isolados em solubilizar fontes de fosfato (P), potássio (K) e nitrogênio (N).

3.8.1 Solubilização de fosfato (FePO₄)

Para detectar bactérias que utilizam fosfato de ferro (FePO₄) como fontes de fosfato, um meio basal modificado foi preparado de acordo com Gadagi *et al.* (2002) contendo por litro: 10 g de sacarose, 0,1 g de NaCl, 0,5 g de MgSO₄.7H₂O, 0,2 g de extrato de levedura, 0,5 g NH₄Cl, 0,1 g MnSO₄.H₂O, 2 g de FePO₄, 20 g de ágar e 0,025 g de bromocresol verde. Os isolados foram multiplicados em caldo nutriente e padronizados em uma concentração aproximada de 10⁸ UFC.mL⁻¹. Uma alíquota de 8 µL da suspensão bacteriana foi transferida para placas de Petri contendo o meio basal descrito anteriormente. As placas foram acondicionadas invertidas em BOD a 28°C por 5 dias. A capacidade de solubilizar FePO₄ foi classificada como positiva ou negativa de acordo com a formação ou não de um halo ao redor das colônias.

3.8.2 Solubilização de potássio (K)

Os isolados foram testados utilizando o meio Aleksandrov modificado para detectar bactérias que utilizam silicato de alumínio e potássio como uma fonte única de potássio (K). Este meio foi preparado conforme descrito por Parmar e Sindhu (2013), utilizando mica em pó como fonte de potássio insolúvel. O meio de Aleksandrov continha por litro: 5 g de glicose, 0,5 g de MgSO₄.7H₂O, 0,1 g de CaCO₃, 0,005 g FeCl₃.6H₂O, 2 g Ca₃(PO₄)₂, 2 g de mica em pó pura, 0,5 g (NH₄)₂SO₄; 0,2 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,5 g de extrato de levedura, 0,002 g de MnSO₄.H₂O e 15 g de ágar. O inóculo foi preparado em caldo nutriente como descrito acima e as placas foram incubadas invertidas a 28°C por 5 dias. A avaliação foi realizada de

forma idêntica ao teste descrito acima para FePO₄.

3.8.3 Hidrolisação de caseína

As proteínas são feitas de aminoácidos ligados por ligações peptídicas e microrganismos com atividade hidrolítica podem quebrar essas ligações, liberando nitrogênio por meio dessa hidrólise proteica (Wang et. al., 2013). O meio ágar caseína é utilizado para detectar microrganismos hidrolisantes (Frazier; Rupp, 1928), utilizando leite desnatado em pó como única fonte de caseína. O meio de cultura continha por litro: 50,0 g de leite desnatado, 5,0 g de caseína pancreática digerida, 2,5 g de extrato de levedura, 1,0 g de glicose e 12,5 g de ágar. Os isolados foram crescidos como já descrito e 3 µL da suspensão bacteriana padronizada foram transferidos para placas de Petri contendo o meio ágar caseína. As placas foram incubadas a 28°C por 24 h e posteriormente avaliadas de acordo com a formação ou não de um halo ao redor das colônias.

3.9 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com o software R (R Core Team, 2022) e os resultados submetidos aos testes de normalidade dos resíduos por Shapiro-Wilk e homogeneidade das variâncias por Bartlett's. Os dados que apresentaram distribuição normal e homocedasticidade foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F ($p \leq 0.05$) com as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott para os experimentos *in vivo* e Tukey para as avaliações dos resultados obtidos nas coletas das diferentes porções de solo ($p \leq 0.05$).

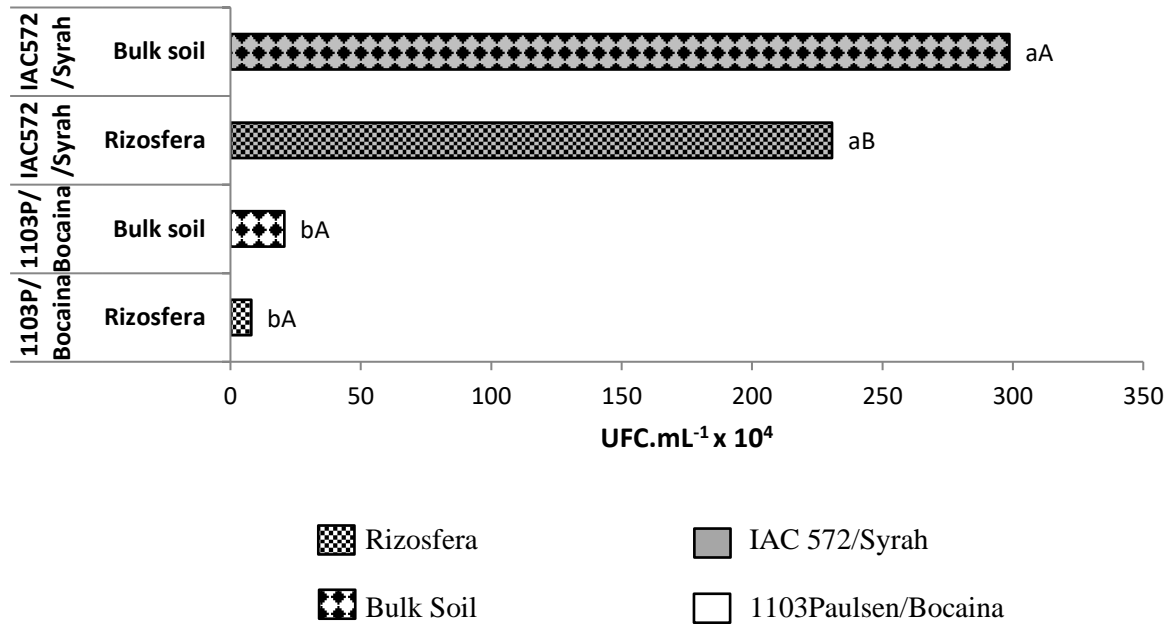
4 RESULTADOS

4.1 Diferenças na densidade populacional bacteriana entre 'bulk soil' e rizosfera

As densidades populacionais (UFC/mL⁻¹) das amostras coletadas do ambiente rizosférico foram menores que as densidades em amostras coletadas do 'bulk soil' em ambas cultivares. As densidades populacionais em amostras advindas tanto do ambiente rizosférico quanto de 'bulk soil' para a cultivar IAC 572/Syrah foram significativamente superiores quando comparados com a cultivar 1103 Paulsen/Bocaina (Figura 1).

Um total de 62 isolados foi obtido das amostras coletadas dos dois tipos de amostras, 'bulk soil' e rizosfera, e de ambas cultivares de videira, IAC 572/Syrah e 1103 Paulsen/Bocaina, os quais foram utilizados nos experimentos descritos abaixo.

Figura 1 – Densidades populacionais (UFC/g) de bactérias benéficas gram-positivas coletadas de mudas de videira enxertadas em diferentes porções do solo.



Legenda: Densidades populacionais (UFC/g) de bactérias benéficas gram-positivas em amostras de 'bulk soil' e da rizosfera, coletadas de mudas de videira enxertadas com as combinações 1103Paulsen/Bocaina e IAC572/Syrah. As amostras coletadas foram submetidas a uma metodologia seletiva para o isolamento apenas de bactérias gram-positivas. Foram comparados os resultados das duas combinações de mudas enxertadas (IAC572/Syrah e 1103Paulsen/Bocaina), independente da porção do solo coletada. Além disso, também foram correlacionadas as duas porções de solo coletadas (bulk soil e rizosfera), independente da combinação de muda enxertada. As letras minúsculas referem-se ao teste de Tukey ($p \leq 0.05$), feito entre as combinações de mudas enxertadas, independente da porção de solo ('bulk soil' ou rizosférico). As letras maiúsculas referem-se ao teste Tukey ($p \leq 0.05$) feito em relação às diferentes porções de solo coletadas, independente da combinação de mudas enxertadas. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).

Fonte: Do autor (2024)

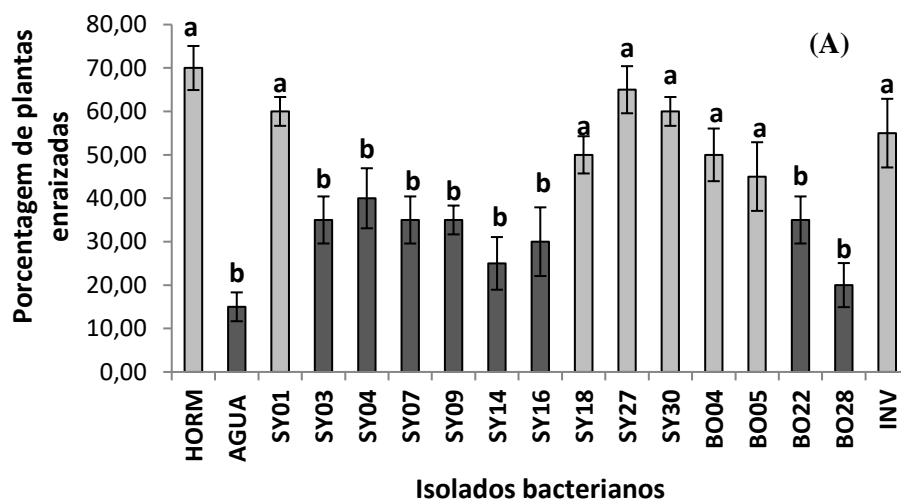
4.2 Experimento *in vivo*

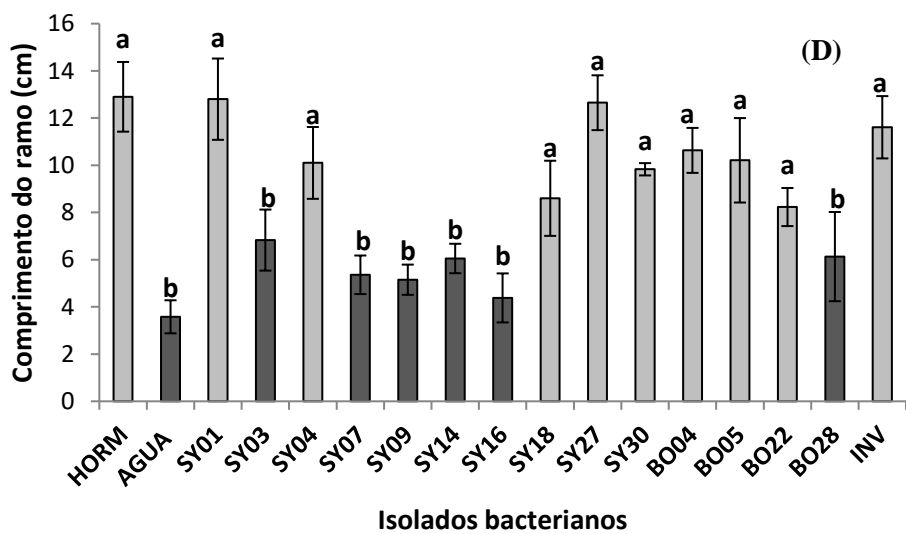
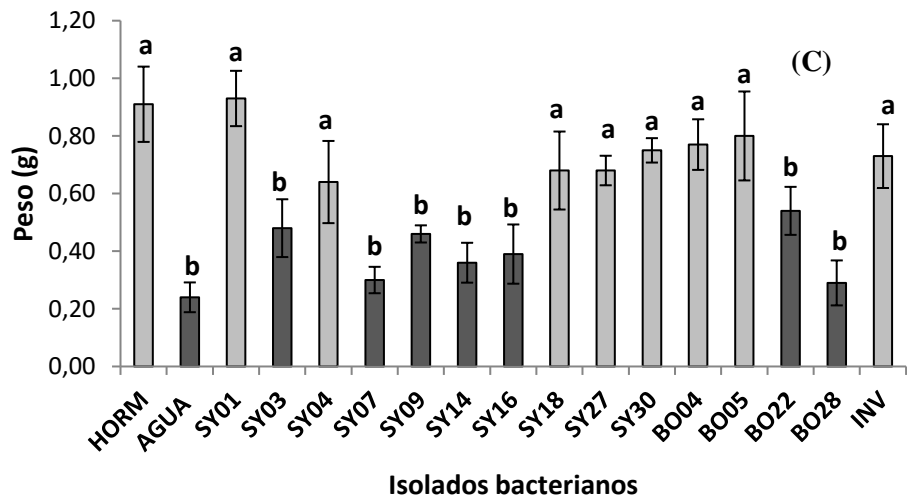
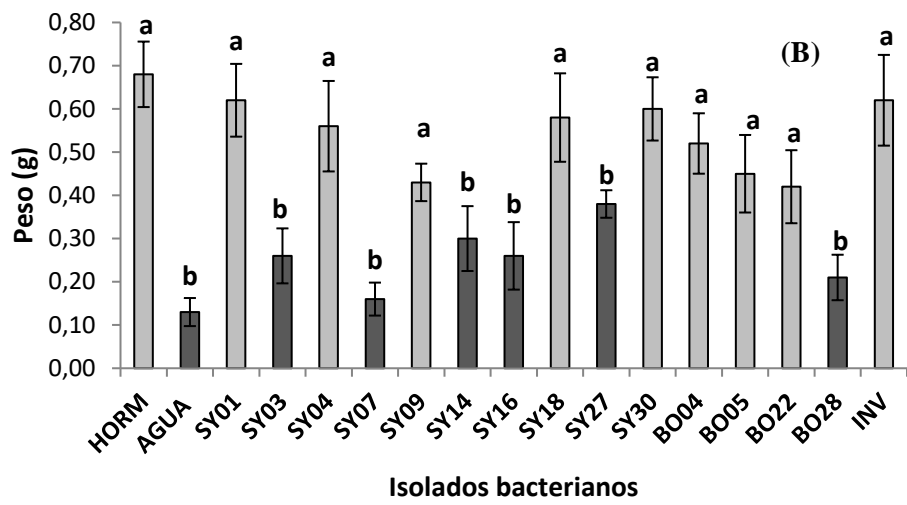
Nos experimentos *in vivo*, realizados em casa de vegetação, foram testados 15 isolados, selecionados através dos screenings realizados anteriormente. Os resultados demonstraram basicamente uma separação em dois grupos: aqueles isolados que tinham seus resultados se agrupando com o tratamento com hormônio vegetal e aqueles que se agrupavam com as estacas tratadas apenas com água. As variáveis responsáveis por analisar o Pegamento (P%), Massa Seca de Raíz (MSR), Massa Seca de Parte Aérea (MSPA) e Comprimento de Ramo (CR) demonstraram estarem relacionadas entre si (Figura 1A-D). Já a variável de Teor de Clorofila (TC) não demonstrou relação com nenhuma das outras variáveis analisadas (Figura 1E).

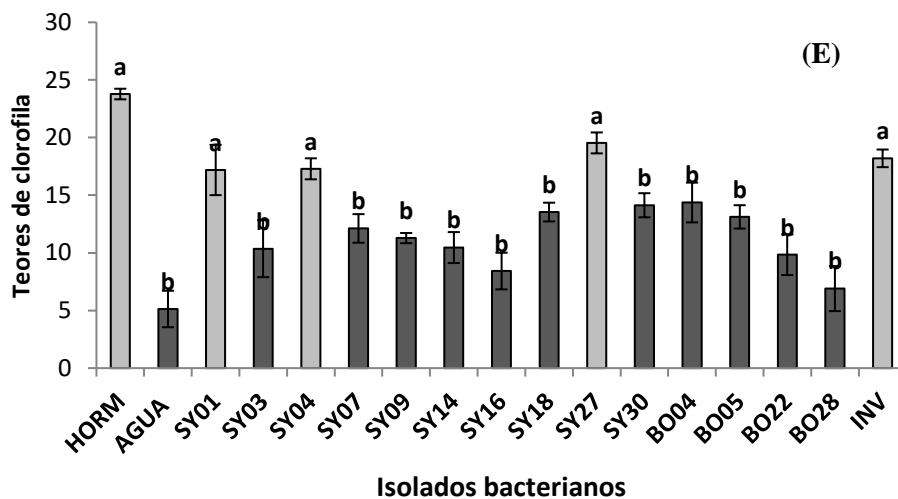
As estacas porta-enxerto tratadas com hormônio vegetal (HORM) foram significativamente distintas das estacas tratadas apenas com água (controle negativo) em todas as variáveis analisadas (Figura 1A-E). Dos isolados bacterianos testados, seis (SY01, SY18, SY30, BO04, BO05 e INV) alcançaram resultados significativos em quatro das cinco variáveis testadas (P%, MSR, MSPA e CR). Esses isolados não diferiram significativamente dos resultados obtidos pelas estacas inoculadas com hormônio vegetal ($p > 0,05$). Além desses, os isolados SY04 e SY27 foram significativamente iguais ao tratamento com hormônio na maioria dessas variáveis, com exceção de MSR para o isolado SY27 e P% para o isolado SY04. Observando apenas a variável pegamento (P%), sete isolados obtiveram resultados significativamente iguais aos resultados obtidos pelo hormônio (Figura 1A). Para a variável MSR esses mesmos isolados não diferiram significativamente do hormônio, além do isolado SY04 (Figura 1B). Em relação às variáveis da parte aérea (Comprimento de Ramo - CR e Massa Seca de Parte Aérea - MSPA), nove isolados foram significativamente semelhantes ao tratamento com hormônio (Figura 1C-D). Enquanto para Teor de Clorofila (TC) apenas quatro isolados tiveram seus resultados significativamente semelhantes ao hormônio vegetal (Figura 1E).

Os isolados BO28, SY14, SY16, SY07 e SY03 apresentaram resultados significativamente distintos do tratamento hormônio em todas as variáveis analisadas. Esses isolados obtiveram resultados semelhantes aos resultados obtidos pelas estacas tratadas apenas com água destilada.

Figura 2 – Pegamento (%), Peso de Massa Seca de Raíz (g), Peso de Massa seca de Parte Aérea (g), Comprimento de Raíz (CR) e Teor de Clorofila (TC) de estacas inoculadas com isolados bacterianos.







Legenda: Efeito da inoculação de isolados bacterianos benéficos na promoção de crescimento de porta-enxertos de videira da variedade IAC 572. **(A)** Pegamento de estacas porta-enxerto de videira representada em porcentagem. **(B)** Massa seca de raiz (MSR) de estacas porta-enxerto representados em gramas (g). **(C)** Massa seca da parte aérea (MSPA) de estacas porta-enxerto representados em gramas (g). **(D)** Comprimento do ramo (CR) da parte aérea das estacas porta-enxerto representados em centímetros (cm). **(E)** Valores obtidos de Teores de clorofila (TC), medidos em clorofilômetro (SPAD-502). Os valores representam as médias de 20 repetições por tratamento. O Tratamento “ÁGUA” representa o controle negativo, enquanto que o tratamento “HORM” representa o controle positivo, no qual foi aplicado o hormônio vegetal sintético Ácido 1-naftalenoacético (ANA). As estacas porta-enxerto foram inoculadas durante 24h com as suspensões bacterianas preparadas previamente e posteriormente foram plantadas em recipientes plásticos na casa de vegetação. Os resultados foram obtidos com 60 dias após o plantio. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente de acordo com o teste Scott-knott ($P < 0,05$). Em todos os gráficos, as barras de erro representam o erro padrão das médias.

Fonte: Do autor (2024)

4.3 Experimentos *in vitro*

Os testes *in vitro* foram realizados com aqueles isolados que obtiveram resultados consistentes nas variáveis analisadas nos experimentos *in vivo*, sejam eles se assemelhando significativamente com as estacas tratadas com hormônio ou apenas com água. Ao todo foram selecionados 10 isolados para os experimentos *in vitro*.

Nenhum dos isolados selecionados foi capaz de solubilizar as fontes de potássio e fosfato que foram utilizadas nos meios de cultura dos testes (Mica em pó e FePO_4 , respectivamente). A maioria dos isolados testados foi capaz de hidrolisar caseína, em maior ou menor quantidade, com exceção dos isolados SY14, BO28 e BO04 (Tabela 1).

Tabela 1 – Testes de hidrolisação de caseína, solubilização de potássio e solubilização de fosfato com isolados bacterianos selecionados nos experimentos *in vivo*.

TESTES DE CARACTERÍSTICAS SOLUBILIZADORAS			
ISOLADOS	HIDROLIZAÇÃO DE CASEÍNA	SOLUBILIZAÇÃO DE POTÁSSIO	SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO
SY01	●	○	○
SY30	●	○	○
BO04	○	○	○
BO05	●	○	○
SY18	●	○	○
BO28	○	○	○
SY14	○	○	○
SY07	●	○	○
SY03	●	○	○
SY16	●	○	○

Nota: Capacidade dos isolados bacterianos selecionados nos experimentos *in vivo* em hidrolisar caseína e solubilizar fonte de fosfato (FePO_4) e potássio (Mica em pó). Os bioensaios foram realizados em placas de *Petri* com meios de culturas específicos para cada teste. Os resultados foram pontuados como positivos (círculo preenchido) ou negativos (círculo vazio). Os testes foram realizados com 3 repetições por tratamento. As características avaliadas foram: Hidrolização de caseína; Solubilização de potássio (K); Solubilização de fosfato (FePO_4).

Fonte: Do autor (2024)

5 DISCUSSÃO

A produção de uvas no Sul de Minas Gerais vem se tornando o principal cultivo de várias pequenas propriedades na região. Com isso, a demanda por propágulos de qualidade segue no mesmo ritmo. Em contrapartida, a produção de mudas de videira é um processo longo e oneroso, com várias possibilidades de perdas durante as etapas de produção. Um dos principais gargalos na obtenção das mudas é o baixo índice de pegamento nos viveiros, ocasionando perdas médias de 30% das mudas plantadas (Villa *et al.*, 2003; Bettoni *et al.*, 2014). O desenvolvimento de novas variedades de porta-enxertos e a utilização de hormônios vegetais produzidos de forma sintética tem ajudado a otimizar o sistema. Nesse contexto, vários estudos identificam o potencial de microrganismos benéficos para promover o crescimento radicular e auxiliar no desenvolvimento vegetal (Compant *et al.*, 2005; Compant; Clément; Sessitsch, 2010; Erdogan *et al.*, 2018; Köse *et al.*, 2005; Linderman; Davis, 2001). Nesse trabalho, isolamos e selecionamos cepas bacterianas coletadas de ‘bulk soil’ e ambientes rizosféricos de duas cultivares bastante utilizadas pelos produtores da região (IAC 572/Syrah e 1103 Paulsen/Bocaina). O foco do estudo foi analisar a capacidade desses isolados em auxiliar no enraizamento de mudas de videira, por meio de testes *in vivo*. Além

disso, através de ensaios *in vitro*, procuramos identificar possíveis mecanismos utilizados por esses isolados que auxiliam as plantas a emitir raízes.

Coletas realizadas em solos de ambas as cultivares revelaram populações, determinadas por meio de unidades formadoras de colônias (UFC/mL⁻¹), mais altas na porção ‘bulk soil’ em relação ao ambiente rizosférico (Figura 1). Normalmente, as maiores populações bacterianas são encontradas mais próximas ao rizoplane, por ser um ambiente nutricionalmente mais rico em relação ao solo (Walker *et al.*, 2003). Esse comportamento se deve pela liberação de exsudatos das raízes e fotoassimilados pelos vegetais (Lamb *et al.*, 1996; Elvira-Recuenco; Van Vuurde, 2000), realizando um recrutamento microbiano de microrganismos que utilizam em seu metabolismo esses compostos liberados. Esses exsudatos e fotoassimilados formam um gradiente reducional em direção contrária às raízes, moldando a abundância, riqueza e composição das comunidades microbianas no solo (Trabelsi; Ridha, 2013). Entretanto, bactérias gram-positivas geralmente são excessões a essas tendências, tendo preferências por microambientes mais pobres nutricionalmente e que possuem menor competição. Esse comportamento pode ser explicado por algumas espécies apresentarem habilidades de sobrevivência em maiores níveis, ocasionados principalmente pela capacidade desses microrganismos em formarem endósporos (Silva; Nahas, 2002; Geetanjali; Jain, 2016; Loguercio *et al.*, 2023). Resultados semelhantes foram observados por Loguercio *et al.*, 2023, que relataram densidades populacionais de *Bacillus* spp. (gram-positiva) maiores longe do ambiente rizosférico de plantas de cacau, enquanto outros gêneros bacterianos como *Pseudomonas* (gram-negativa) se concentravam em maior densidade próximos as raízes das plantas.

As mudas de videira para serem consideradas aptas para a comercialização precisam ter equilíbrio entre sistema radicular e parte aérea, capaz de manter a planta metabolicamente ativa após o plantio definitivo, além de se desenvolver com eficiência no campo (Regina *et al.*, 1998). Nesse sentido, alguns isolados obtiveram resultados de destaque nos experimentos *in vivo* como SY01, SY18, SY30, BO04, BO05 e INV. As estacas tratadas com esses isolados apresentaram resultados que não se diferenciaram significativamente daquelas estacas que foram tratadas com hormônio vegetal ANA (tratamento padrão dos produtores). Esses resultados demonstram que esses isolados são capazes de auxiliar no pegamento de mudas de videira, proporcionando mudas com sistema radicular de qualidade e bom desenvolvimento de parte aérea. Além desses isolados destacados, outros também apresentaram resultados promissores no experimento em casa de vegetação, como SY27 e SY04. Esses isolados demonstraram resultados semelhantes ao tratamento com hormônio na maioria das variáveis

analisadas, proporcionando estacas bem formadas, tanto em relação à parte aérea quanto ao sistema radicular. Além disso, outro ponto de destaque nos experimentos *in vivo* é o contraste dos resultados das estacas inoculadas com o hormônio vegetal ANA e aquelas tratadas apenas com água, sem nenhum estimulador radicular. Esses resultados corroboram com aqueles obtidos por Bettoni *et al.* (2014), no qual a aplicação de auxina exógena através da utilização de hormônio vegetal sintético ANA na base das estacas promoveu o incremento na porcentagem de enraizamento, número, comprimento e massa fresca das raízes de estacas porta-enxerto de videira, em relação ao tratamento controle (Água).

Um dos mecanismos utilizados por bactérias benéficas para auxiliar no desenvolvimento radicular das plantas é a solubilização de alguns nutrientes, deixando-os disponíveis para os vegetais. Além disso, alguns microrganismos são capazes de realizar a hidrólise de proteínas, liberando compostos orgânicos no solo que são prontamente absorvidos pelas raízes das plantas. Os isolados bacterianos testados nesse estudo não foram capazes de solubilizar as fontes de fosfato e potássio que foram disponibilizadas (FePO_4 e mica em pó, respectivamente) (Tabela 1). Em contrapartida, a maioria dos isolados que foram submetidos ao teste de hidrolisação de caseína mostraram resultados positivos, por meio da formação de halo ao redor das colônias (Apêndice C), indicando que são capazes de hidrolisar caseína, liberando nitrogênio prontamente disponível para as plantas. Esses dados corroboram com os resultados obtidos por (De Oliveira, 2022), que observou que uma das características mais difundidas entre as bactérias testadas foi a capacidade de hidrolisar caseína (47,1%) enquanto a menos difundida foi a capacidade de solubilizar fosfato através da FePO_4 como fonte insolúvel (5,8%). Ao contrário do observado em nosso trabalho, a maioria das bactérias testadas no estudo citado anteriormente também foi capaz de solubilizar fontes insolúveis de K (61,5%). Essa divergência pode ser explicada pelo fato das bactérias testadas no estudo citado serem gram-negativas e filogeneticamente distantes dos isolados testados em nosso trabalho, apresentando características solubilizadoras distintas. Além disso, as fontes de K insolúvel disponibilizadas para os microrganismos foram diferentes.

Além de fósforo e potássio, o nitrogênio é um elemento químico que as plantas necessitam absorver em grandes quantidades para se desenvolverem. Proteínas como a caseína são constituídas por cadeias de aminoácidos unidas por ligações peptídicas. A hidrólise da proteína na presença de um agente capaz de quebrar essas ligações provoca a liberação desses grupos de aminoácidos, liberando prótons e nitrogênio no sistema (Wang *et al.*, 2013). A maioria dos isolados selecionados para o teste de hidrolisação de caseína que obtiveram resultados positivos foram estatisticamente semelhantes ao hormônio vegetal ANA

em, ao menos, uma variável analisada nos testes *in vivo*. Provavelmente, esses isolados utilizaram como mecanismo de ação promotora a quebra dessas proteínas presentes no solo, liberando nitrogênio prontamente absorvido pelas plantas e auxiliando no desenvolvimento radicular inicial das estacas porta-enxerto. Nesse sentido, os isolados BO28 e SY14 não foram capazes de hidrolisar caseína. Esses mesmos isolados obtiveram médias em todas as variáveis analisadas nos experimentos *in vivo* significativamente distintas do tratamento com hormônio, corroborando com os resultados dos testes *in vitro* (Tabela 1).

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados dos experimentos *in vivo* e *in vitro* foi observado que alguns isolados obtidos nesse trabalho têm grande potencial de auxiliar no pegamento de mudas de videira. Alguns isolados como SY01, SY18, SY30, BO04, BO05 e INV foram capazes de produzir mudas com sistema radicular e parte aérea de qualidades, sem nenhuma diferença significativa em comparação às estacas tratadas com o hormônio vegetal ANA. Além desses isolados, outros também foram capazes de auxiliar as estacas a emitirem raízes e completarem seu processo de formação como SY 04 e SY27, obtendo resultados semelhantes ao tratamento com hormônio na maioria das variáveis analisadas. Os dados ainda sugerem que a solubilização de fosfato e potássio pode não fazer parte do leque de mecanismos utilizados por esses isolados para auxiliarem no enraizamento das mudas de videira, ao menos através das fontes disponibilizadas nos estudos *in vitro* (FePO₄ e Mica em pó, respectivamente). Em contrapartida, a maioria dos isolados foi capaz de hidrolisar caseína, liberando prótons e nitrogênio no sistema. Esses isolados, assim como seus mecanismos de ação voltados para a promoção de crescimento radicular, precisam ser melhor estudados, buscando compreender aspectos moleculares da sua interação com o sistema radicular das mudas. Além disso, seria interessante investigar se as combinações de isolados, ou até mesmo a utilização em conjunto com os hormônios vegetais sintéticos, pode incrementar o pegamento das mudas de videira nos viveiros.

REFERÊNCIAS

- AAGOT N. *et al.* Uma diversidade alterada de *Pseudomonas* é recuperada do solo usando meios de extrato de solo seletivos para *Pseudomonas* pobres em nutrientes. **Applied and Environmental Microbiology**. 67:5233–5239. 2001.
- ABDELRAHMAN, M. *et al.* Dissecção de defesa induzida por *Trichoderma longibrachiatum* em cebola (*Allium cepa* L.) contra *Fusarium oxysporum* f. sp. cepa pelo perfil do metabólito alvo. **Plant Science**, v. 246, p. 128–138, 2016.
- ADESEMOYE A.O., OBINI M., UGOJI E.O. Comparação da promoção do crescimento de plantas com *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis* em três vegetais. **Brazilian Journal of Microbiology**. 39:423–426. 2008.
- SAJAD ALI, *et al.* Proteínas e peptídeos relacionados à patogênese como ferramentas promissoras para engenharia de plantas com tolerância múltipla ao estresse. **Microbiological Research**, V. 212–213, 2018.
- AMORIM, D. A. de; FAVERO, A. C.; REGINA, M. de A. Produção extemporânea da videira, cultivar Syrah, nas condições do sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, p. 327–331, ago. 2005.
- ANDREOLLI, M. *et al.* Diversidade de bactérias endófitas em videiras com 3 e 15 anos de idade de *Vitis vinifera* cv. Corvina e seu potencial para promoção do crescimento vegetal e controle de fitopatógenos. **Microbiological Research**, v. 183, p. 42–52, 2016.
- ANDREOLLI, M. *et al.* *Pseudomonas protegens* MP12: Uma bactéria endofítica promotora de crescimento de plantas com atividade antifúngica de amplo espectro contra fitopatógenos da videira. **Microbiological Research**, v. 219, p. 123–131, 2019.
- ARAÚJO, F. F.; HENNING, A. A.; HUNGRIA, M. Fitohormônios e antibióticos produzidos por *Bacillus Subtilis* e seus efeitos em fungos patogênicos de sementes e no desenvolvimento de raízes de soja. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 8, p. 1639–1645, dez. 2005.
- ARKHIPOVA, T. N. *et al.* Capacidade da bactéria *Bacillus Subtilis* de produzir citocininas e influenciar o crescimento e o conteúdo hormonal endógeno de plantas de alface. **Plant and Soil**, v. 272, n. 1–2, p. 201–209, maio 2005.
- ARMIJO, G. *et al.* Microorganismos patogênicos da videira: compreendendo estratégias de infecção e cenários de resposta do hospedeiro. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.
- AZIZ, A. *et al.* Eficácia de bactérias benéficas na promoção da resistência sistêmica de videira ao mofo cinzento em relação à produção de fitoalexina em vinhedos. **Plant and Soil**, v. 405, n. 1–2, p. 141–153, ago. 2016.
- BACON, C.W.; YATES, I.E. Colonização de raízes endofíticas por espécies de *Fusarium*: histologia, interações com plantas e toxicidade. In: Schulz, B.J.E., Boyle, C.J.C., Sieber, T.N. (eds) **Microbial Root Endophytes**. Soil Biology, vol 9. Springer, Berlin, Heidelberg. 2006.

BACKER, R. *et al.* Rizobactérias promotoras do crescimento vegetal: contexto, mecanismos de ação e roteiro para comercialização de bioestimulantes para agricultura sustentável. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1473, 2018.

BELHADJ, A. *et al.* Efeito de metil jasmonato em combinação com carboidratos na expressão gênica de proteínas PR, acúmulo de estilbeno e antocianina em culturas de células de videira. **Plant physiology and biochemistry: PPB**, v. 46, n. 4, p. 493–499, abr. 2008.

BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP): seu potencial como antagonistas e agentes de biocontrole. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4 (suppl), p. 1044–1051, dez. 2012.

BERG, G.; SMALLA, K. As espécies de plantas e o tipo de solo moldam cooperativamente a estrutura e a função das comunidades microbianas na rizosfera. **FEMS microbiology ecology**, v. 68, n. 1, p. 1–13, abr. 2009.

BETTONI, J. C. *et al.* O uso de AIB melhora a qualidade de raízes em estacas herbáceas de porta-enxertos de videira. **Evidência**, v. 14, n. 1, p. 47–56, 7 jul. 2014.

BIASI, L.A. **Avaliação do desenvolvimento inicial de porta-enxertos e de mudas de videira obtidos através de diferentes métodos de propagação.** Tese (Doutorado em Agronomia). Campo “Luiz de Queiroz”/USP. Piracicaba, 177p. 1996.

BIASI, L. A.; POMMER, C. V.; PINO, P. A. G. S. Propagação de porta-enxertos de videira mediante estaquia semilenhosa. **Bragantia**. Campinas, v. 56, n. 2, p. 367-376, 1997.

BULGARI, D. *et al.* Diversidade bacteriana endofítica em folhas de videira (*Vitis Vinifera* L.) descrita por análise de sequência genética 16S RRNA e heterogeneidade de comprimento-PCR. **Journal of Microbiology**. Seoul, Korea, v. 47, n. 4, p. 393–401, ago. 2009.

BULGARI, D. *et al.* Reestruturação de comunidades bacterianas endofíticas em plantas de *Vitis vinifera* L. doentes com amarelecimento e recuperadas. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 14, p. 5018-5022, jul. 2011.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Usos agrícolas de bioestimulantes vegetais. **Plant and Soil**, v. 383, n. 1, p. 3–41, 1 out. 2014.

CALZAVARA, A. K. *et al.* Bactérias associativas influenciam o crescimento, a fisiologia e a anatomia radicular do milho (*Zea Mays* L.) sob diferentes níveis de nitrogênio. **Plant Biology**. Stuttgart, Germany, v. 20, n. 5, p. 870–878, set. 2018.

CAMPOS S. B. *et al.* Mudanças nas comunidades bacterianas radiculares associadas a dois diferentes estágios de desenvolvimento da canola (*Brassica napus* L. var oleifera) avaliadas através de tecnologia de sequenciamento de última geração. **Microbiology Ecology**. 65:593–601. 2013.

CARRIÓN, V. J. *et al.* Ativação de funções supressoras de doenças induzida por patógenos no microbioma radicular endofítico. **Science**. New York, N.Y., v. 366, n. 6465, p. 606–612, 1 nov. 2019.

CAWOY, H. *et al.* A estimulação da defesa das plantas por isolados naturais de *Bacillus* depende da produção eficiente de surfactina. **Molecular plant- microbe interactions: MPMI**. v. 27, n. 2, p. 87–100, fev. 2014.

CHANWAY C.P., HYNES R.K., NELSON L.M., Plant growth-promoting rhizobacteria: Efeitos no crescimento e na fixação de nitrogênio em lentilha (*Lens esculenta* moench) e ervilha (*Pisum sativum* L.). **Soil Biology and Biochemistry**. Volume 21, Issue 4, Pages 511-517, ISSN 0038-0717. 1989.

CHANWAY C.P. *et al.* Colonização endofítica e respostas de campo de mudas de abetos híbridos após inoculação com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas. **Forest Ecology and Management**. 133:81–88. 2000.

CHEN, X. H. *et al.* Análise do genoma de *Bacillus Amyloliquefaciens* FZB42 revela seu potencial para biocontrole de patógenos vegetais. **Journal of Biotechnology**. v. 140, n. 1–2, p. 27–37, 10 mar. 2009.

CHIARAPPA, L. Deterioração da madeira da videira e sua relação com a doença do sarampo negro. **Phytopathology**. 49, 510–519. 1959.

COMPANT, S. *et al.* Uso de bactérias benéficas e seus metabólitos secundários para controlar doenças patogênicas da videira. **BioControl**. v. 58, n. 4, p. 435–455, ago. 2013.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Bactérias promotoras de crescimento vegetal na rizo e endosfera das plantas: seu papel, colonização, mecanismos envolvidos e perspectivas de utilização. **Soil Biology and Biochemistry**. v. 42, n. 5, p. 669–678, 1 maio 2010.

COMPANT, S. *et al.* Colonização endofítica de *Vitis Vinifera* L. pela bactéria promotora do crescimento vegetal *Burkholderia* Sp. Cepa PsJN. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 71, n. 4, p. 1685–1693, abr. 2005.

DE ARAUJO, F. F. Farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e agrotecnologia**. v. 32, n. 2, p. 7, 2008.

DIAS, F. A. N. *et al.* Videira “Syrah” sobrediferentes porta-enxertos em ciclo de inverno no sul de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 208–215, fev. 2012.

DE OLIVEIRA L M. *et al.* **Fungos Endofíticos e Rizobactérias: efeitos benéficos nas plantas**. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais. 2022.

DIAS, F. A. N. *et al.* Porta-enxerto no desempenho da videira e na qualidade do vinho ‘Syrah’ sob manejo de poda dupla. **Scientia Agricola**. v. 74, p. 134–141, abr. 2017.

DIAZ, P. A. E.; BARON, N. C.; RIGOBELLO, E. C. *Bacillus spp.* como bactérias promotoras de crescimento de plantas em algodão em condições de estufa. **Australian Journal of Crop Science**. v. 13, n. 12, p. 2003–2014, dez. 2019.

DONI, F. *et al.* Resposta fisiológica e de crescimento de plantas de arroz (*Oryza Sativa* L.) a

Trichoderma spp. inoculantes. **AMB Express**, v. 4, n. 1, p. 45, dez. 2014.

DRIUSSO, O.; TREVISAN F. Enraizamento e desenvolvimento de porta enxertos de videira IAC766, com uso de diferentes substratos e doses de ácido indolbutírico. **Scientia Vitae**. São Roque, SP, v. 10, n. 29, p. 38-46, jul./set. 2020.

EDWARDS, J. *et al.* Relações entre abundância de filoxera na uva, interações fúngicas e declínio da videira. **Acta Horticulturae**. v. 733, p. 151–158, 1 fev. 2007.

EGAMBERDIYEVA, D. O efeito das bactérias promotoras do crescimento das plantas no crescimento e na absorção de nutrientes do milho em dois solos diferentes. **Applied Soil Ecology**. v. 36, n. 2, p. 184–189, 2007.

ELVIRA-RECUENCO M, VAN VUURDE JW. Incidência natural de bactérias endofíticas em cultivares de ervilha em condições de campo. **Canadian Journal of Microbiology**. 46:1036–1041. 2000.

ERDOGAN, U. *et al.* Efeitos do crescimento das raízes das plantas, promovendo inoculações de rizobactérias no crescimento e no conteúdo nutricional da videira. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. v. 49, n. 14, p. 1731–1738, 6 ago. 2018.

FACHINELLO, J. C. *et al.* **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: UFPel, 178p. 1995.

FACHINELLO, J. C. **Propagação de plantas frutíferas** (pp. 69-109). A. Hoffmann, & J. C. Nachtigal (Eds.). Brasília: EMBRAPA informação tecnológica. 2005.

FAO. FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/>. Acesso em: 05/11/2022.

FAVERO, A. *et al.* Double-pruning of “Syrah” grapevines: Uma estratégia de manejo para colheita de uvas viníferas durante o inverno no Sudeste brasileiro. **Vitis - Journal of Grapevine Research**. v.50, p. 151–158, 1 jan. 2011.

FAVERO, A. C. *et al.* Produção extemporânea da videira, cultivar Syrah, nas condições do sul de Minas Gerais. **Revista brasileira de fruticultura**. 2005.

FAVERO, A. C. *et al.* Viabilidade de produção da videira “Syrah”, em ciclo de outono inverno, na região sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 30, p. 685–690, set. 2008.

FENDRIK, I. *et al.* *Azospirillum* VI e microrganismos relacionados: genética - fisiologia - ecologia. Nato ASI Subseries G: (ASIG, volume 37). **Springer**. Berlin Heidelberg, 1995.

FIGUEIREDO, M. V. B. *et al.* Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas para melhorar a nodulação e a fixação de nitrogênio no feijão comum (*Phaseolus Vulgaris* L.). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 24, n. 7, p. 1187–1193, jul. 2008.

FORTES, F. de O. *et al.* Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* spp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**. v. 31, p. 221–228, abr. 2007.

FRANZON, R. C. **Produção de Mudanças: principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras**, p. 54, ISSN: 1517-5111. EMBRAPA CERRADOS, Planaltina, DF. 2010.

FRAZIER, W. C., & RUPP, P. Estudos sobre as bactérias proteolíticas do leite: Um meio para o isolamento direto de bactérias caseolíticas do leite. **Journal of bacteriology**. 16(1), 57–63. 1928.

FURUYA, S. *et al.* Isolamento e caracterização de *Bacillus subtilis* KS1 para biocontrole de doenças fúngicas da videira. **Biocontrol Science and Technology**. v. 21, n. 6, p. 705–720, 1 jun. 2011.

GARCÍA-GUTIÉRREZ, L. *et al.* A cepa antagonista *Bacillus Subtilis* UMAF6639 também confere proteção às plantas de melão contra o oídio da cucurbita pela ativação de respostas de defesa dependentes de ácido jasmonato e salicílico. **Microbial Biotechnology**. v. 6, n. 3, p. 264–274, maio 2013.

GARRIDO, L. da R.; SÔNEGO, O. R.; GOMES, V. N. Fungos associados com o declínio e morte de videiras no estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**. v. 29, p. 322–324, jun. 2004.

GEETANJALI R, JAIN P. Produção de antibióticos pela microfora rizosférica do solo - uma revisão. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR)**. 7:4304–4314. 2016.

GLICK, B. R. Bactérias com ACC Deaminase podem promover o crescimento das plantas e ajudar a alimentar o mundo. **Microbiological Research**. v. 169, n. 1, p. 30–39, 20 jan. 2014.

GONZÁLEZ, V.; TELLO, M. A micota endofítica associada a *Vitis vinifera* no centro de Espanha. **Fungal Diversity**. v. 47, p. 29–42, 1 mar. 2011.

GOUADEC D; BLOUIN J. Parasitas da videira: Estratégias de proteção fundamentadas. **Decifre: Viticulture & oenologie**. Dunod, France. 2007.

GROVER, M. *et al.* Papel dos microrganismos na adaptação das culturas agrícolas aos estresses abióticos. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 27, n. 5, p. 1231–1240, maio 2011.

GUTIÉRREZ-GAMBOA, G. *et al.* Uma revisão do uso de bioestimulantes no vinhedo para melhorar a qualidade da uva e do vinho: efeitos na prevenção de doenças da videira. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 99, n. 3, p. 1001–1009, fev. 2019.

HARTMANN, H.T. & KESTER, D.E. Propagación de plantas. México: C.E.C., 1978. 810 p. HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Bactérias benéficas do solo e seu papel na promoção de crescimento de plantas: uma revisão. **Annals of Microbiology**. v. 60, n. 4, p. 579–598, dez. 2010.

JACKSON, D. I.; LOMBARD, P. B. Práticas ambientais e de gestão que afetam a composição da uva e a qualidade do vinho - uma revisão. **American Journal of Enology and Viticulture**. v. 44, n. 4, p. 409, 1 jan. 1993.

JACOBS, M. J.; BUGBEE, W. M.; GABRIELSON, D. A. Enumeração, localização e caracterização de bactérias endofíticas em raízes de beterraba sacarina. **Canadian Journal of Botany**. v. 63, n. 7, p. 1262–1265, jul. 1985.

JHA, C. K.; SARAF, M. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR): uma revisão. **Journal of Agricultural Research and Development**. Vol. 5(2). pp. 0108-0119. p. 12. April, 2015

JIANG, H.-E. et al. Evidência da viticultura precoce na China: prova de uma videira (*Vitis vinifera* L., *Vitaceae*) nas Tumbas de Yanghai, Xinjiang. **Journal of Archaeological Science**. v. 36, n. 7, p. 1458–1465, 2009.

KEJELA, T.; THAKKAR, V.; THAKOR, P. Espécies de *Bacillus* (BT42) isoladas da rizosfera de *Coffea arabica* L. antagonizam *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium oxysporum* e também exibem múltiplas atividades promotoras de crescimento de plantas. **BMC Microbiology**. v. 16, p. 277, 18 nov. 2016.

KELLER, M.; A ciência das videiras: Anatomia e fisiologia. **Elsevier**. Edition. London. 2010.

KINSINGER, R. F.; SHIRK, M. C.; FALL, R. A rápida motilidade superficial em *Bacillus subtilis* depende da surfactina extracelular e do íon potássio. **Journal of Bacteriology**. v. 185, n. 18, p. 5627–5631, 15 set. 2003.

KORANDA, M. et al. Processos microbianos e composição comunitária na rizosfera da faia europeia - a influência dos exsudados das plantas. **Soil Biology & Biochemistry**. v. 43, n. 3, p. 551–558, mar. 2011.

KÖSE, C. et al. Efeitos de algumas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) na união de enxertos de videira. **Journal of Sustainable Agriculture**. v. 26, n. 2, p. 139–147, 2 ago. 2005.

LAMB TG, TONKYN DW, KLUEPFEL DA. Movimento de *Pseudomonas aureofaciens* da rizosfera para o tecido vegetal aéreo. **Canadian Journal of Microbiology**. 42:1112–1120. 1996.

LEÓN M. et al. Atividade antifúngica de *Pseudomonas* e *Bacillus indigenas* selecionados da rizosfera da soja. **International Journal of Microbiology**. 2009:572049. 2009.

LI, Y. et al. Agente de biocontrole *Bacillus Amyloliquefaciens* LJ02 induz resistência sistêmica contra o oídio de cucurbitáceas. **Frontiers in Microbiology**. v. 6, p. 883, 2015.

LINDERMAN, R. G.; DAVIS, E. A. Resposta comparativa de porta-enxertos e cultivares de videira selecionados à inoculação com diferentes fungos micorrízicos. **American Journal of Enology and Viticulture**. v. 52, n. 1, p. 8–11, 2001.

LODEWYCKX, C. et al. Bactérias endofíticas e suas aplicações potenciais. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v. 21, n. 6, p. 583–606, 1 nov. 2002.

LOGUERCIO, L.L., SILVA, A.C.M., RIBEIRO, D.H. Avaliação da diversidade funcional de rizobactérias do cacauero através da partição de biomassas de raízes e parte aérea. **Apply**

Microbiology and Biotechnology. 107, 4647–4663. 2023.

LOQMAN, S. *et al.* Actinomicetos antagonísticos do solo marroquino para controlar o mofo cinzento da videira. **World Journal of Microbiology and Biotechnology.** v. 25, n. 1, p. 81–91, jan. 2009.

LORITO, M.; WOO, S. L. *Trichoderma*: uma ferramenta multifuncional para manejo integrado de pragas. *Em*: LUGTENBERG, B. Princípios das interações planta-micróbio: micróbios para uma agricultura sustentável. **Springer International Publishing.** p. 345–353. 2015.

LOTTER, D. W.; GRANETT, J.; OMER, A. D. Diferenças nos danos à raiz da videira relacionados à filoxera da uva em vinhedos gerenciados orgânicamente e convencionalmente na Califórnia. **HortScience.** v. 34, n. 6, p. 1108–1111, 1 out. 1999.

LUGTENBERG BJJ, BLOEMBERG GV. Vida na rizosfera. In: Ramos JL (ed) *Pseudomonas*, 1st edn. **Springer**, New York, pp 403–430. 2004.

MAGEVSKI G. C. *et al.* Propagação vegetativa de espécies silvestres do gênero *Piper*, com potencial para utilização como porta-enxertos em pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.** 13:559–563. 2011.

MAGNIN-ROBERT, M. *et al.* Controle biológico de *Botrytis cinerea* por bactérias selecionadas associadas à videira e estimulação das atividades de quitinase e β -1,3 glucanase em condições de campo. **European Journal of Plant Pathology.** v. 118, n. 1, p. 43–57, 4 abr. 2007.

MANJULA, K.; PODILE, A. R. Aumento na emergência de mudas e no peso seco do feijão bôer no campo com formulações de *Bacillus Subtilis* AF suplementadas com quitina. **World Journal of Microbiology and Biotechnology.** v. 21, n. 6–7, p. 1057–1062, out. 2005.

MARAIS P.G. Fungos associados à podridão radicular em vinhedos no Cabo Ocidental. **Phytophylactica.** 12: 9–13. 1979.

MARTÍNEZ-VIVEROS, O. *et al.* Mecanismos e considerações práticas envolvidas na promoção do crescimento vegetal por rizobactérias. **Journal of soil science and plant nutrition.** 10(3), 293-319. 2010.

MAYER, N. A.; PEREIRA, F. M. Enraizamento de estacas herbáceas de quatro clones de umezeiro (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) durante o inverno ameno, em Jaboticabal- SP. **Revista Brasileira de Fruticultura.** v. 25, n. 3, p. 505–507, dez. 2003.

MAYER LJ; BIASI J, BONA LC. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis L.* (*Vitaceae*) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta botanica brasílica.** 20. 563-568. 2006.

GONÇALVES, M. G. M. *et al.* Caracterização da produção da videira ‘Syrah’ em diferentes regiões do Sudeste brasileiro: interações solo-clima-planta. **Informe Agropecuário.** Belo Horizonte, v. 41, n. 312, p. 79-89, 2020.

MIELE, A. *et al.* **Uvas americanas e híbridas para processamento em clima temperado.** Embrapa Uva e Vinho, 2003.

MONFORT, L.E.F. *et al.* Reguladores, diferentes meios de cultura e MS de força na produção de composição de frações voláteis em culturas de brotos de *Ocimum basilicum*. **Industrial Crops & Products.** 116, 231-239. 2018.

MONTEIRO, E. *et al.* O papel dos bioestimulantes como aliviadores de estresses bióticos e abióticos na videira: uma revisão. **Plants.** v. 11, n. 3, p. 396, 31 jan. 2022.

NACHTIGAL, J. C.; PEREIRA, F. M. Propagação do pessegueiro “Okinawa” (*Prunus persica* (L.) Batsch) por estacas herbáceas em sistema de nebulização intermitente em Jaboticabal, São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura.** 2000.

NETO, S.; ALMEIDA, J. R. Melhoramento da videira. **Bragantia,** v. 14, p. 237–258, 1955.

NETO, DURVAL DOURADO. **Visão agrícola viticultura.** Esalq/USP. Piracicaba, Junho. Nº14, ISSN 1806-6402. 2021.

OIV. **International Organisation of Vine and Wine.** Relatório Estatístico da Vitivinicultura mundial. World Vitiniviculture Situation, 2017. Disponível em: <https://www.oiv.int/public/medias/5479/oiv-en-bilan-2017.pdf>. Acesso em: 05/11/2022

OLIVEIRA, J. A. D. *et al.* Efeito dos substratos artificiais no enraizamento e no desenvolvimento de estacas de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims f. flavicarpa Deg). **Revista Brasileira de Fruticultura.** v. 24, n. 2, p. 505–508, ago. 2002.

OLIVERI, C. *et al.* Caracterização e genotipagem faflp de cepas de *Penicillium* provenientes de amostras pós-colheita e ambientes de empacotamento. **Journal of Plant Pathology.** v. 89, n. 1, p. 29–40, 2007.

OMER, A. D.; GRANETT, J.; WAKEMAN, R. J. Patogenicidade de *Fusarium oxysporum* em diferentes porta-enxertos de *Vitis*. **Journal of Phytopathology.** v. 147, n. 7–8, p. 433–436, 1999.

PARK J. M. *et al.* Produção de *Enterobacter* sp. I-3 como potente candidato a bioherbicida para controle de ervas daninhas: uma referência especial na inibição do crescimento da alface. **Indian Journal of Microbiology.** 55:207–212. 2015.

PARKER SR; KLUEPFEL DA. Efeito do genótipo do porta-enxerto na diversidade funcional e taxonômica de comunidades da rizosfera e comunidades endófitas de videira na Califórnia. **Phytopathology.** 99:S100–S100. 2009.

PAULA JÚNIOR, T. J.; ROTTER, C.; HAU, B. Efeitos da umidade do solo e da profundidade de semeadura no desenvolvimento de feijoeiros cultivados em solo estéril infestado por *Rhizoctonia solani* e *Trichoderma harzianum*. **European Journal of Plant Pathology.** v. 119, n. 2, p. 193–202, 4 set. 2007.

PAULITZ, T. C.; BÉLANGER, R. R. Controle Biológico em Sistemas de Estufa. **Annual Review of Phytopathology.** v. 39, p. 103–133, 2001.

- PARMAR P, SINDHU SS. Solubilização de potássio por bactérias da rizosfera: influência das condições nutricionais e ambientais. **Journal of Microbiology Research**. 3:25–31. 2013.
- PATIL R. A. *et al.* Efeito dos reguladores de crescimento vegetal no crescimento do porta-enxerto de uva. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. v. 10, n. 2, p. 728–737, 20 fev. 2021.
- PEREIRA, M.C.T. *et al.* Enraizamento e crescimento inicial dos porta-enxertos de videira ‘IAC 572’ e ‘IAC 766’ em telado e no campo na região norte de Minas Gerais. **Revista Unimontes Científica**. 8, 2 maio 2020.
- RAMIREZ ARREDONDO, J. A. **Árvores frutíferas, identificação de doenças: vale de Mayo, estado de Sonora**. Avances de la investigacion CIANO (Mexico), 1994.
- REGINA, M.A.; SOUZA, C.R.; SILVA, T.G.; PEREIRA, A.F. A propagação da videira. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 19, n. 194, p. 20-27, 1998.
- RODRIGUES, M. *et al.* Bioestimulantes de plantas orgânicas e qualidade das frutas – uma revisão. **Agronomy**. v. 10, n. 7, p. 988, jul. 2020.
- ROLLI, E. *et al.* Bactérias associadas às raízes promovem o crescimento da videira: do laboratório ao campo. **Plant and Soil**. v. 410, n. 1, p. 369–382, 1 jan. 2017.
- ROLSHAUSEN, P. E. *et al.* Avaliação da suscetibilidade de feridas de poda e proteção contra fungos associados a doenças do tronco da videira. **American Journal of Enology and Viticulture**. v. 61, n. 1, p. 113–119, 2010.
- RÜCKERT, C. *et al.* Sequência do genoma da cepa do tipo *amyloliquefaciens* DSM7T revela diferenças com *B. amyloliquefaciens* FZB42 associada a plantas. **Journal of Biotechnology**. New Frontiers in MicrobialGenome Research. v. 155, n. 1, p. 78–85, 20 ago. 2011.
- RYAN, R. P. *et al.* Endófitos bacterianos: Desenvolvimentos e aplicações recentes. **FEMS microbiology letters**. v. 278, n. 1, p. 1–9, jan. 2008.
- SABIR, A. *et al.* Resposta de crescimento e aquisição de minerais de porta-enxertos de videira (*Vitis* spp.) à inoculação com diferentes cepas de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP). **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 92, n. 10, p. 2148–2153, 15 ago. 2012.
- SAIKKONEN, K.; SAARI, S.; HELANDER, M. Mutualismo defensivo entre plantas e fungos endofíticos. **Fungal Diversity**. v. 41, n. 1, p. 101–113, mar. 2010.
- SALIBE, A. B. *et al.* Enraizamento de estacas do porta-enxerto de videira “vr 043-43” submetidas a estratificação, ácido indolbutírico e ácido bórico. **Bragantia**. v. 69, n. 3, p. 617–622, 2010.
- SAMUELS, L. J.; SETATI, M. E.; BLANCQUAERT, E. H. Para uma melhor compreensão dos benefícios potenciais dos bioestimulantes à base de algas marinhas em cultivares de *Vitis vinifera* L. **Plants**. v. 11, n. 3, p. 348, jan. 2022.

SANTOYO, G. *et al.* Mecanismos de biocontrole e atividade promotora de crescimento de plantas em espécies bacterianas de *Bacillus* e *Pseudomonas* do solo: uma revisão. **Biocontrol Science and Technology**. v. 22, n. 8, p. 855–872, 1 ago. 2012.

SCHMIDT, H. *et al.* Tipagem molecular de *Aspergillus ochraceus* e construção de scar-primers específicos para espécies baseados em aflu. **Systematic and Applied Microbiology**. v. 26, n. 1, p. 138–146, mar. 2003.

SCHULZ, B.; BOYLE, C. O que são endofíticos? *Em*: SCHULZ, B. J. E.; BOYLE, C. J. C.; SIEBER, T. N. Endofíticos microbianos de raízes. **Soil Biology**. Berlin, Heidelberg: Springer, p. 1–13. 2006.

SHCHERBAKOV, A. *et al.* Endófitos bacterianos da videira (*Vitis vinifera* L.) como ferramentas promissoras na viticultura: Isolamento, caracterização e detecção em plantas inoculadas. **Agronomy research**. v. 14, p. 1702–1712, 1 jan. 2016.

SHISHIDO, M.; MASSICOTTE, H. B.; CHANWAY, C. P. Efeito de cepas de *Bacillus* promotoras de crescimento de plantas no crescimento de mudas de pinheiro e abeto e na infecção micorrízica. **Annals of Botany**. v. 77, n. 5, p. 433–442, 1 maio 1996.

SIDDIKEE M.A. *et al.* Isolamento, caracterização e uso para promoção do crescimento de plantas sob estresse salino, de bactérias halotolerantes produtoras de ACC desaminase derivadas de solo costeiro. **Journal of Microbiology Biotechnology**. Nov;20(11):1577-84. 2010.

SILVA P, NAHAS E. Diversidade bacteriana no solo em resposta a diferentes planos, fertilizantes fosfatados e calagem. **Brazilian Journal of Microbiology**. 33:304–310. 2002.

SINGH, P. K.; HUGHES, G. R. Similaridade genética entre isolados de *Pyrenophora tritici-repentis*, agente causal da mancha bronzeada do trigo. **Journal of Phytopathology**. v. 154, n. 3, p. 178–184, 2006.

SMIT E. *et al.* Diversidade e flutuações sazonais dos membros dominantes da comunidade bacteriana do solo em um campo de trigo, conforme determinado por cultivo e métodos moleculares. **Applied Environmental and Microbiology**. 67:2284–2291. 2001.

SOUZA, C.M. *et al.* Indicação de cultivares de videira para o Sul de Minas Gerais. In: REGINA, M.de A. (Ed.). **Viticultura e enologia: atualizando conceitos**. Caldas: EPAMIG-FECD, p.277-286. 2002.

SPIES, C. F. J.; MAZZOLA, M.; MCLEOD, A. Caracterização e detecção de espécies de *Pythium* e *Phytophthora* associadas a videiras na África do Sul. **European Journal of Plant Pathology**. v. 131, n. 1, p. 103–119, 1 set. 2011.

STEIN, T. Antibióticos de *Bacillus Subtilis*: Estruturas, sínteses e funções específicas. **Molecular Microbiology**. v. 56, n. 4, p. 845–857, 2005.

STONE, J. K.; POLISHOOK, J. D.; WHITE, J. F. *et al.* Fungos endofíticos. En: Elsevier Academic Press (Ed.) Biodiversidade de fungos (pp. 241-270). Burlington, EE. UU.:

Elsevier. 2004.

SULTAN, I. *et al.* Antibióticos, resistome e mecanismos de resistência: uma perspectiva bacteriana. **Frontiers in Microbiology**. v. 9, p. 2066. 2018.

TARANTINO, A. *et al.* Efeitos de bioestimulantes vegetais na frutificação, crescimento, produção e atributos de qualidade dos frutos da cultivar de damasco ‘Orange rubis®’ (*Prunus armeniaca* L.) em dois anos consecutivos. **Scientia Horticulturae**. v. 239, p. 26–34, 15 set. 2018.

TECCHIO, M. A. *et al.* Características físicas e acúmulo de nutrientes pelos cachos de “niagara rosada” em vinhedos na região de Jundiá. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 29, n.3, p. 621–625, 2007.

TOFANELLI, M. B. D. **Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de pessegueiro em diferentes concentrações de ácido indolbutírico**. 1999. 87 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

TRABELSI D, RIDHA M. Inoculantes microbianos e seu impacto nas comunidades microbianas do solo: uma revisão. **BioMed Research International**. 2013:863240. 2013.

TRAVERS, R. S.; MARTIN, P. A.; REICHELDERFER, C. F. Processo seletivo para isolamento eficiente de *Bacillus* spp. **Applied and Environmental Microbiology**. v.53, n. 6, p. 1263–1266, jun. 1987.

TROTEL-AZIZ, P. *et al.* Caracterização de novos agentes de biocontrole bacteriano *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* e *Pseudomonas* spp. mediando a resistência da videira contra *Botrytis cinerea*. **Environmental and Experimental Botany**. v. 64, n. 1, p. 21–32, 2008.

TOCCHETTO, A, Fusariose da parreira. **Revista Agronomia Brasileira**. Jaboticabal - FCAV - Unesp., (209/211): 82-9, 1954.

TSAVKELOVA, E. A. *et al.* Bactérias associadas a raízes de orquídeas e produção microbiana de auxina. **Microbiological Research**. v. 162, n. 1, p. 69–76, 2007.

TSOTETSI, T. *et al.* *Bacillus* para promoção do crescimento das plantas e resiliência ao estresse: o que aprendemos? **Plants**. v. 11, n. 19, p. 2482, jan. 2022.

ULRICH, K.; STAUBER, T.; EWALD, D. *Paenibacillus*— uma bactéria endofítica predominante que coloniza culturas de tecidos de plantas lenhosas. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. v. 93, n. 3, p. 347–351, jun. 2008.

UTKHEDE, R. S. Controle biológico de patógenos transmitidos pelo solo em árvores frutíferas e videiras. **Canadian Journal of Plant Pathology**. v. 14, n. 1, p. 100–105, 1992.

VACHERON J. *et al.* Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e funcionamento do sistema radicular. **Frontiers in Plant Science**. 4:356. 2013.

VALIDOV, S. Z.; KAMILOVA, F.; LUGTENBERG, B. J. J. A cepa de *Pseudomonas*

putida PCL1760 controla a podridão do pé e da raiz do tomate em lã de rocha sob condições industriais em uma estufa certificada. **Biological Control**. v. 48, n. 1, p. 6–11, 2009.

VEGA, F. E. O uso de entomopatógenos fúngicos como endófitos no controle biológico: uma revisão. **Mycology**. v. 110, n. 1, p. 4–30, 2 jan. 2018.

VEJAN, P. *et al.* Papel das rizobactérias na promoção do crescimento das plantas na sustentabilidade agrícola - uma revisão. **Molecules**. Basel, Switzerland. v. 21, n. 5, p. E573, 29 abr. 2016.

VILLA, F. *et al.* Enraizamento de estacas herbáceas do porta-enxerto de videira “Riparia de Traviú” tratadas com auxinas. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 27, p. 1426–1431, dez. 2003.

VRŠIČ, S., PULKO, B., & KOCSIS, L. Fatores que influenciam o sucesso da enxertia e a compatibilidade de porta-enxertos de videira. **Scientia Horticulturae**. 181, 168-173. 2015.

WALKER, G. E. Crescimento de raízes de videira em solo de um viveiro naturalmente infestado com *Meloidogyne Incognita* e *Rhizoctonia Solani*. **South African Journal of Enology and Viticulture**. v. 15, n. 2, p. 26–32, 1994.

WALKER, T. S. *et al.* Exsudação de raízes e biologia da rizosfera. **Plant Physiology**. v. 132, n. 1, p. 44–51, 1 maio 2003.

WANG J. *et al.* Caracterização de hidrolisados de caseína derivados de hidrólise enzimática. **Chemistry Central Journal**. Apr 4;7(1):62. PMID: 23556455; PMCID: PMC3626679. 2013.

WEST, E. R. *et al.* Caracterização e diversidade de bactérias endófitas da videira. **Canadian Journal of Microbiology**. v. 56, n. 3, p. 209–216, mar. 2010.

WONG, W. S. *et al.* A importância dos fitohormônios e micróbios nos biofertilizantes. *Em: MAHESHWARI, D. K. Metabólitos bacterianos no agroecossistema sustentável. Desenvolvimento sustentável e biodiversidade. Cham: Springer International Publishing.* p. 105–158. 2013.

ZIEDAN, E.-S. H.; EMBABY, E.-S. M.; FARRAG, E. S. Primeiro registro de murcha vascular de *Fusarium* em videira no Egito. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**. v. 44, n. 17, p. 1719–1727, 1 out. 2011.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Screening realizado em casa de vegetação com os 32 isolados bacterianos coletados.

ISOLADOS/PORTA-ENXERTOS	1103 Paulsen		IAC 572	
	PA	PR	PA	PR
AGUA	0,19 bA	0,07 bA	0,90 bA	0,70 cA
BO01A	0,87 bA	0,57 bA	1,98 aA	1,19 cA
BO02	1,23 aB	0,60 bB	2,91 aA	1,63 bA
BO04	2,70 aA	1,76 aA	2,93 aA	1,42 bA
BO05	1,81 aB	1,43 aB	3,43 aA	3,18 aA
BO08	0,59 bA	0,49 bA	0,33 cA	0,26 cA
BO09	0,34 bA	0,20bA	0,50 cA	0,56cA
BO11	1,43 aA	0,75 bA	2,58 aA	1,65 bA
BO14	0,00 bB	0,00 bB	2,24 aA	1,89 bA
BO22	0,77 bB	0,20 bB	3,32 aA	2,00 bA
BO22A	1,33 aA	1,03 aA	2,15 aA	1,58 bA
BO28	0,14 bA	0,18 bA	0,63 cA	1,04 cA
BO29	0,60 bB	0,36 bB	2,77 aA	1,58 bA
BO31	0,57 bB	0,34 bA	1,97 aA	0,92 cA
BO36	0,00 bA	0,00 bA	0,00 cA	0,00 cA
HORM	0,35 bB	0,25 bB	2,28 aA	2,29 bA
INV	0,08 bB	0,08 bB	1,60 bA	1,17 cA
SY01	0,00 bB	0,00 bB	1,69 bA	1,50 bA
SY02	0,77 bB	0,37 bB	2,20 aA	1,28 cA
SY03	1,60 bA	0,78 bA	1,48 bA	0,68 cA
SY04	0,29 bB	0,06 bB	3,43 aA	2,00 bA
SY07	0,93 bB	0,40 bB	2,99 aA	2,14 bA
SY09	1,20 aA	0,46 bB	2,32 aA	1,69 bA
SY13	0,00 bA	0,00 bA	0,89 bA	0,82 cA
SY14	0,38 bB	0,14 bB	1,33 bA	1,99 bA
SY15	0,00 bB	0,00 bB	2,66 aA	1,08 cA
SY16	1,82 aA	1,53 aA	1,40 bA	1,11 cA

SY17	1,32 aA	0,92 aA	1,68 bA	1,00 cA
SY18	1,12 aA	0,85 aA	1,06 bA	0,72 cA
SY19	0,25 bA	0,17 bA	0,32 cA	0,12 cA
SY21	0,78 bB	0,59 bB	3,54 aA	1,96 bA
SY25	2,31 aA	1,00 aA	2,81 aA	1,59 bA
SY27	0,82 bA	0,58 bA	1,21 bA	0,86 cA
SY29	2,35 aA	1,39 aA	2,77 aA	2,27 bA
SY30	0,18 bB	0,09 bB	2,19 aA	1,86 bA

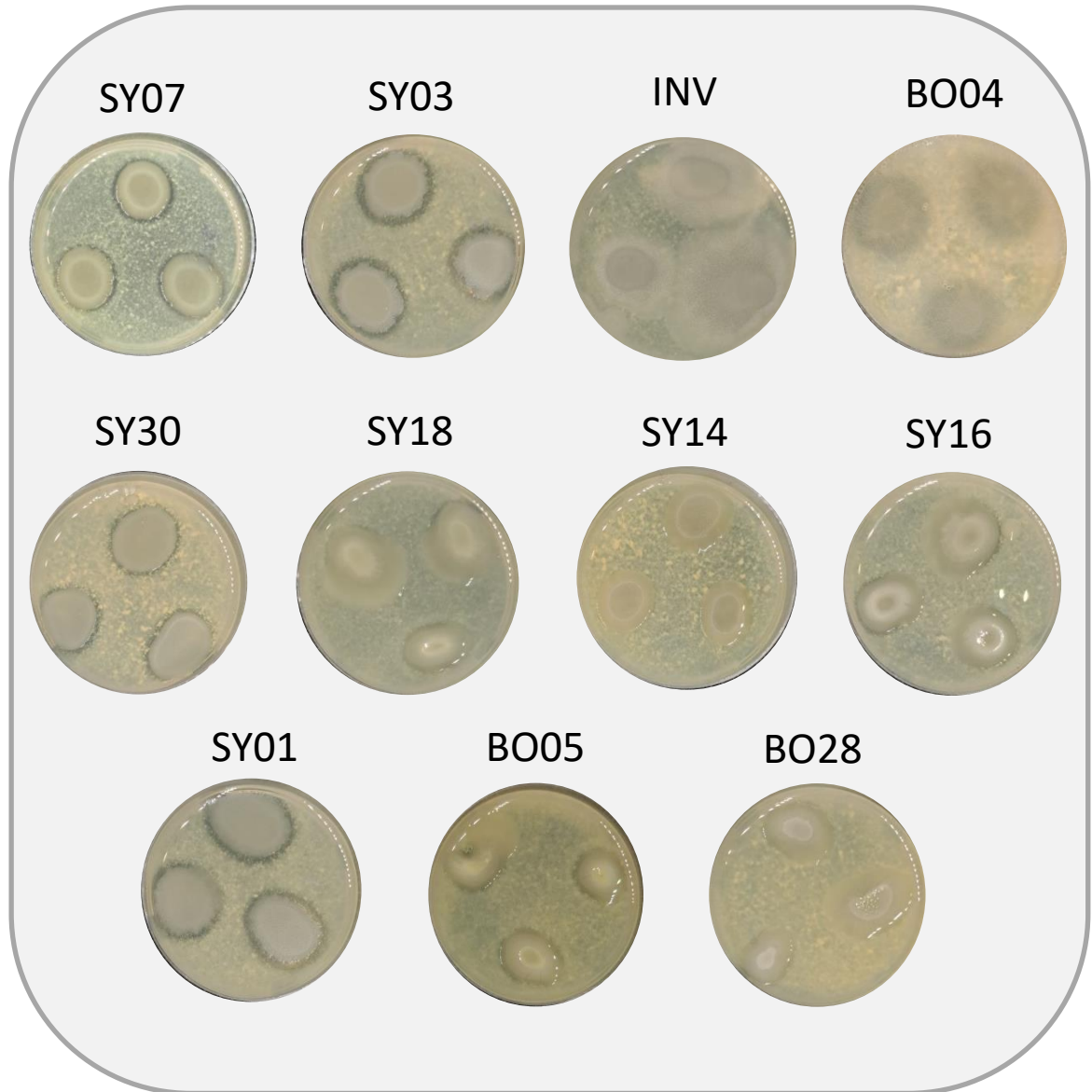
Legenda: Screening realizado em casa de vegetação com todas as cepas bacterianas isoladas de ambos os porta-enxertos testados, tanto da porção “bulk soil”, quanto da região rizosférica das mudas de videira. As letras minúsculas referem-se ao teste Scott-Knott ($p \leq 0.05$) feito entre os isolados bacterianos para cada porta-enxerto testado. Já as letras maiúsculas referem-se ao teste Scott-Knott ($p \leq 0.05$) feito em relação aos diferentes porta-enxertos (IAC 572 e 1103 Paulsen). Houve diferença significativa entre os isolados em ambos os porta-enxertos e também entre os porta-enxertos. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente de acordo com o teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). PA = Massa Seca de Parte Aérea; PR = Massa Seca de Raíz.

APÊNDICE B – Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) realizado após o isolamento seletivo de bactérias gram-positivas.

Cultivares	Local de coleta	UFC.mL ⁻¹ x 10 ⁴ (Médias)
IAC572/Syrah	Bulk Soil	299 aA
IAC572/Syrah	Rizosfera	231 aB
1103P/Bocaina	Bulk soil	21 bA
1103P/Bocaina	Rizosfera	8 bA

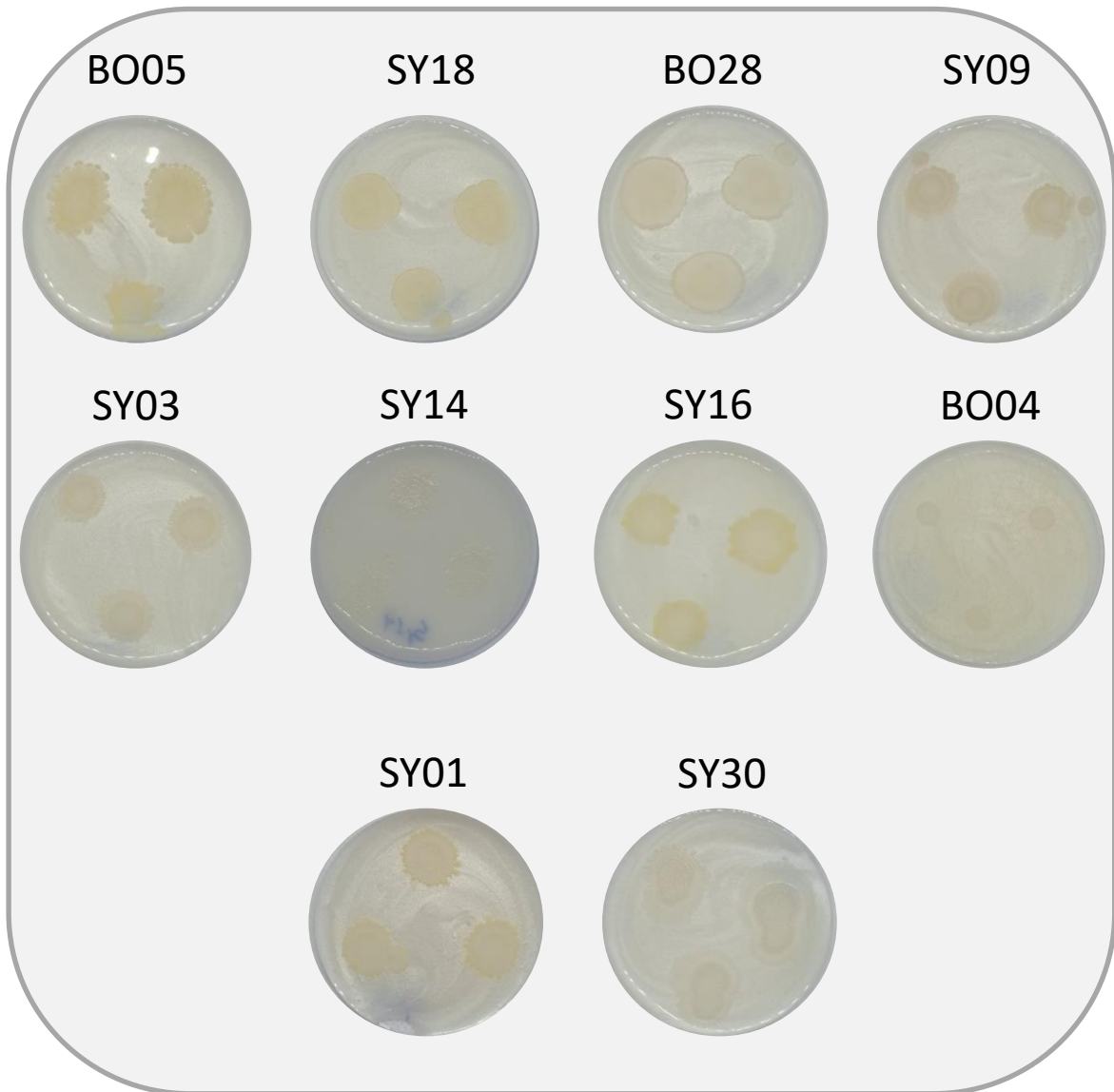
Legenda: Contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), realizado após coleta de solo e isolamento seletivo de bactérias gram-positivas. O teste apresenta a comparação entre as quantidades de UFCs encontradas nas diferentes porções de solo (‘bulk Soil’ e rizosfera) e as duas combinações de mudas enxertadas (1103P/Bocaina e IAC572/Syrah). As letras minúsculas referem-se ao teste Tukey ($p \leq 0.05$), feito entre as cultivares. Já as letras maiúsculas referem-se ao teste Tukey ($p \leq 0.05$) feito em relação às diferentes porções de solo coletadas. Houve diferença significativa entre as cultivares. Houve diferença significativa entre as porções de solo coletadas em áreas de IAC572/Syrah. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).

APENDICE C – Teste de hidrolisação de caseína com os 10 isolados selecionados através do experimento *in vivo*.



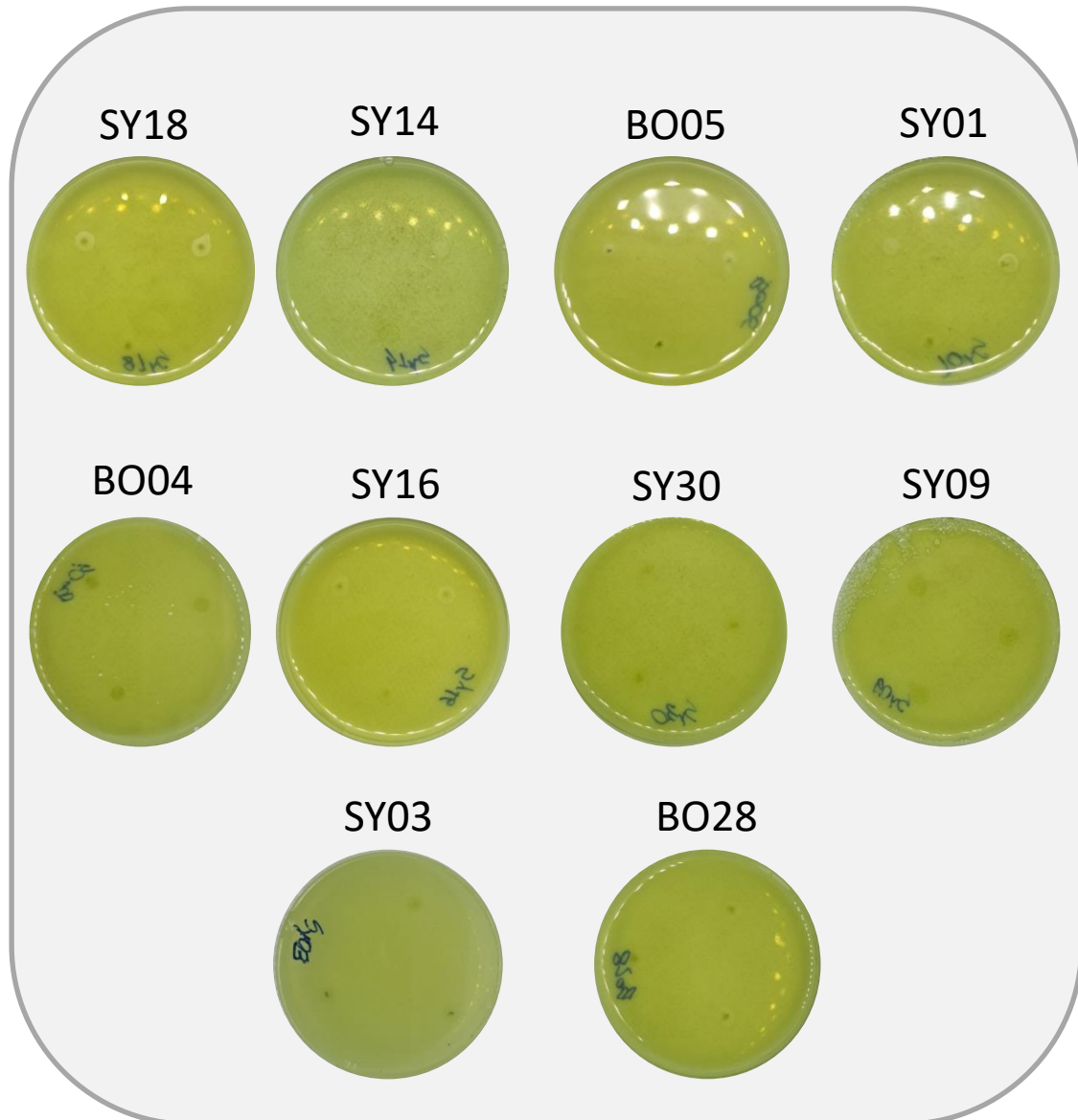
Legenda: Isolados bacterianos selecionados no experimento *in vivo* demonstrando suas capacidades ou não em hidrolisar caseína, liberando nitrogênio. Meio de cultura específico para detecção de microrganismos hidrolisantes (Frazier; Rupp, 1928). Os isolados que apresentaram halo ao redor do crescimento colonial foram aqueles que demonstraram atividade hidrolítica. Uma colônia pura de cada isolado foi transferida para placas de Petri contendo o meio de cultura específico. As placas foram incubadas a 26°C por 24h e avaliadas após esse período.

APÊNDICE D – Teste de solubilização de potássio com os 10 isolados selecionados no experimento *in vivo*.



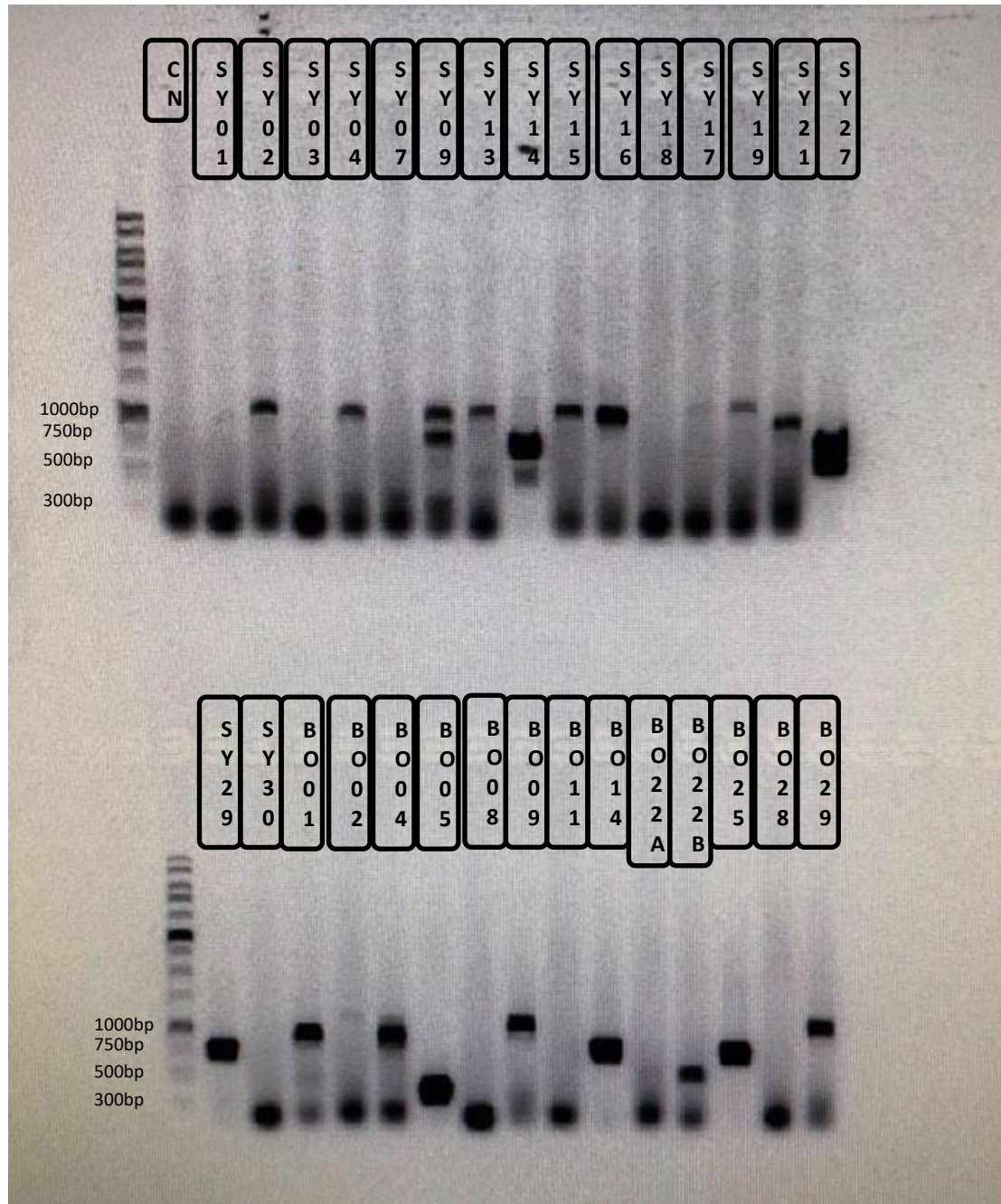
Legenda: Isolados bacterianos selecionados no experimento *in vivo* demonstrando suas capacidades em solubilizar potássio. Meio de cultura específico (Aleksandrow medium) para detecção de microrganismos solubilizadores de potássio (Zhang e Kong, 2014). Nenhum isolado formou halo ao redor das colonônias bacterianas, demonstrando que não foram capazes de solubilizar a fonte de potássio disponível no meio de cultura. Uma colônia pura de cada isolado foi transferida para placas de Petri contendo o meio de cultura específico. As placas foram incubadas a 26°C por 5 dias e avaliadas após esse período.

APÊNDICE E – Teste de solubilização de fosfato com os 10 isolados selecionados no experimento *in vivo*.



Legenda: Isolados bacterianos selecionados no experimento *in vivo* demonstrando suas capacidades ou não em solubilizar fontes de fosfato. Meio de cultura específico para detecção de microrganismos solubilizadores de fósforo (Gadagi *et al.*, 2002). Nenhum isolado formou halo ao redor das colonônias bacterianas, demonstrando que não foram capazes de solubilizar a fonte de fosfato disponível (FePO_4) no meio de cultura. Uma colônia pura de cada isolado foi transferida para placas de Petri contendo o meio de cultura específico. As placas foram incubadas a 26°C por 5 dias e avaliadas após esse período.

APÊNDICE F – Gel de agarose (0,8%) dos produtos obtidos através da PCR dos 30 isolados bacterianos utilizados nos screenings.



Legenda: Gel de agarose (0,8%) dos produtos obtidos através da PCR dos 30 isolados bacterianos utilizados nos screenings. Foi utilizado os primers: **recA-F** (TTC TTC ATA AGA ATA CCA CGA ACC GC) e **recA-R** (TGA GTG ATC GTC AGG CAG CCT TAG) para amplificação do gene *recA* dos isolados.