



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS DE GURUPI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO
ACADÊMICO/PROFISSIONAL EM BIOTECNOLOGIA

VICTOR HUGO SILVA GODOY

***Pochonia* spp. COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO
VEGETAL**

GURUPI/TO
2018

VICTOR HUGO SILVA GODOY

***Pochonia* spp. COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO
VEGETAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Orientador: Dr. Aloisio Freitas Chagas Junior

Gurupi/TO
2018

<https://sistemas.uft.edu.br/ficha/>

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

B214j Bandeira, Manuel Carneiro de Sousa.
 Jornalismo no século XX: novos paradigmas . / Manuel Carneiro de
 Sousa Bandeira. – Palmas, TO, 2016.
 148 f.

 Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do
 Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-
 Graduação (Mestrado) em Comunicação e Sociedade, 2016.

 Orientador: José Bento Renato Monteiro Lobato

 Coorientadora : Cecília Benevides de Carvalho Meireles

 1. Jornalismo. 2. Observatório. 3. Memória. 4. Folkcomunicação. I.
 Título

CDD 302.2

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de
qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde
que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime
estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica
da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

FOLHA DE APROVAÇÃO

VICTOR HUGO SILVA GODOY

***Pochonia* spp. COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO
VEGETAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 05 / 05 / 2018

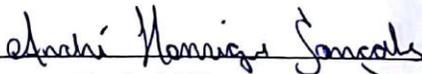
Banca Examinadora



Prof. Dr. Orientado Aloisio Freitas Chagas Junior
Universidade Federal do Tocantins



Prof. Dr. Augustus Caeser Franke Portella
Universidade Federal do Tocantins



Dr. André Henrique Gonçalves
Universidade Federal do Tocantins

Gurupi, 2018

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder saúde e ser o me mostrar o caminho todos os dias. Aos meus pais, Madalena e Rafael, grandes responsáveis por esta conquista e a dedicação a minha educação, meus avós paternos e maternos por acrescentarem muito na minha formação pessoal e educacional. Á vocês todo o meu amor e agradecimento!

À minha irmã Gracielle Mara, pela amizade e paciência.

A minha esposa Ludimila Galvão, pela compreensão, paciência, apoio, dedicação, companheirismo e por estar ao meu lado todos esses anos de alegrias e tristezas, de altos e baixos.

Ao meu filho(baby), meu eterno estímulo diário, minha força silenciosa, obrigado pelo carinho, amor e paciência nos dias difíceis.

A todos os meus familiares que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado para que esse momento seja realizado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Aloisio Chagas Junior, pela ajuda, paciência e ensinamentos.

Aos meus queridos amigos e companheiros de laboratório e de campo, equipe Micro-Bio meus sinceros agradecimentos a todos vocês pela ajuda e troca de conhecimentos.

Aos amigos de curso pelo companheirismo e ajuda nesta etapa.

A todos que contribuíram diretamente ou indiretamente para realização desse trabalho.

A Universidade Federal do Tocantins pela oportunidade de estudo e qualificação

A Capes, pela bolsa concedida.

RESUMO

***Pochonia* spp. COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO EM SOJA E FEIJÃO CAUPI**

O Estado do Tocantins apresenta área de cerrado, possuindo um grande potencial para o desenvolvimento do setor agropecuário. Ele concentra suas principais atividades na pecuária e na produção de grãos. Os principais fatores de baixa produtividade das culturas agrícolas, tais como, a soja, são as doenças causadas por patógenos que habitam o solo, que podem provocar prejuízos severos com perdas significativas na produtividade. O tratamento biológico em sementes com microrganismos benéficos é muito pouco conhecido. O fungo *Pochonia* vem se destacando por apresentar um potencial como agente de controle biológico e ser bastante promissor como promotor de crescimento em plantas. A inoculação de sementes com o fungo *Pochonia*, não só protege as plantas contra várias doenças, mas também, poderá melhorar o crescimento, podendo agir como promotor do crescimento vegetal. Objetivou-se neste presente trabalho determinar a capacidade de *Pochonia* spp. em sintetizar ácido indol acético (AIA), capacidade de solubilização de fosfato e a promoção do crescimento vegetal em culturas como soja e feijão-caupi. Foram determinadas a capacidade de sintetizar AIA e capacidade de solubilização de fosfato, meio BD adicionado de solução de K_2HPO_4 e $CaCl_2$. Os resultados obtidos nas avaliações de AIA e solubilização de fosfato mesmo que em pequenas quantidades apresentaram incrementos em relação a testemunha, apresentaram resultados que variaram de 0,77 a 7,45 $\mu g mL^{-1}$ em AIA e de 3,48 a 13,42 $\mu g mL^{-1}$ na solubilização de fósforo, sendo que as estirpes que obtiveram melhor resultado nos experimentos foram UFT- P02 e UFT-P04. Nas avaliações em casa de vegetação avaliou-se MPSA, MSR, MST e altura de planta aos 45 e 56 dias após a emergência, dentre as estirpes as que se mostram com melhor eficiência relativa em relação a testemunha foram as estirpes UFT-P05 e UFT-P03 com incremento de 77 e 75% respectivamente. No teste de doses desenvolvido a campo obteve-se incremento 1.083,7 $kg ha^{-1}$ em relação a testemunha sendo a dose que obteve maior incremento foi na dose de 3 kg de inoculante / 50 kg de semente com produtividade total de 4.115,7 $kg ha^{-1}$. Conclui se com estes estudos que a *Pochonia* spp. mostrou potencial em disponibilizar fosforo para planta, sintetizar AIA com isso promovendo maior crescimento vegetal, incrementando assim aumentos significativos na produtividade de grãos.

Palavra-chave: inoculante, *Glycine max*, *Vigna unguiculata*, isolados. .

ABSTRACT

Pochonia spp. AS A GROWTH PROMOTER IN SOYBEAN CULTURE

The State of Tocantins presents a cerrado area, possessing great potential for the development of the agricultural sector. It focuses its main activities on livestock and grain production. The main factors of low productivity of agricultural crops, such as soybeans, are diseases caused by pathogens that inhabit the soil, which can cause severe losses with significant losses in productivity. Biological treatment in seeds with beneficial microorganisms is very little known. The *Pochonia* fungus has been shown to have a potential as a biological control agent and is very promising as a growth promoter in plants. Seed inoculation with the *Pochonia* fungus not only protects plants against various diseases, but also can improve growth and can act as a promoter of plant growth. The objective of this work was to determine the capacity of *Pochonia* spp. to synthesize indole acetic acid (IAA), phosphate solubilization capacity and promote plant growth in crops such as soybean and cowpea. The ability to synthesize IAA and phosphate solubilization capacity, BD medium added with K_2HPO_4 solution and $CaCl_2$ were determined. The results obtained in the evaluations of IAA and phosphate solubilization even though in small quantities presented increases in relation to the control, presented results ranging from 0.77 to 7.45 $\mu\text{g mL}^{-1}$ in IAA and from 3.48 to 13.42 $\mu\text{g mL}^{-1}$ in phosphorus solubilization, and the strains that obtained the best result in the experiments were UFT-P02 and UFT-P04. DMA, DMR, DMT and plant height were evaluated in the greenhouse evaluations at 45 and 56 days after emergence, among the strains which showed the best relative efficiency in relation to the control were strains UFT-P05 and UFT -P03 with an increase of 77 and 75% respectively. In the dose test developed in the field, an increase of 1,083.7 kg ha^{-1} was obtained in relation to the control, and the dose that obtained the greatest increment was the dose of 3 kg of inoculant / 50 kg of seed with total yield of 4,115.7 kg ha^{-1} . It is concluded from these studies that *Pochonia* spp. showed a potential in providing phosphorus to the plant, synthesizing IAA with this, promoting greater plant growth, thus increasing significant increases in grain yield.

Keywords: inoculant. *Glycine max.* *Vigna unguiculata.*

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1. Solubilização de fosfato, síntese de ácido indol acético e efeito na biomassa de soja inoculada com *Pochonia* spp.

Tabela 1. Médias de concentração de fosfato solubilizado ($\mu\text{g mL}^{-1}$) em meio NBRIP (modificado) por isolados de *Pochonia* spp., em diferentes intervalos de tempo (dias)¹.....22

Tabela 2. Produção de AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$) por isolados de *Pochonia* em meio BD na ausência (AT) e presença (PT) de L triptofano¹23

Tabela 3. Valores médios de altura, massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) de soja (M8210 IPRO) inoculado com isolados de *Pochonia* em casa de vegetação, Gurupi -TO.....25

Capítulo 2. Promoção de crescimento em leguminosas (soja e feijão-caupi) por isolado de *Pochonia* spp. em campo.

Tabela 1. Valores médios de altura (AL), Quantidade de entre nó (EN), número de vargens (NV), número de grãos (NG) e produtividade de soja cv. M8615 IPRO aos 105 DAP inoculados com diferentes doses (1, 2, 3 e 4 kg / 50 kg semente) de isolados de *Pochonia* (UFTP03) cultivado no cerrado em Gurupi -TO. Safra 2016/2017.¹.....42

Tabela 2. Valores médios de massa seca da parte aérea (MSPA) de feijão-caupi, com diferentes doses (1, 2, 3 e 4 kg / 50 kg semente) de *Pochonia* (UFTP03) cultivado no cerrado em Gurupi -TO. Safra 2016/2017.¹.....43

Tabela 3. Valores médios de altura (AL), Quantidade de entre nó (EN), número de vargens (NV), número de grãos (NG) e produtividade de feijão caupi var. Sempre Verde aos 105 DAP inoculados com diferentes doses (1, 2, 3 e 4 kg / 50 kg semente) de isolados de *Pochonia* (UFT-St03) cultivado no cerrado em Gurupi -TO. Safra 2016/2017.¹.....45

SUMÁRIO

RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
CAPÍTULO 1	11
SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO, SÍNTESE DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO E EFEITO NA BIOMASSA DE SOJA INOCULADA COM POCHONIA SPP.	13
RESUMO	13
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO	15
MATERIAL E MÉTODOS	16
1.1. ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DOS ISOLADOS DE <i>POCHONIA</i> SSP.	16
1.2. SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO POR ISOLADOS DE <i>POCHONIA</i> SSP.	16
1.3. PRODUÇÃO DE ÁCIDO INDOL-ACÉTICO (AIA) POR ISOLADOS DE <i>POCHONIA</i> SSP.	17
1.4. EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.	18
1.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	19
RESULTADOS	211
1.6. SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO	211
1.7. PRODUÇÃO DE ÁCIDO INDOL-ACÉTICO (AIA)	222
1.8. SELEÇÃO DOS ISOLADOS EM CASA DE VEGETAÇÃO.	23
DISCUSSÕES	25
CONCLUSÕES	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	288
CAPÍTULO 2	31
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM LEGUMINOSAS (SOJA E FEIJÃO-CAUPI) POR ISOLADO DE POCHONIA SSP. EM CAMPO RESUMO	32
RESUMO	32
ABSTRACT	33
INTRODUÇÃO	34
MATERIAL E MÉTODOS	35
EXPERIMENTO 1 – DOSES DE <i>POCHONIA</i> SSP. EM CAMPO COM SOJA	35
EXPERIMENTO 2 – DOSES DE <i>POCHONIA</i> SSP. EM CAMPO COM FEIJÃO-CAUPI	36
ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
RESULTADOS	38

DISCUSSÕES	4141
CONCLUSÕES	4343
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

CAPÍTULO 1

**SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO, SÍNTESE DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO E SELEÇÃO
DOS ISOLADOS DE *Pochonia* ssp. EM CASA DE VEGETAÇÃO**

RESUMO

SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO, SÍNTESE DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO E EFEITO NA BIOMASSA DE SOJA INOCULADA COM *Pochonia* spp.

O fungo *Pochonia* vem se destacando por apresentar um potencial como agente de controle biológico e ser bastante promissor como promotor de crescimento em plantas. Com isso, objetivou-se avaliar a capacidade de solubilização de fosfato e a produção de ácido indol acético (AIA) *in vitro*, além de selecionar cepas com potencial para promoção de crescimento vegetativo na cultura da soja. Os inóculos de *Pochonia* spp. foram isolados de solos de diferentes culturas e identificadas. Para ensaio de solubilização de fosfato *in vitro* foi utilizado meio BD adicionado de solução de K_2HPO_4 e $CaCl_2$. Para o ensaio de produção de AIA, os isolados foram transferidos para frascos de erlenmeyer com meios de cultura na ausência (controle) e presença de L-triptofano. Todos os isolado apresentaram capacidade de solubilização de fosfato. Para a produção de ácido indol acético os melhores resultados foram superiores na presença do indutor L-triptofano, sendo o melhor isolado observado o UFT-PO4 ($12,3 \mu\text{g mL}^{-1}$). Nas avaliações em casa de vegetação avaliou-se massa seca da parte aérea, massa seca da raiz, massa seca total e altura de planta aos 45 e 56 dias após a emergência. Dentre as estirpes as que se mostram com melhor eficiência relativa em relação a testemunha foram as estirpes UFT-P05 e UFT-P03 com incremento de 77 e 75% respectivamente. Os resultados do presente trabalho comprovam a eficiência dos isolados de *Pochonia* spp. como promotor de crescimento.

Palavras-chave: Fungo, promotor de crescimento, fitormônio.

ABSTRACT

PHOSPHATE SOLUBILIZATION, SYNTHESIS OF INDOL ACETIC ACID AND EFFECT ON BIOMASS SOYBEAN INOCULATED WITH *Pochonia* spp.

The *Pochonia* fungus has been shown to have a potential as a biological control agent and is very promising as a growth promoter in plants. The objective of this study was to evaluate the phosphate solubilization capacity and the production of indole acetic acid (IAA), *in vitro*, in addition to selecting strains with potential to promote vegetative growth in the soybean crop. The inoculums of *Pochonia* spp. were isolated from soils of different cultures and identified. For phosphate solubilization assay BD medium added with K_2HPO_4 and $CaCl_2$ solution was used. For the IAA production assay, the isolates were transferred to erlenmeyer flasks with culture media in the absence (control) and presence of L-tryptophan. All the isolates were able to solubilize phosphate. For the production of indole acetic acid, the best results were higher in the presence of the L-tryptophan inducer, and the UFT-PO4 ($12.3 \mu g mL^{-1}$) was the best isolated isolate. Dry mass aerial, dry mass root, dry mass total and plant height at 45 and 56 days after emergence were evaluated in the greenhouse evaluations. Among the strains, the strains UFT-P05 and UFT-P03 with the highest relative efficiency of 77 and 75% respectively. The results of the present work prove the efficiency of the isolates of *Pochonia* spp. as a growth promoter.

Key words: Fungus, growth promoter, phytorium.

INTRODUÇÃO

A prática na agricultura tem mostrado que o uso sistemático de fertilizantes orgânicos e controles biológicos permite a produção com melhores rendimentos, sem necessidade de aplicação de produtos químicos (COMPANIONI, 2011). A conservação e gestão é a forma mais econômica de otimizar a nutrição das plantas e, portanto, desempenha um papel importante na fertilidade do solo e substrato (RODRÍGUEZ, 2004).

A rizosfera é a zona de contato entre solo e raízes, e abriga grande diversidade de microrganismos, onde são encontradas bactérias, fungos, algas, entre outros. Muitos microrganismos endofíticos diversificados participam da imunidade da planta, auxiliando sua sobrevivência, aptidão em defesa e nutrição (KOZYROVSKA, 2013). A solubilização de fosfato por microrganismos é importante, pois os fosfatos naturais apresentam o inconveniente de possuírem baixa solubilidade e, portanto, são pouco disponíveis às plantas.

A produção de ácido indol acético (AIA) também tem recebido muita atenção devido a sua importância, uma vez que é um hormônio diretamente ligado a regulação do crescimento vegetal. O principal indutor da rota de produção de AIA é o aminoácido triptofano (Trp). No entanto, a biossíntese desse hormônio também pode ocorrer por via independente do precursor Trp (SILVA; LANDGRAF, 2017). O AIA pode ser sintetizado e excretado por diversos microrganismos endofíticos, devemos citar o fungo *Trichoderma* sp. (OLIVEIRA et al., 2012)

A seleção de isolados específicos para as culturas de interesse agrícola são fundamentais e culmina com a produção de inoculantes mais adequados à espécie cultivada (ROSSI et al., 2002; DE SOUZA et al., 2004).

O fungo *Pochonia* vem se destacando por apresenta um potencial como agente de controle biológico que exibe um estilo de vida multitrópico (LARRIBA et al., 2014). Trata-se de um fungo nematófago presente no solo que naturalmente elimina os parasitas de plantas como os nematóides (ZARE et al., 2001; DIAS-ARIEIRA et al., 2011). Além disso, tem sido utilizado como componente de estratégias integradas de manejo de pragas (VERDEJO-LUCAS et al., 2003; MUTHULAKSHMI et al., 2012).

Alguns trabalhos mostram resultados onde sugerem fortemente que isolados de *Pochonia* podem ser promotores de crescimento de plantas em culturas de grande importância, como já reportado em estudos com cevada e trigo (MONFORT et al., 2005; MACIA-VICENTE et al., 2009;

ROSSO et al., 2014), além de diminuir o tempo de floração e frutificação em *Solanum lycopersicum* (ZAVALA-GONZÁLEZ et al., 2015).

Dessa forma, *Pochonia* spp. são fungos de maior importância na produção de metabólitos com aplicação na agricultura. Com isso, o presente estudo teve por objetivo avaliar a capacidade de solubilização de fosfato e a produção de ácido indol acético (AIA) *in vitro*, além de selecionar isolados com potencial na atividade promovendo o crescimento vegetativo em casa de vegetação na cultura da soja.

MATERIAL E MÉTODOS

1.1. Isolamento e caracterização fenotípica dos isolados de *Pochonia* spp.

Os experimentos foram conduzidos de maio a setembro de 2017, no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins – Campus de Gurupi. As fontes de inóculos de *Pochonia* spp. foram isoladas de diferentes amostras de solos de cultivo de regiões do estado do Tocantins.

Para a obtenção dos isolados de *Pochonia* spp. amostras de 15 g de solo (próximas as raízes das culturas) foram coletadas, separadamente, em frascos Erlenmeyer de 150 mL de capacidade, contendo 90 mL de água esterilizada, e agitadas por 25 minutos em agitador orbital (Novatécnica[®], 100 rpm a 26 ± 2 °C). Em seguida, foram feitas diluições em série até 1×10^{-3} , e uma alíquota de 1 mL de cada amostra foi espalhada em placas de Petri contendo meio semi-seletivo (GASPARD et al., 1990), com o auxílio de uma alça de Drigalsky. As placas foram armazenadas a 28 °C até o crescimento das colônias fúngicas. As colônias de cada amostra de solo foram repicadas para placas contendo meio BDA (Batata 20%, dextrose 2%, ágar 1,5% e água destilada; pH 6,8) e incubados em BOD a 29 ± 1 °C com fotoperíodo de 12 horas com luz e 12 sem por sete dias. As colônias fúngicas foram pré-identificadas, conforme características morfológicas do isolado, como cor da colônia e tipo de conidióforo. Posteriormente, os isolados foram armazenados e mantidos a 8 °C para estudos posteriores (GONÇALVES et al., 2007).

1.2. Solubilização de fosfato por isolados de *Pochonia* spp.

Após a coleta e isolamento de *Pochonia* spp. Foram avaliadas a capacidade de produzir,

in vitro, substâncias relacionadas ao crescimento vegetal, como a capacidade de solubilizar fosfatos insolúveis, segundo metodologias descritas em Cattelan (1999).

Para o ensaio de solubilização de fosfato *in vitro* em meio líquido os isolados de *Pochonia* spp. foram cultivados inicialmente em meio BDA (Batata 20%, dextrose 2%, ágar 1,5% e água destilada; pH 6,8) e incubados em BOD a 29 ± 1 °C por sete dias. A partir dessas colônias os isolados foram repicados para Erlenmeyer (250 mL), onde foram testados quanto ao potencial de solubilização de fosfato *in vitro* em meio NBRIP modificado (NAUTYAL, 1999), contendo os seguintes ingredientes (g L⁻¹): glicose, 10,0; MgCl₂.6 H₂O, 5,0; MgSO₄.7H₂O, 0,25; KCl, 0,2; (NH₄)₂SO₄, 0,1. Foram adicionados ao meio, 50 mL de K₂HPO₄ (10%) e 100 mL de CaCl₂ (10%), para formação de precipitado insolúvel de fosfato de cálcio (CaHPO₄).

A estimativa quantitativa de solubilização de fosfato foi realizada em triplicata em delineamento inteiramente ao acaso. Posteriormente foram cultivados em mesa agitadora com movimentação orbital (Novatécnica[®], 150 rpm a 28 ± 2 °C) durante oito dias. Foram feitas avaliações aos dois, quatro, seis e oito dias após a repicagem.

Para a determinação da concentração de fósforo (P) solúvel foi utilizado o método colorimétrico de Murphy & Riley (1962), subtraindo-se o P solúvel contido nos tratamentos pelo contido na amostra controle (meio de cultura com fosfato e sem inóculo).

Para as avaliações foram utilizadas uma parte do reagente, 0,5 mL da amostra filtrada mais 5 mL de água destilada para cada amostra. Após 20 minutos de reação o P solúvel foi quantificado em espectrofotômetro no comprimento de onda de 725 nm de absorbância. A curva padrão para quantificação de P foi feita a partir do fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) e as concentrações calculadas em µg mL⁻¹.

1.3. Produção de ácido indol-acético (AIA) por isolados de *Pochonia* spp.

Para os testes de produção de AIA, colônias de *Pochonia* spp. Foram previamente cultivados em placa de Petri em meio de cultura BDA (Batata 20%, dextrose 2%, ágar 1,5% e água destilada; pH 6,8), e incubados em BOD a 29 ± 1 °C por sete dias. Foi utilizado o meio BD (Batata 20%, dextrose 2% e água destilada; pH 6,4). Os isolados foram transferidos, através de discos de aproximadamente 4-5 mm de diâmetro contendo massa do fungo para frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 100 mL com os meios BD na ausência (controle) e presença de L-triptofano. O

experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições.

As avaliações foram feitas com 48, 96, 144 e 192 horas após a inoculação dos isolados de *Pochonia* spp. sendo cultivados em mesa agitadora com movimentação orbital (Novatécnica®, 100 rpm a 26 ± 2 °C). Posteriormente a biomassa celular do fungo foi separada por centrifugação (Excelsa®4 modelo 280R, 12.000 rpm por 15 min.). Para a análise colorimétrica de AIA foram utilizados uma parte do reagente de Salkowski [FeCl_3 0,5 mol L⁻¹ + HClO₄ (35%)] e duas partes do sobrenadante obtido de cada isolado (GORDON; WEBER, 1951).

Após a comprovação qualitativa da presença de AIA (coloração rosa após 25 minutos de reação à temperatura de 26 ± 2 °C no escuro), o fitormônio foi quantificado em espectrofotômetro em 530 nm. As concentrações, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, foram calculadas a partir de uma curva padrão com concentrações conhecidas da forma sintética do hormônio (0 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), cujas leituras foram a base para calcular a concentração de AIA nas amostras (Cattelan, 1999).

1.4. Experimento em casa de vegetação.

Os experimentos foram conduzidos na Estação Experimental da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi. Localizado a 11° 43'45" S e 49° 04' 07" W a 278 m de altitude, no período de junho a setembro de 2016.

O solo (camada 0-20 cm) da área do experimento foi coletado e encaminhado para o Laboratório de Solos da UFT para análise química e física do solo. O solo da área experimental foi classificado como um Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico típico (Embrapa, 2009) com as seguintes características químicas: Ca+Mg 1,11 cmol/dm³; Ca 0,63 cmol/dm³; Mg 0,48 cmol/dm³; Al 0,40 cmol/dm³; H+Al 2,71 cmol/dm³; K 0,04 cmol/dm³; CTC (T) 3,85 cmol/dm³; SB 1,15 cmol/dm³; K 14,45 mg/dm³ (ppm); P (Mel) 0,29 mg/dm³ (PP); V 29,77%; M 25,86%; matéria orgânica 2,04 % 20,37 g/dm³; pH CaCl₂ 5,58; pH H₂O 5,73.

O experimento foi realizado com a inoculação de cinco isolados de *Pochonia* spp. (UFT-P01, UFTP-02 UFT-P03, UFTP-04 e UFT-P05) em soja (*Glycine max* L.) cultivar M8210 IPRO que apresenta as seguintes características fenotípicas: porte semi-ereto, hábito de crescimento determinado, altura média de 72 cm, flores de cor branca, cor do hilo preta, grupo de maturidade 8.2. É uma variedade amplamente adaptada, com elevado potencial produtivo e podendo ser utilizado como 2ª safra, devido a sua precocidade.

As sementes foram previamente tratadas no Laboratório de Microbiologia da UFT – *Campus* Gurupi - TO. Os fungicidas e inseticidas (em g i.a./100 kg de sementes) + 2% de água foram adicionados sobre as sementes, agitando até a completa cobertura das mesmas de acordo com a recomendação para a cultura, sendo utilizado um fungicida da classe sistêmico e de contato e um inseticida de contato e ingestão do grupo pirazol. Posteriormente, foi adicionada a dosagem de 100 mL para cada 50 kg de sementes do inoculante comercial líquido de *Bradyrhizobium japonicum* (estirpes SEMEA 5079 e SEMEA 5080) com concentração mínima de 6×10^9 UFC mL¹.

Para a instalação dos experimentos foram utilizados vasos com capacidade de 1,7 L, preenchidos com solo peneirado (peneira de 4 mm de malha). Foi realizada a adubação de base conforme recomendação para cultura e análise química do solo. Foi utilizado o Inoculante a base de *Pochonia* spp. O produto foi formulado no Laboratório de Microbiologia da UFT *Campus* Gurupi. Para preparo do inóculo foi utilizado arroz que foi previamente pesado e acrescido água destilada e, posteriormente transferida para sacos de polipropileno (300g de arroz/saco com 300 mL de água destilada) e auto clavados a 121 °C por 1 hora. Em seguida para a produção do inoculante das cepas de *Pochonia* spp. inicialmente os discos (6 mm de diâmetro, 6 unidades) dos isolados do gênero *Pochonia* spp. previamente cultivados (28 °C) em ágar BDA (batata 20%, dextrose 2% e ágar 1,5%; água destilada; pH 6,8) foram adicionados e inoculados em arroz com auxílio de pinça esterilizada através da abertura do saco de polipropileno em câmara de fluxo laminar.

Depois de inoculados os micélios, os sacos foram incubados em câmara tipo B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) com temperatura e luz controlada, sendo a temperatura de 25 °C no escuro por 21 dias. A cada dois dias, o substrato contendo arroz era revolvido, para facilitar a troca gasosa e a quebra dos agregados miceliais para o aumento da esporulação.

Posteriormente a esses 21 dias de incubação, o substrato com arroz foi então pesado em uma proporção de 30 g por vaso de 1,7 L em seguida inoculado ao solo, este ficou por sete dias submetido a irrigação para colonização no solo antecedendo a semeadura.

Nos experimentos foram semeadas quatro sementes por vaso e aos doze dias após o plantio (DAP) foi realizado o desbaste deixando duas plantas por vaso. A irrigação foi feita com o auxílio de um copo graduado, mantendo a capacidade de campo. Para a adubação utilizou-se o formulado 5-25-15 na proporção de 520 Kg/ha, equivalente a 2 g por vaso.

Foram feitas duas avaliações no experimento, sendo a primeira feita aos 45 dias após a emergência (DAE) e a segunda aos 56 DAE quando as plantas apresentavam floração plena.

Foram avaliados altura de planta (AP). Posteriormente, separou-se o sistema radicular da parte aérea das plantas e as raízes foram lavadas em água corrente para remoção do solo aderido. Em seguida, o material foi colocado para secagem em estufa com aeração forçada a 65 °C por 72 horas até atingir massa constante. Em seguida o material foi pesado em balança analítica de precisão (0,001 g) para obter a massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST).

Com os dados de biomassa determinou a eficiência relativa de cada tratamento em relação a testemunha sem inoculação, calculada segundo a fórmula: $ER = (MSPA \text{ inoculada com os isolados} / MSPA \text{ sem inoculante}) \times 100$.

1.5. Análise Estatística

Após verificação dos pressupostos os dados foram submetidos à análise de variância teste F e ao teste de agrupamento de médias Duncan a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA, 2008).

RESULTADOS

1.6. Solubilização de fosfato

Todos os isolados apresentaram capacidade de solubilizar fósforo, através do método de solubilização de fosfato de cálcio *in vitro* realizado em laboratório, mesmo em pequenas quantidades todos os isolados acidificaram o meio (Tabela 2). As leituras de fósforo variaram de 3,48 a 13,42 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 1. Médias de concentração de fosfato solubilizado ($\mu\text{g mL}^{-1}$) em meio NBRIP (modificado) por isolados de *Pochonia* spp., em diferentes intervalos de tempo (dias)¹

Isolados	Época de avaliação (horas após repicagem)				pH
	48 h	96 h	144 h	192 h	
UFT-P01	4,15 bc	5,39 b	5,90 c	3,64 c	5,4 b
UFT-P02	10,82 a	12,44 a	12,53 a	13,42 a	4,9 a
UFT-P03	4,26 bc	5,77 b	3,93 d	3,48 c	5,5 b
UFT-P04	6,29 b	6,30 b	9,07 b	10,39 b	4,8 a
UFT-P05	5,42 b	3,98 c	4,06 d	4,66 c	5,4 b
Controle	0,28 d	0,40 d	0,39 e	0,41 d	5,9 c
C.V.(%) ²	8,5	12,1	11,7	12,0	

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% significância.

² Coeficiente de Variação. ³ pH do meio após oito dias de crescimento.

Na primeira avaliação com 48 h o isolado UFT-P02 foi superior, apresentando 10,82 $\mu\text{g mL}^{-1}$, seguido dos demais isolados que tiveram variações de 4,14 $\mu\text{g mL}^{-1}$ à 6,29 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para avaliação de 96 h, os isolados UFT-P02 foi superior aos demais (12,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$), seguidos dos isolados UFT-P01, UFT-P03 e UFT-P04, com 5,39, 5,77 e 6,30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente (Tabela 1).

Nas últimas avaliações (144 h e 192 h), os melhores isolados na média geral foram os isolados UFT-P02 e UFT-P04, 12,53 e 9,07 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 144 h, e 13,42 e 10,39 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 192 h, respectivamente. Em uma média geral, observa-se que os isolados UFT-P02 e UFT-P04 foram os melhores para a solubilização de fosfato em todas as avaliações.

1.7. Produção de ácido indol-acético (AIA)

Todos os isolados apresentaram capacidade de sintetizar AIA, mesmo em pequenas quantidades, tanto na presença quanto na ausência de L-triptofano (Tabela 2). Na ausência do indutor, a síntese de AIA variou de 0,77 a 7,45 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 2. Produção de AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$) por isolados de *Pochonia* em meio BD na ausência (AT) e presença (PT) de L-triptofano.¹

Isolados	Época de avaliação (horas após repicagem)					
	48 horas			96 horas		
	AT	PT	Média	AT	PT	Média
Controle	0,60 cA	0,72 bcA	0,66 c	0,71 bcA	0,77 cA	0,74 c
UFT-P01	0,77 bcB	0,99 bA	0,88 b	0,63 cB	0,94 cA	0,79 c
UFT-P02	0,90 bA	0,94 bA	0,92 b	0,83 bA	0,88 cA	0,86 c
UFT-P03	0,80 bA	0,96 bA	0,88 b	0,71 bcA	0,91 cA	0,81 c
UFT-P04	5,65 aA	6,45 aA	6,05 a	5,09 aB	8,01 aA	6,55 a
UFT-P05	0,84 bA	1,04 bA	0,94 b	0,80 bB	1,43 bA	1,12 b
Média	1,59 B	1,85 A	-	1,46 B	2,16 A	-
C.V.(%)²	7,6	7,6	7,6	8,8	8,8	8,8
Isolados	144 horas			192 horas		
	AT	PT	Média	AT	PT	Média
	AT	PT	Média	AT	PT	Média
Controle	0,51 bB	0,70 bcA	0,61 bc	0,71 cA	0,75 cA	0,73 c
UFT-P01	0,41 bcA	0,51 cA	0,46 c	0,45 dB	0,71 cA	0,58 c
UFT-P02	0,59 bA	0,67 bcA	0,63 bc	1,10 bA	1,51 bA	1,31 a
UFT-P03	0,63 bA	0,88 bA	0,76 b	0,68 cB	1,44 bA	1,06 ab
UFT-P04	5,66 aB	9,44 aA	7,55 a	7,45 aB	12,30 aA	9,88 a
UFT-P05	0,59 bB	1,00 bA	0,80 b	0,77 cB	1,34 bA	1,06 ab
Média	1,40 B	2,2 A	-	2,18 B	3,01 A	-
C.V.(%)²	8,1	8,1	8,1	8,6	8,6	8,6

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de significância. ² Coeficiente de Variação.

Nas primeiras 48 e 96 h de incubação observou-se melhores resultados com os isolados UFT-P04 (5,65 e 5,09 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e UFT-P02 (0,9 e 0,83 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Na avaliação de 144 e 196 h, o isolado UFT-P04 manteve-se com os melhores resultados, aumentando a produção para 5,66 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 144 h e mantendo o valor em 196 h (7,45 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Tabela 2).

Na presença de L-triptofano observa-se aumento na síntese de ácido indol acético, variando de 0,94 a 6,45 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em 48 h de incubação, o melhor resultado foi observado com o isolado UFT-P04 (6,45 $\mu\text{g mL}^{-1}$), seguidos dos isolados UFT-P05, UFT-P01 e UFT-P03 e UFT-P02, obtendo-se 1,04, 0,99, 0,96 e 0,94 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Os melhores resultados observam-se com os isolados UFT-P04 e UFT-P05, obtendo valores respectivos de 8,01 e 1,43 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 96 h; 9,44 e 1,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 144 h; e 12,30 e 1,34 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 192 h de incubação (Tabela 2).

Em uma média geral, observa-se que o isolado UFT-P04 foi o melhor para produção de AIA nas primeiras horas de incubação, 6,05, 6,55 e 7,55 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 48, 96 e 144 h, respectivamente. Já com 192 h de incubação, na média os melhores isolados na média geral foram UFT-P04 e UFT-P02, com 9,88 e 1,31 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Ainda é importante ressaltar que os isolados apresentaram resultados mais satisfatórios que os obtidos com o controle, tanto na presença quanto na ausência de L-triptofano (Tabela 2).

1.8. Seleção dos isolados em casa de vegetação.

No experimento em casa de vegetação, foi avaliada a promoção de crescimento da cultura da soja em vasos com estirpes de *Pochonia* ssp., em que alguns isolados mostraram-se com maior capacidade de promover o crescimento vegetal e incremento da massa seca da cultura segundo as avaliações realizadas (Tabelas 3).

Tabela 3. Valores médios de altura de planta, massa seca da parte aérea em gramas (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) de soja (M8210 IPRO) inoculado com isolados de *Pochonia* em casa de vegetação, Gurupi -TO.

Isolados	Altura (cm)	MSPA (g/vaso)	MSR (g/vaso)	MST (g/vaso)
45 DAE				
UFTP01	19,0 ab	1,67 a	1,24 a	2,91 a
UFTP02	18,0 b	1,61 a	1,17 a	2,78 a
UFTP03	15,3 c	1,71 a	1,10 a	2,81 a
UFTP04	20,3 a	1,63 a	1,19 a	2,82 a
UFTP05	19,0 ab	1,94 a	1,20 a	3,14 a
Controle	10,7 d	1,46 a	0,93 a	2,39 a
CV (%)	6,8	18,3	24,4	14,5
56 DAE				
UFTP01	27,3 a	2,29 b	3,26 a	5,55 a
UFTP02	26,3 a	2,78 ab	3,20 a	5,98 a
UFTP03	26,7 a	3,72 a	3,41 a	7,13 a
UFTP04	26,3 a	2,97 ab	3,47 a	6,44 a
UFTP05	26,3 a	3,76 a	3,92 a	7,68 a
Controle	17,0 b	2,13 b	3,14 a	5,27 a
CV (%)	7,8	24,9	33,0	26,6

¹ Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Na primeira avaliação aos 45 DAE, para o parâmetro altura todos os tratamentos em que foram inoculados os isolados de *Pochonia* ssp. promoveram ($P < 0,05$) aumento da altura das plantas de soja em relação às testemunhas (Tabela 3). Os isolados com maiores valores significantes foram: UFTP-04 com maior valor (20,3 cm), os isolados UFT-P01 e UFT-P05 que não diferiram estatisticamente do primeiro com (19,0 cm), a testemunha, sem inoculação do fungo, obteve altura de (10,7 cm). Com esses valores o incremento obtido pelos isolados de *Pochonia* ssp. foi de aproximadamente 90% acima na comparação do isolado UFT-P04 com a testemunha (Tabela 3).

Para as demais características: massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz

(MSR) e massa seca total (MST) não houve variação entre os tratamentos (Tabela 3).

Para a segunda avaliação aos 56 DAE, para o parâmetro altura, todos os tratamentos inoculados com *Pochonia* ssp. apresentaram diferença estatística da testemunha, porém dentre os tratamentos inoculados com *Pochonia* ssp. não houve diferença estatística (Tabela 3).

Para o parâmetro MSPA houve diferença entre alguns isolados em relação à testemunha, com as estirpes UFTP-05 e UFTP-03 com os maiores valores (3,76 e 3,72 g/vaso respectivamente). Para MSR e MST os tratamentos não apresentaram diferença ($p < 0,05$) significativa em relação à testemunha (Tabela 3).

Com relação à eficiência relativa dos tratamentos aos 45 DAE, todos os isolados apresentaram uma eficiência relativa superior à testemunha (Figura 1), com destaque para o isolado UFTP-05 que apresentou (ER) superior a 30%.

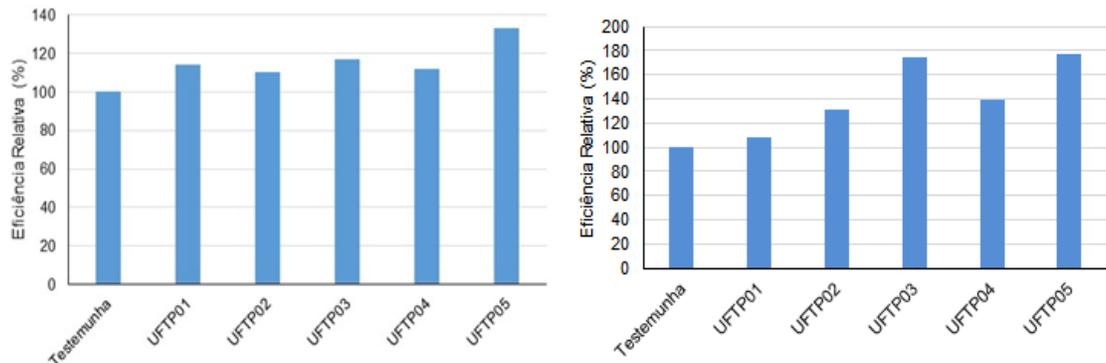


Figura 1. Eficiência relativa de plantas de soja (M8210 IPRO) aos 45 e 56 DAE, esquerda e direita, respectivamente, inoculados com isolados de *Pochonia* ssp. em relação à testemunha sem inoculação, em Gurupi – TO.

Os resultados na segunda avaliação 56 DAE mostraram que todos os isolados tiveram um incremento da eficiência relativa (Figura 1), além disso, todos os tratamentos com inoculação de *Pochonia* foram superiores à testemunha, com destaque para os isolados UFTP05 e UFTP03 que tiveram os maiores valores (77% e 75%).

DISCUSSÕES

Os isolados de *Pochonia* apresentaram capacidade para a solubilização de fosfato Tabela 1. Em um estudo de solubilização por microrganismos, tanto fungos quanto bactérias, isolados da

rizosfera de feijão-guandu (*Cajanus cajan* L. Millsp.) foi observado que a maioria dos fungos baixou o pH do meio de 6,5 para valores entre 2,0 e 4,0, enquanto que, para as bactérias, a variação foi de 4,0 e 6,5. Isso fez com que maiores médias de fosfato solubilizado fossem observadas com fungos (122 mg L⁻¹) do que com bactérias (15 mg L⁻¹). Além disso, os autores afirmam que o teor de fosfato solubilizado depende do tipo de espécie e do tipo de solo em que foram isolados (SOUCHIE; ABOUD, 2007). No presente trabalho também pode ser observado nos isolados de *Pochonia* onde ocorreu uma diminuição do pH maior nos isolados com maior capacidade de solubilizar fosfato (Tabela 1).

Os genes presente em diversas espécies de *Pochonia* estão relacionados ao seu comportamento endofítico, compreendendo também a produção de enzimas hidrolíticas, transportadoras, proteases, quitinases e uma grande quantidade de metabolitos secundários, auxiliando na solubilização de fosfato e produção de AIA (LARRIBA et al., 2014). Nessa interação entre a planta e microrganismo, o fungo pode aumentar a tolerância da cultura aos estresses bióticos e abióticos, além de promover o crescimento das plantas (ESCUDEIRO; LOPEZ-LLORCA, 2012; MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013).

Quanto à capacidade de sintetizar AIA, todos os isolados em estudos apresentaram resultados, porém sendo maior na presença de L-triptofano adicionado ao meio de cultura (Tabela 2). Segundo PATTEN; GLICK (1996), um microrganismo possui diversas rotas para a síntese de AIA, e pode escolher uma delas de acordo com o ambiente. Diferentes variedades de bactérias possuem capacidade de produção desta auxina, por mais de uma rota, sendo a maioria delas com a utilização de triptofano (GOSWAMI; THAKKER; DHANDHUKIA, 2015). Desse modo, esse precursor tem sido adicionado aos meios de cultura com o intuito de promover aumento da síntese (ZAKHAROVA et al., 1999).

OLIVEIRA et al. (2012) em estudo do potencial de produção de ácido indol acético (AIA) por isolados de *Trichoderma* spp. tanto na presença quanto na ausência de L-triptofano, observaram resultados significativamente maiores com a utilização de L-triptofano, alcançando valores de 19,9 µg mL⁻¹ no sexto dia de avaliação. Mas os autores observaram que na ausência do indutor os isolados também foram capazes de produzir AIA. Resultados semelhantes foram observados no estudo de KUSS et al. (2007) com microrganismos associados a raízes de arroz sem a utilização do indutor triptofano, em que houve produção de AIA por todos os isolados, com variação entre 2,79 e 13,47 µg mL⁻¹.

Os microrganismos podem estimular o crescimento das plantas diretamente, por meio da produção de hormônios vegetais, solubilização do fósforo, aceleração do processo de mineralização e síntese de sideróforos; bem como indiretamente, através da indução de resistência sistêmica, produção de antibióticos e antagonismo em relação aos agentes patogênicos (HAYAT et al., 2010). Segundo Monfort et al. (2005) a *Pochonia* pode causar o crescimento de mudas de trigo através da produção de AIA e solubilização de fosfato associados à atividade da peroxidase.

Quanto à seleção dos isolados em casa de vegetação, a promoção de crescimento em plantas está ligada diretamente com a rizosfera que é a zona de contato entre solo e raízes. Os fungos têm a capacidade de solubilizar fosfato e de produzir metabólitos diretamente relacionados ao crescimento da planta e também, sintetizar metabólitos secundários reduzindo as atividades de patógenos (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013; LARRIBA et al., 2014; HAYAT et al., 2010). Tal fato é observado nas diversas características agrônômicas avaliadas, como altura de plantas e massa seca da parte aérea (Tabela 3).

A eficiência relativa dos isolados encontrada nos experimentos (Figura 1) pode ser explicada devido às interações entre o crescimento da planta promovidos por fungos, além de indução de resistência sistêmica à doença (KHAN et al., 2006).

CONCLUSÕES

Os isolados de *Pochonia* apresentam capacidade de solubilização de fosfato, com índice médio de concentração de fosfato solubilizado de $13,42 \mu\text{g mL}^{-1}$ (UFT-P02).

Em relação à produção de ácido indol acético, os melhores resultados foram obtidos na presença do indutor L-triptofano, e os melhores isolados observados foram UFT-P04 e UFT-P02.

No experimento em casa de vegetação, se destacaram as estirpes UFT-P01, UFT-P04 e UFT-P05 para o parâmetro altura na avaliação de 46 DAE. Aos 50 DAE observou-se que os isolados UFT-P02, UFT-P03, UFT-P04 e UFT-P05 apresentaram os melhores resultados em relação à massa seca da parte aérea (MSPA). Além disso, estirpes UFT-P03 e UFT-P05 foram as que apresentaram melhor eficiência relativa dos isolados (ER).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CATTELAN, A. J. Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal. **Londrina: Embrapa Soja**. (Embrapa Soja. Documentos, 139), v.4, n.3, p.1-36, 1999. COMPANIONI, N.; OJEDA, Y.; PÁEZ, E, MURPHY, C. La Agricultura Urbana en Cuba. FUNEZ, F; GARCÍA, L; BOURQUE, M; PÉREZ, N; ROSSET, P; editores. **La Habana (Cuba): ACTAF**; 2011.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; SANTANA, S. M.; FREITAS, L. G.; CUNHA, T. P. L.; BIELA, F.; PUERARI, H. H.; CHIAMOLERA, F. M. Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food: Agriculture and Environment**, v.9, n.2, p. 561–563, 2011.
- ESCUADERO, N.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Effects on plant growth and root-knot nematode infection of an endophytic GFP transformant of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Symbiosis**, v. 57, n. 1, p. 33-42, 2012.
- GASPARD, J. T.; FERRIS, B. A.; JAFFEE, H. Association of *Verticillium chlamydosporium* and *Paecilomyces lilacinus* with root-knot nematode infested soil. **Journal of Nematology**, v.22, n.2, p. 207-213, 1990.
- GONÇALVES R. C.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Armazenamento de microrganismos em cultura com ênfase em fungos fitopatogênicos. **Métodos em fitopatologia**, p. 91-102, 2007.
- GORDON, S. A.; WEBER, R. P. Colorimetric estimation of indole acetic acid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 26, n. 1, p. 192-195, 1951.
- GOSWAMI, D.; THAKKER, J. N.; DHANDHUKIA, P. C. Simultaneous detection and quantification of indole-3-acetic acid (IAA) and indole-3-butyric acid (IBA) produced by rhizobacteria from l-tryptophan (Trp) using HPTLC. **Journal of Microbiological Methods**, v. 110, n. 24, p. 7–14, 2015.
- HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 579-598, 2010.
- KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A.; Natural control of the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae* woll., by soil fungi at three sites. **Crop Protection**, v.1, n.1, p.99–109, 1982. KHAN, A. L.; HUSSAIN, J.; AL-HARRASI, A.; AL-RAWAHI, A.; LEE, I. J. Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. *Critical reviews in biotechnology*, v.35, n.1, p. 62-74, 2015.
- KOZYROVSKA, N. O. Crosstalk between endophytes and a plant host within information-processing networks. **Biopolymers and cell**, v.29, n.3, p. 234-243, 2013.
- KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; LOVATO, T.; FLÔRES, L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido

indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n.10, p.1459-1465, 2007.

LARRIBA, E.; JAIME, M. D.; CARBONELL-CABALLERO, J.; CONESA, A.; DOPAZO, J.; NISLOW, C.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Sequencing and functional analysis of the genome of a nematode egg-parasitic fungus, *Pochonia chlamydosporia*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 65, n.2, p. 69-80, 2014.

MACIA-VICENTE, J. G.; ROSSO, L. C.; CIANCIO, A.; JANSSON, H. B.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: effects on plant growth and disease. **Annals of Applied Biology**, v.155, n.4, p.391–401, 2009.

MANZANILLA-LÓPEZ, R. H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M. M.; HIRSCH, P. R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 45, n. 1, p. 1-7, 2013.

DE SOUZA, L. A. BORGES, FILHO, G. N. SILVA e DE OLIVERIA V. L.. Eficiência de fungos ectomicorrízicos na absorção de fósforo e na promoção do crescimento de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 39.4 (2004): 349-355.

MURPHY, J. & RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Anal. Chim. Acta**, 27:31-36, 1962.

MONFORT, E.; LOPEZ-LLORCA, L. V.; JANSSON, H. B.; SALINAS, J.; PARK, J. O.; SIVASITHAMPARAM, K. Colonisation of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. tritici and development of root-rot. **Soil Biology Biochemistry**, v.37, n.1, p.1229–1235, 2005.

MUTHULAKSHMI, M.; KUMAR, S.; SUBRAMANIAN, S.; ANITA, B. Compatibility of *Pochonia chlamydosporia* with other biocontrol agents and Carbofuran. **Journal of Biopesticides**, v.5, n.2, p.243–245, 2012.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiol Lett**, v.170, n.11, p. 265-270, 1999.

OLIVEIRA, A. G. DE.; JUNIOR, A. F. C.; SANTOS, G. R. DOS.; MILLER, L. O.; CHAGAS, L. F. B. Potential phosphate solubilization and AIA production of *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 149–155, 2012.

PATTEN, C.; GLICK, B. R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 207-220, 1996.

RODRÍGUEZ A. La Agricultura Urbana en Cuba. Impactos económicos, sociales y productivos. **Revist Bimestre Cubana**, v.95, n.20, p.115-137, 2004.

ROSSI, M. J.; SOUZA, J. A. R.; OLIVEIRA, V. L. Inoculum production of the ectomycorrhizal

fungus *Pisolithus microcarpus* in an airlift bioreactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.59, n.7, p.175-181, 2002.

ROSSO, L. C.; COLAGIERO, M.; SALATINO, N.; CIANCIO, A. Observations on the effect of trophic conditions on *Pochonia chlamydosporia* gene expression. **Annals of Applied Biology**, v.164, n.23, p.232-243, 2014.

SILVA, A. B.; LANDGRAF, P. R. C. Inoculação de bactérias produtoras de ácido 3-indol acético em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista colombiana de ciencias hortícolas**, v. 11, n. 1, p. 89-96, 2017.

SILVA, F. A. S. ASSISTAT-Assistência Estatística-versão 7.7 beta (pt). **Programa computacional**. Universidade Federal de Campina Grande Campus de Campina Grande-PB-DEAG/CTRN, 2014.

SOUCHIE, E. L.; ABOUD, A. C. D. S. Solubilização de fosfato por microrganismos rizosféricos de genótipos de Guandu cultivados em diferentes classes de solo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 11-18, 2007.

VERDEJO-LUCAS, S.; SORRIBAS, F. J.; ORNAT, C.; GALEANO, M. Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a double-cropping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *Meloidogyne javanica*. **Plant Pathology**, v.52, n.8, p.521-528, 2003.

ZAKHAROVA, E. A.; SHCHERBAKOV, A. A.; BRUDNIK, V. V.; SKRIPKO, N. G.; BULKHIN, N. S.; IGNATOV, V. V. Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*: insights from quantum chemistry. **European Journal of Biochemistry**, v. 259, p. 572-576, 1999.

ZARE, R.; GAMS, W.; EVANS, C. H. A revision of *Verticillium* section Postrata. V. the genus *Pochonia* with notes on *Rotiferophthora*. **Nova Hedwigia**, v.73, n.13, p.51-86, 2001.

ZAVALA-GONZÁLEZ, E. A.; ESCUDERO, N.; LOPEZ-MOYA, F.; ARANDA-MARTINEZ, A.; EXPOSITO, A.; RICAÑO-RODRIGUEZ, J.; NARANJO-ORTIZ, M. A.; RAMIREZ-LEPE, M.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time in tomato. **Annals of Applied Biology**, v.166, n.27, p.472-483, 2015.

CAPÍTULO 2

PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM LEGUMINOSAS (SOJA E FEIJÃO-CAUPI) POR
ISOLADO DE *Pochonia* ssp. EM CAMPO

RESUMO

PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM LEGUMINOSAS (SOJA E FEIJÃO-CAUPI) POR ISOLADO DE *Pochonia* ssp. EM CAMPO

O feijão-caupi é uma cultura de grande importância alimentar; no entanto, possui baixa produtividade devido ao baixo nível tecnológico. A cultura da soja possui grande importância socioeconômica e alimentar. Para se alcançar melhores produtividades, diversos estudos relacionados com a seleção de microrganismos têm sido realizados. Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito das doses da cepa de *Pochonia* sp., através da eficiência agrônômica para serem utilizadas como inoculantes para a cultura do feijão-caupi e soja. Em experimento de campo foram avaliados tratamentos constituídos por cinco doses de inoculante a base de *Pochonia* (0, 1, 2, 3 e 4 kg de inoculante de *Pochonia* para cada 50 kg de sementes), sendo a cultivar Sempre Verde BRS Rouxinol e da soja utilizada M8615 IPRO. Para o feijão-caupi, foram realizadas duas avaliações de biomassa, aos 30 e 53 (DAE), e uma semana após ter apresentado 95% das vagens maduras para avaliação das características agrônômicas e produtividade. Para o experimento com feijão-caupi, observou-se em ambas avaliações que as doses proporcionaram incremento da massa seca das plantas de feijão-caupi quando comparadas com a testemunha. A melhor dose foi de 3 kg para cada 50 kg de semente, a qual favoreceu uma maior produtividade de grãos (1083,7 kg ha⁻¹). Para o experimento com soja, os resultados mostraram que as diferentes dosagens de inoculante foram eficientes, sendo que a melhor dose foi de 3 kg para cada 50 kg de semente, a qual favoreceu uma maior produtividade de grãos (4115,7 kg ha⁻¹). Assim, esse estudo mostra que *Pochonia* sp. tem potencial de utilização como biofertilizantes potenciais no crescimento e incorporação de biomassa em plantas de feijão-caupi e soja, além de favorecer a produtividade.

Palavras-chave: Fungo, promotor de crescimento, *Glycine max*, *Vigna unguiculata*.

ABSTRACT

PROMOTION OF GROWTH IN LEGUMES (SOY AND BEAN-CAUPI) BY ISOLATE OF *Pochonia* ssp. IN FIELD

Cowpea is a very important food crop; however, it has low productivity due to the low level of technology. Soybean cultivation has great socioeconomic and food importance. In order to achieve better productivity, several studies related to the selection of microorganisms have been accomplished. Thus, the present work aimed to evaluate the effect of the doses of the *Pochonia* sp. Strain through the agronomic efficiency to be used as inoculants for the bean and cowpea culture in the region. In a field experiment, treatments consisted of five doses of *Pochonia* inoculant (0, 1, 2, 3 and 4 kg of *Pochonia* inoculant per 50 kg of seeds), being the cultivar Semper Verde BRS Rouxinol and soybean used M8615 IPRO. For cowpea, two biomass evaluations were performed at 30 and 53 (DAE), and one week after presenting 95% of the mature pods to evaluate the agronomic characteristics and productivity. For the cowpea experiment, it was observed in both evaluations that the doses provided an increase in the dry mass of the cowpea plants when compared to the control. The best dose was 3 kg for each 50 kg of seed, which favored a higher grain yield (1083,7 kg ha⁻¹). For the field experiment with soybean, the results showed that the different dosages of inoculant were efficient, and the best dose was 3 kg for each 50 kg of seed, which favored a higher grain yield (4115,7 kg ha⁻¹). Thus, this study shows that *Pochonia* sp. has the potential to be used as biofertilizer being potentials in the growth and incorporation of biomass in bean and cowpea plants, besides favoring productivity.

Keywords: fungos, growth promoter, *Glycine max*, *Vigna unguiculata*.

INTRODUÇÃO

O feijão-de-corda, feijão-caupi ou feijão-macassar (*Vigna unguiculata* L. Walp.) abrange uma área de aproximadamente 713,4 mil hectares atualmente no Brasil (CONAB, 2017). É uma cultura de suma importância na região norte e nordeste. Além de ser uma das principais culturas cultivadas pelos pequenos agricultores (AMARA et al., 2013).

A soja (*Glycine max* L.) é uma das culturas de grande importância socioeconômica, se destacando como uma das principais culturas agrícolas do país. Além de estar entre os principais produtos de exportação, tem sido um grande destaque no âmbito nacional e internacional (MAPA, 2017).

O uso de produtos à base de microrganismos como promotores de crescimento vem crescendo e despertando muito interesse entre os agricultores. Mendes (2012) alerta sobre a importância desses microrganismos presentes no solo, por serem fundamentais para o processo de ciclagem de nutrientes, além de reguladores desse processo.

Muitos microrganismos endofíticos diversificados participam da imunidade da planta, auxiliando sua sobrevivência, aptidão em defesa e nutrição (KOZYROVSKA, 2013).

O fungo *Pochonia* vem se destacando por apresentar um potencial como agente de controle biológico e também por produzir clamidósporos, estruturas de resistência que favorecem o estabelecimento e a sobrevivência do fungo no solo (VERDEJO-LUCAS et al., 2003), são fungos capazes de colonizar a rizosfera conseguem parasitar os ovos de nematóides a ponto de limitar sua reprodução (DIAS-ARIEIRA et al., 2011).

A colonização rizosférica muda em função do isolado fúngico e da espécie da planta hospedeira (BOURNE et al., 1994; BOURNE et al., 1996). Possivelmente, essa colonização dentro das raízes das plantas por *Pochonia* podem favorecer as plantas, já que alguns isolados de *Pochonia* sp. já foram relatados como promotores de crescimento de raízes de tomate e de trigo (HIDALGO-DIAZ et al., 2000; MONFORT et al., 2005). Com isso, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito das doses de *Pochonia* sp. sobre as características agrônômicas do feijão-caupi e da soja em condições de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

1.9. Experimento 1 – Doses de *Pochonia ssp.* em campo com soja

O estudo foi conduzido em casa de vegetação na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* Gurupi, localizado na região sul do Estado do Tocantins (11°48'29" S, 48°56'39" W, 280 m altitude), onde o clima predominante é do tipo Aw, definido como equatorial e inverno seco (KÖPPEN, 1948) e o clima regional é do tipo B1WA 'a' úmido com moderada deficiência hídrica.

O solo da área experimental foi classificado como um Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico típico (Embrapa, 2009), com as seguintes características químicas: Ca+Mg 2,91 cmol/dm³; Ca 2,20 cmol/dm³; Mg 0,71 cmol/dm³; Al 0,20 cmol/dm³; H+Al 1,07 cmol/dm³; K 0,05 cmol/dm³; CTC (T) 4,03 cmol/dm³; SB 2,96 cmol/dm³; K 18,83 mg/dm³ (ppm); P (Mel) 0,74 mg/dm³ (PP); V 73,39 %; M 6,33 %; Mat. Org. 2,7 % 29,75 g/dm³; pH em CaCl₂ 5,18, pH em H₂O 5,87.

A cultivar de soja utilizada foi a M8615 IPRO que apresenta ciclo médio de 117 dias. No experimento foram utilizados o inoculante líquido a base de *Pochonia chlamydosporia var. chlamydosporia*. O produto foi formulado na JCO Fertilizantes (Barreiras, BA) com estirpes de *Pochonia ssp* (UFTP03, Braq III) isolados de solos de cerrado no Tocantins. Foi adicionada a dosagem de 1 kg para cada 50 Kg de sementes do Inoculante a base de *Pochonia ssp*. Que segundo a empresa fornecedora tem garantia de concentração mínima de 1×10^8 UFC mL⁻¹, e foi aplicado direto nas sementes, sendo recomendado a aplicação meia hora antes do plantio.

Foram realizadas as adubações de base (N-P-K+S+Ca+Micro) conforme recomendação para cultura e análise do solo no qual foi aplicado 4 kg ha⁻¹ da formulação 05-25-15 + 30 kg de Br12. A adubação foi realizada manualmente nas linhas de plantio um dia antes do plantio.

O preparo da área foi utilizando o método convencional de plantio, empregando uma gradagem e duas operações de nivelamento para melhor uniformização da área. Na sulcagem foi admitido um sulco de 10 cm.

As parcelas experimentais foram compostas por quatro linhas de 5,0 metros (m) de comprimento, com espaçamento de 0,5 m. Na colheita, foram desprezadas as duas linhas laterais e 0,5 m das extremidades das duas linhas centrais. O espaçamento adotado entre blocos foi de 1 m.

Inicialmente, foi adicionada a dosagem de 100ml para cada 50 kg de sementes do inoculante comercial líquido de *Bradyrhizobium japonicum* (estirpes SEMEA 5079 e SEMEA 5080) com concentração de mínima de 6×10^9 UFC.

Foi realizado uma avaliação das plantas, aos 114 DAP, avaliando altura (AL), quantidade de entre nó (EN), número de vargens (NV), número de grãos (NG) e produtividade. A produção de grão foi obtida da área útil (2m²), colhidas das linhas centrais. Após terem sido secas ao sol até alcançarem a umidade de 13%, foi realizado a debulhada e as sementes pesadas, limpas para determinação da produtividade.

1.10. Experimento 2 – Doses de *Pochonia* ssp. em campo com Feijão-Caupi

O experimento de campo foi conduzido, também na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins, *Campus Gurupi*.

O solo da área experimental foi classificado como um Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico típico (Embrapa, 2009), com as seguintes características químicas: Ca+Mg 2,91 cmol/dm³; Ca 2,20 cmol/dm³; Mg 0,71 cmol/dm³; Al 0,20 cmol/dm³; H+Al 1,07 cmol/dm³; K 0,05 cmol/dm³; CTC (T) 4,03 cmol/dm³; SB 2,96 cmol/dm³; K 18,83 mg/dm³ (ppm); P (Mel) 0,74 mg/dm³ (PP); V 73,39 %; M 6,33 %; Mat. Org. 2,7 % 29,75 g/dm³; pH em CaCl₂ 5,18, pH em H₂O 5,87.

A cultivar de feijão caupi utilizada foi a Sempre Verde BRS Rouxinol. No experimento foram utilizados o inoculante líquido a base de *Pochonia* ssp. O produto foi formulado na JCO Fertilizantes (Barreiras, BA) com estirpes de *Pochonia* ssp (UFTP03 Braq III) isolados de solos de cerrado no Tocantins. Foi adicionada a dosagem de 1 kg para cada 50 Kg de sementes do Inoculante a base de *Pochonia* ssp. que apresentava concentração mínima de 1×10^8 UFC mL⁻¹, e foi aplicado direto nas sementes, meia hora antes do plantio.

Foram realizadas as adubações de base (N-P-K+S+Ca+Micro) conforme recomendação para cultura e análise do solo no qual foi aplicado 4 kg ha⁻¹ da formulação 05-25-15. A adubação foi realizada manualmente nas linhas de plantio um dia antes do plantio.

O preparo da área foi realizado pelo método convencional de plantio, empregando uma gradagem e duas operações de nivelamento para melhor uniformização da área. Na sulcagem foi admitido um sulco de 10 cm.

As parcelas experimentais foram compostas por quatro linhas de 5,0 (m) de comprimento, com espaçamento de 0,45 m. Na colheita, foram desprezadas as duas linhas laterais e 0,5 m das extremidades das duas linhas centrais. O espaçamento adotado entre blocos foi de 1 m.

O controle de plantas daninhas foi realizada com capinas manuais, aos 14 e 44 dias após a semeadura (DAS) e a irrigação foi efetuada por sistema de aspersão convencional fixo, com aspersores espaçados em 12x12 m.

Foi realizada a inoculação da estirpe de rizóbio INPA 03 11B caracterizada como *Bradyrhizobium japonicum*, obtida Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Lavras (Minas Gerais, Brasil), onde foram replicadas em placas de Petri contendo meio de cultura YMA (manitol 1%; K_2HPO_4 0,04%; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,02%; NaCl 0,01%; extrato de levedura 0,4%; ágar 15%; água destilada-10 mL; pH 6,7) (VINCENT, 1970) e incubadas durante quatro dias em estufa bacteriológica (Sterilifer[®]) à 28 ± 1 °C.

Em seguida foram suspensas em solução salina (0,2% $MgSO_4$) e adicionadas com concentração de mínima de 10^9 células mL^{-1} , sendo utilizada 50 mL kg^{-1} de semente com a finalidade de obter-se uma boa nodulação das raízes da planta, garantindo o suprimento de nitrogênio à cultura. Foram realizadas três avaliações, sendo duas primeiras aos 20 e 55 dias após a emergência (DAE), onde o material coletado foi lavado em água corrente e levado para secar em estufa a 60 °C para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA). A terceira avaliação das plantas foi realizada aos 115 DAP, sendo obtida a produção de grão da área útil (2m²), colhidas das linhas centrais. Após terem sido secas ao sol até alcançarem a umidade de 15%, as vargens foram debulhadas e as sementes pesadas e limpas, para determinação da produção de grãos.

Com os dados de biomassa determinou-se a eficiência relativa de cada tratamento em relação a testemunha sem inoculação, calculada segundo a fórmula: $ER = (MSPA \text{ inoculada com os isolados} / MSPA \text{ sem inoculante}) \times 100$.

1.11. Análise Estatística

Foi utilizado o esquema fatorial Delineamentos casualizado e os dados foram submetidos à análise de variância teste F e ao teste de agrupamento de médias Tukey (1953) a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA, 28).

RESULTADOS

1.12. Experimento 1 – Doses de *Pochonia* ssp. em campo com soja

Para as características de altura (AL) todos os tratamentos com inoculação de *Pochonia* ssp. foram superiores ($p < 0,01$) em relação à testemunha sem inoculação (Tabela 2). Para AL as melhores dosagens foram de 3 e 4 kg com plantas de soja com média de 101,15 e 101,1 cm, respectivamente, seguindo das dosagens de 1 e 2 kg que tiveram as maiores médias com 80,7 e 80,90 cm, simultaneamente (Tabela 2).

Tabela 1. Valores médios de altura (AL), Quantidade de entre nó (EN), número de vargens (NV), número de grãos (NG) e produtividade de soja cv. M8615 IPRO aos 105 DAP inoculados com diferentes doses (1, 2, 3 e 4 kg / 50 kg semente) de isolados de *Pochonia* (UFT-P03) cultivado no cerrado em Gurupi -TO. Safra 2016/2017.¹

Tratamentos	AL (cm)	EN	NV	NG	Prod. (kg ha ⁻¹)
1 kg	80,70 b	18,1 ab	136,4 a	301,9 a	3.372,5 b
2 kg	80,90 b	15,9 bc	130,7 a	251,7 ab	3.3441,2 b
3 kg	101,1 a	19,1 a	129,2 a	246,5 ab	4.115,7 a
4 kg	101,15 a	18,7 ab	129,3 a	258,4 ab	3.770,0 ab
Testemunha	76,07 b	14,9 c	110,3 b	204,5 b	2.587,6 c
CV (%) ³	9,01**	7,54**	5,76**	13,10*	6,88**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

² DAE = Dias após a emergência. ³ CV = Coeficiente de variação. *Significativo a 5%. **Significativo a 1%.

Para a característica de EN todas as dosagens foram superiores a da testemunha, destacando-se a de 3 kg, seguido da dosagem de 1 e 4 kg. Quanto ao NV houve diferença significativa entre a testemunha e as demais dosagens, sendo a maior média para a dose de 1 kg. Para o NG o tratamento na dose de 1 kg foi superior ($p < 0,01$) aos demais tratamentos com a inoculação nas doses de 2, 3 e 4 kg (Tabela 2).

Em relação à produtividade os tratamentos com as doses de *Pochonia* foram superiores

($p < 0,01$) em relação à testemunha sem inoculação, variando de 3.372,5 (56,2 sacas ha^{-1}) a 4.115,7 (68,5 sacas ha^{-1}) $kg\ ha^{-1}$, dando destaque para a dose de 3 kg (Tabela 2). As doses de 1 a 2 kg não diferiram estatisticamente.

1.13. Experimento 2 – Doses de *Pochonia* ssp. em campo com Feijão-Caupi.

Na avaliação da MSPA aos 30 DAE na safra 2016/2017, houve diferença significativa para maioria dos tratamentos inoculados em relação à testemunha. As maiores médias ($p < 0,05$) foram encontradas nas doses de 1, 2 e 4 kg/50 kg sementes, sendo de 13,3, 11,8 e 10,8 g, onde se observa que as mesmas não diferiram estatisticamente. Houve diferença entre todas as doses em relação à testemunha (Tabela 1).

Tabela 2. Valores médios de massa seca da parte aérea (MSPA) de feijão-caupi, com diferentes doses (1, 2, 3 e 4 kg / 50 kg semente) de *Pochonia* (UFT-P03) cultivado no cerrado em Gurupi - TO. Safra 2016/2017.¹

Tratamentos	MSPA (g)	MSPA (g)
	30 DAE ²	53 DAE ²
1 kg	13,3 a	26,7 a
2 kg	11,8 a	27,9 a
3 kg	10,5 ab	26,5 a
4 kg	10,8 a	29,7 a
Testemunha	7,37 b	18,3 b
CV (%) ³	9,01**	11,79**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ² DAE = Dias após a emergência. ³ CV = Coeficiente de variação. ⁴ Eficiência na utilização das doses de inoculantes na manutenção do stand. ^{NS} Não significativo. **Significativo a 1%.

Para a MSPA avaliadas aos 53 DAE, todos os tratamentos foram superiores ($p < 0,05$) em relação à testemunha, com maiores médias para a dosagem de 4 kg (29,7 g) (Tabela 2).

Para as características de AL, NV e GV avaliados aos 105 DAE, os tratamentos com diferentes doses, foram superiores ($p < 0,01$) à testemunha sem inoculação (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios de altura (AL), Quantidade de entre nó (EN), número de vargens (NV), número de grãos (NG) e produtividade de feijão caupi var. Sempre Verde aos 105 DAP inoculados com diferentes doses (1, 2, 3 e 4 kg / 50 kg semente) de isolados de *Pochonia* (UFT-St03) cultivado no cerrado em Gurupi -TO. Safra 2016/2017.¹

Tratamentos	AL (cm)	EN	NV	NG	Prod. (kg ha⁻¹)
1 kg	55,0 a	9,50 a	7,50 a	68,2 a	1.060,7 a
2 kg	57,5 a	9,00 a	7,25 a	73,0 a	1.054,8 a
3 kg	58,7 a	10,0 a	7,75 a	68,0 a	1.083,7 a
4 kg	58,5 a	9,50 a	7,25 a	71,0 a	1.037,7 a
Testemunha	45,5 b	8,25 a	4,75 b	54,5 b	737,3 b
CV (%) ³	3,86**	12,72 ^{NS}	12,96**	8,52**	10,83**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

² DAE = Dias após a emergência. ³ CV = Coeficiente de variação. ^{NS} Não significativo. **Significativo a 1%.

Para a característica de AL todas as dosagens foram superiores ($p < 0,01$) quando comparadas a testemunha. As plantas de feijão caupi variaram com média de 55,0 cm (1 kg) à 58,7 cm (3 kg). Para a característica EN não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos com e sem inoculação, destacando-se a maior média para a dosagens de 3 kg (10,0) (Tabela 3).

Quanto ao NV houve diferença significativa quando comparadas à testemunha sem inoculação para todas as dose, com maior média para a dosagem de 4 kg, com 7,75 vargens (Tabela 3).

Para o NG todos os tratamentos demonstraram-se eficazes com relação à testemunha sem inoculação. As maiores médias foram para as doses de 2 e 4 kg, com 73,0 e 71,0 grãos. As doses de 1 e 2 kg também foram superiores ($p < 0,01$) em relação à testemunha sem inoculação (Tabela 3).

Em relação à produtividade os tratamentos com as diferentes doses de *Pochonia* ssp foram superiores ($p < 0,01$) à testemunha sem inoculação. Na média os tratamentos nas doses de 2 e 3 kg manifestaram-se como os melhores médias dos tratamentos, dando destaque à dosagem de 3 kg/50 kg de sementes com maior produção de grãos (1.083,7 Kg ha⁻¹).

Quanto a ER das doses testadas em campo com a cultivar Sempre Verde, tanto aos 30 e

53 DAE, todos os tratamentos foram superiores à testemunha (Figura 1). Podendo se destacar com uma melhor eficiência o tratamento dose de 1 kg que foi superior na avaliação de 30 DAE com 82%.

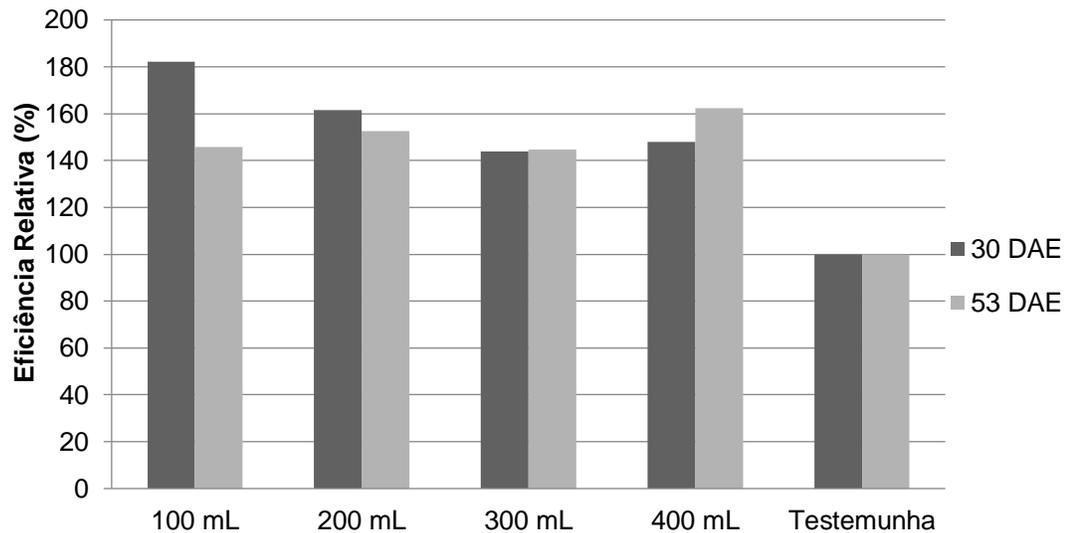


Figura 2. Eficiência relativa de feijão-caupi, inoculados com diferentes doses, 0 (testemunha), 1, 2, 3 e 4 kg de Inoculante de *Pochonia* para cada 50 Kg de sementes aos 30 DAE e aos 53 DAE em relação à testemunha sem inoculação, em Gurupi – TO. Safra 2016/2017.

Na avaliação de 30 DAE podemos dar destaque também no tratamento com a doses com 2 kg que propiciou incremento na biomassa da parte aérea da soja de 62%. Com relação à testemunha aos 53 DAE as maiores médias foram obtidas pelos tratamentos com as doses de 4 kg (62%) e 2 kg (52%), respectivamente.

DISCUSSÕES

Podemos observar nas diversas características agrônômicas avaliadas, como altura de plantas, massa seca da parte aérea, número de vargens, número de grãos e produtividade conforme a tabela 1, 2, 3 e 4, onde demonstraram a eficiência da utilização do microrganismo como inoculante, incrementando assim o crescimento vegetal e a produtividade.

A promoção de crescimento em plantas está ligada diretamente com a rizosfera que é a zona de contato entre solo e raízes e a capacidade de os microrganismos estimularem o crescimento vegetal tem sido atribuída a mecanismos diretos, tais como solubilização de fósforo, fixação biológica de nitrogênio, produção de sideróforos, rapidez dos processos de mineralização e produção de hormônios; e mecanismos indiretos, como a produção de antibióticos, indução de resistência sistêmica nos vegetais e antagonismo em relação a patógenos, entre outros fatores (Oliveira et al., 2003).

Estudos que avaliaram a interação de fungos endofíticos com milho e fumo mostraram que a hifa coloniza o córtex da raiz com diferenciação intracelular, sendo a alicerce para o efeito da promoção de crescimento, incremento de biomassa e uma maior absorção de fósforo pelas plantas (FRANKEN et al. 1998).

Segundo Larriba et al., (2014), diversas espécies de *Pochonia* estão relacionados ao seu comportamento endofítico, na produção de enzimas e uma grande quantidade de metabolitos secundários, auxiliando na solubilização de fosfato e produção de AIA. Essa influência mútua entre a planta e fungo pode aumentar a tolerância da planta a estresses bióticos e abióticos, como também de promover o crescimento das culturas (HAYAT et al., 2010; ESCUDERO; LOPEZ-LLORCA, 2012; MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013).

A eficiência relativa dos isolados encontrada nos experimentos (Figura 1 e 2) pode ser explicada devido às interações entre o crescimento da planta promovidos por fungos (KHAN et al., 2006). Os fungos tem um papel importante no crescimento e na absorção de nutrientes, tais como P, Cu e S, além do aumento da massa seca da planta (SCHREINER, 2007)

Em um experimento avaliando a inoculação do fungo *Pochonia* no incremento da biomassa em plântulas de trigo, houve um incremento significativo na produção de biomassa das plântulas, tal fato pode ser explicado pela produção de diversos metabólicos produzidos pelo fungo (MONFORT et al., 2005).

CONCLUSÕES

Para soja as melhores dosagens foram de 3 e 4 kg com média de 101,15 e 101,1 cm de altura de plantas.

Para a capacidade de número de entrenós todas as dosagens foram superiores à da testemunha destacando-se a de 3 kg.

A produtividade com os tratamentos de *Pochonia* foram superiores em relação à testemunha sem inoculação, variando de 56,2 sacas a 68,5 sacas ha¹ na dose de 3 kg.

A inoculação deste microrganismo demonstra uma ótima saída como biofertilizantes na cultura do feijão caupi demonstrando resultados excelentes, onde todas as doses mostraram-se superiores a testemunha destacando-se a dose de 3 kg incrementando na produtividade 1.083,7 kg ha¹.

A melhor ER na avaliação aos 30 e 53 DAE foi obtida pela dosagem de 1 e 4 kg, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A. L. G. de ALCÂNTARA, R. M.; NÓBREGA, R. S.; NÓBREGA, J. C.; LEITE, L. F.; SILVA, J. A. Produtividade do feijão-caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, n. 3, p. 364–369, 2010.
- AMARA, F. H. C.; NÓBREGA, J. C. A.; MARTINS, R. N. L.; da SILVA, A. F. T.; COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; PACHECO, L. P. Productivity and nodulation cowpea inoculated in function of phosphorus and potassium. **Journal of Agricultural Science**, v. 5, n. 11, p. 86–92, 2013.
- BOURNE, J. M.; B. R. KERRY & F. A. A. M. DE LEIJ. Methods for the study of *Verticillium chlamydosporium* in the rhizosphere. **Journal of Nematology**, v. 26, n. 4, p. 587-591, 1994.
- BOURNE, J. M.; B. R. KERRY & F. A. A. M. DE LEIJ. The importance of the host plant on the interaction between root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium* Goddard. **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, n. 2, p. 539-548, 1996.
- CHARLES-EDWARDS, D. A. **Physiological determinants of crop growth**. Sydney: Academic Press, 1982.
- CONAB: COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. **Monitoramento agrícola- Safra 2017**, v. 4, n. 1, p. 1–98, 2017.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; MISOBUTSI, E. H. Penetração e desenvolvimento de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Heterodera glycines* em quatro gramíneas forrageiras. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 35-41, 2011.
- ESCUADERO, N.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Effects on plant growth and root-knot nematode infection of an endophytic GFP transformant of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Symbiosis**, v. 57, n. 1, p. 33-42, 2012.
- FRANKEN, P.; BUTEHORN, B.; VARMA, A. *Piriformospora indica*, a cultivable root cell-infecting fungus promotes the growth of a broad range of plant species. **In International Conference on Mycorrhiza**, v. 2, n. 1, 1998.
- HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 579-598, 2010.
- HIDALGO-DIAZ, L.; BOURNE, J. M.; KERRY, B. R.; RODRÍGUEZ, M. G. Nematophagous *Verticillium* spp. in soils infested with *Meloidogyne* spp. In Cuba: isolation and screening. **International Journal of Pest Management**, v. 46, n. 4, p. 277-284, 2000.
- SILVA JUNIOR, JAIM JOSÉ DA et al. Destruição criativa e progresso técnico agrícola= avaliação

dos impactos econômicos dos inoculantes na cultura da soja. 2012. KHAN, A. L.; HUSSAIN, J.; AL-HARRASI, A.; AL-RAWAHI, A.; LEE, I. J. Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. **Critical reviews in biotechnology**, v.35, n.1, p. 62-74, 2015.

KOZYROVSKA, N. O. Crosstalk between endophytes and a plant host within information-processing networks. **Biopolymers and cell**, v.29, n.3, p. 234-243, 2013.

LARRIBA, E.; JAIME, M. D.; CARBONELL-CABALLERO, J.; CONESA, A.; DOPAZO, J.; NISLOW, C.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Sequencing and functional analysis of the genome of a nematode egg-parasitic fungus, *Pochonia chlamydosporia*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 65, n.2, p. 69-80, 2014.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O.; RODRIGUES, J. D. S. **Ecofisiologia**. Cultivo do sorgo. EMBRAPA Milho e Sorgo, Sete Lagoas - MG (27), http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Sorgo/CultivodoSorgo_4ed/ecofisiologia.htm. Acessado em 20/02/2018.

MANZANILLA-LÓPEZ, R. H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M. M.; HIRSCH, P. R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 45, n. 1, p. 1-7, 2013.

MAPA. Conab prevê supersafra de 232 milhões de toneladas de grãos — **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/conab-preve-supersafra-de-232-milhoes-de-toneladas-de-graos>>. Acesso em: 27 fev. 2017.

MENDES, I. D. C. **Biological functioning of Brazilian cerrado soils under different vegetation types**. p. 183–195, 2012.

MONFORT, E.; LOPEZ-LLORCA, L. V.; JANSSON, H. B.; SALINAS, J.; PARK, J. O.; SIVASITHAMPARAM, K. Colonization of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. tritici and development of root-rot. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 3, n. 1, p. 1-17, 2005.

MONFORT, E.; LOPEZ-LLORCA, L. V.; JANSSON, H. B.; SALINAS, J.; PARK, J. O.; SIVASITHAMPARAM, K. Colonisation of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. tritici and development of root-rot. **Soil Biology Biochemistry**, v.37, n.1, p.1229–1235, 2005.

OLIVEIRA, A. G. DE.; JUNIOR, A. F. C.; SANTOS, G. R. DOS.; MILLER, L. O.; CHAGAS, L. F. B. Potential phosphate solubilization and AIA production of *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 149–155, 2012.

SCHREINER, R. P. Effects of native and nonnative arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutriente uptake of ‘Pinot noir’ (*Vitisvinifera* L.) in two soils with contrasting levels of phosphorus. **Applied soil ecology**, v. 36, n.4, 2007.

SILVA, F. A. S. ASSISTAT-Assistência Estatística-versão 7.7 beta (pt). **Programa computacional**. Universidade Federal de Campina Grande Campus de Campina Grande-PB-DEAG/CTRN, 2014.

VERDEJO-LUCAS, S.; SORRIBAS, F. J.; ORNAT, C.; GALEANO, M. Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a double-cropping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *Meloidogyne javanica*. **Plant Pathology**, v. 52, n. 4, p. 521-528, 2003.