



Universidade Federal do Tocantins
Câmpus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

ALBERT LENNON LIMA MARTINS

**EFICIÊNCIA DE *Streptomyces* spp. NO BIOCONTROLE DE
FITOPATÓGENOS E PROMOTOR DE CRESCIMENTO VEGETAL**

GURUPI - TO
2017



Universidade Federal do Tocantins
Câmpus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

ALBERT LENNON LIMA MARTINS

EFICIÊNCIA DE *Streptomyces* spp. NO BIOCONTROLE DE FITOPATÓGENOS E PROMOTOR DE CRESCIMENTO VEGETAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Aloísio Freitas Chagas Júnior

**GURUPI - TO
2017**

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

M386e Martins, Albert Lennon Lima.
EFICIÊNCIA DE *Streptomyces* spp. NO BIOCONTROLE DE
FITOPATÓGENOS E PROMOTOR DE CRESCIMENTO VEGETAL. /
Albert Lennon Lima Martins. - Gurupi, TO, 2017.
104 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal
do Tocantins - Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-
Graduação (Mestrado) em Produção Vegetal, 2017.
Orientador: Aloísio Freitas Chagas Júnior

1. Rizobactéria. 2. Promoção de crescimento. 3.
Biocontrole. 4. Produtividade. I. Título

CDD 635

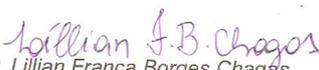
TODOS OS DIREITOS RESERVADOS - A reprodução total ou parcial, de
qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado
desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº
9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

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

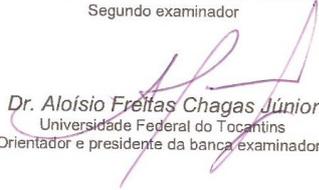
ATA nº08/2017

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ALBERT LENNON
LIMA MARTINS, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO
VEGETAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS

Aos seis dias do mês de novembro do ano de 2017, às 14 horas, na Sala 5 do prédio da Pós-Graduação em Produção Vegetal, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Orientador Dr. Aloísio Freitas Chagas Júnior do Campus Universitário de Gurupi / Universidade Federal do Tocantins, Prof.ª Dr.ª Lillian França Borges Chagas do Campus Universitário de Gurupi / Universidade Federal do Tocantins, Prof. Dr. Edvaldo Vieira Pacheco Sant'Ana do Campus Palmas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de Albert Lennon Lima Martins, intitulada " EFICIÊNCIA DE *Streptomyces* spp. NO BIOCONTROLE DE FITOPATÓGENOS E PROMOTOR DE CRESCIMENTO VEGETAL". Após a exposição, a discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo parecer favorável à aprovação, habilitando-o ao título de Mestre/doutor em Produção Vegetal. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.


Dr. Lillian França Borges Chagas
Primeiro examinador


Dr. Edvaldo Vieira Pacheco Sant'Ana
Segundo examinador


Dr. Aloísio Freitas Chagas Júnior
Universidade Federal do Tocantins
Orientador e presidente da banca examinadora

Gurupi, 06 de novembro de 2017.


Dr. Rodrigo Ribeiro Fidelis
Coordenador do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal

Rodrigo Ribeiro Fidelis
Coord. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal
Fortaleza, 10/11/2014 - Inscrição 2454956
UFET - Câmpus Universitário de Gurupi

Dedico esse trabalho, primeiramente à Deus, por ter me concedido à vida, à minha família que me apoiou e deume subsídio para que eu Alcançasse mais esta vitória, a meus pais João Martins da Silva e Vera Lúcia Lima Martins por me darem amor, carinho, amizade, compreensão e lição de vida e com todo meu amor e gratidão, por tudo que já fizeram por mim ao longo da vida. Desejo poder ter sido merecedor do esforço dedicado por vocês em todos os aspectos, mas em especialmente agora, quanto a minha formação.

Dedico

AGRADECIMENTO

Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.

Aos meus pais, irmãos e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Ao professor Aloisio Freitas Chagas Junior pela paciência na orientação e incentivo que tornou possível essa dissertação.

Ao professor e coordenador do curso Rodrigo Ribeiro Fidelis, pelo convívio, pelo apoio, pela compreensão e pela amizade.

Agradeço também a todos os professores que me acompanharam durante o programa, em especial ao Professor doutor Edvaldo Vieira Pacheco Sant'Ana.

Aos colegas de Mestrado pelos dois anos de convivência, amizade e aprendizado.

A Professora Dr^a. Lillian França Borges Chagas, pela amizade e conhecimento repassado na docência.

A todos os meus amigos pelas palavras de incentivo nas horas difíceis em especial a Romilda Araujo de Almeida.

Ao meu namorado Dyego Lopes Matos por toda paciência e dedicação ao longo desses anos.

A toda minha família pelo apoio e torcida e por estarem ao meu lado sempre que possível.

A todos os alunos que fizeram e fazem parte do grupo de pesquisa Micro-bio do Laboratório de Microbiologia da incubadora de empresas da UFT. Pelo apoio que foi fundamental para a realização desse trabalho e pela grande amizade.

Aos professores da pós-graduação da UFT por todo conhecimento transmitido.

Aos membros da banca, pela disponibilidade em contribuir com o nosso trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal- UFT, por possibilitar a concretização desse trabalho.

A CAPES pelo auxílio da bolsa de estudo.

A Empresa JCO fertilizantes pelo apoio a pesquisa que foi imprescindível para a realização do projeto.

A todos que torceram e acreditaram.

Meu muito obrigado!

RESUMO

Rizobactérias são agentes muito importantes para a promoção do crescimento de plantas em razão da produção de metabólitos. Dentre estas rizobactérias, as *Streptomyces* apresentam grande potencial em produzir diversos compostos bioativos. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivos, nos três capítulos apresentados, caracterizar morfológicamente isolados de *Streptomyces* spp., avaliar a solubilização de fosfato e a produção de ácido indol acético (AIA), a compatibilidade entre *Streptomyces* spp. e *Bradyrhizobium japonicum* e a atividade antagônica aos fungos patogênicos *Curvularia lunata* e *Colletotrichum* sp. Além disso, objetivou selecionar isolados de *Streptomyces* spp., para serem utilizadas como inoculantes tanto para a cultura da soja como para a cultura do feijão-caupi na região e avaliar o efeito das doses sobre as culturas. Os resultados obtidos indicaram que os isolados de *Streptomyces* apresentaram características fenotípicas variadas, sendo que o isolado UFT-St07 apresentou índice de solubilização de fosfato. 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-St04 e UFT-St08. Quanto à compatibilidade entre *Streptomyces* spp. e o inoculante *B. japonicum*, observou-se que os maiores índices de inibição foram observados com os isolados UFT-St01 e UFT-St09. Os isolados UFT-St05 e UFT-St07 apresentaram efeito positivo no biocontrole de *Curvularia lunata*., e os isolados UFT-St04 e UFT-St07 no biocontrole de *Colletotrichum* sp. Quanto à utilização de *Streptomyces* na cultura da soja melhores resultados foram observados com o isolado UFT-St07. No experimento em campo as diferentes dosagens de inoculante mostraram-se eficientes na manutenção do estande final de plantas, sendo que a melhor dose do MIX de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) foi de 300 mL para cada 50 kg de semente. Quanto à cultura de feijão, a estirpe UFT-St03 foi a que apresentou melhores resultados. Além disso, as melhores doses de inoculante foram de 300 e 400 mL/50 kg sementes para todos os parâmetros avaliados. Dessa forma, foi possível observar que as *Streptomyces* tem potencial no biocontrole de fungos fitopatogênicos e podem ser utilizadas como biofertilizante por apresentarem potencial no crescimento e incorporação de biomassa, além de favorecer a produtividade.

Palavras-chave: Rizobactéria; promoção de crescimento; biocontrole; produtividade.

ABSTRACT

Rhizobacteria are very important agents for the promotion of plant growth due to the production of metabolites. Among these rhizobacteria, *Streptomyces* have great potential in producing several bioactive compounds. The objective of this work was to characterize morphologically isolated *Streptomyces* spp., to evaluate phosphate solubilization and the production of indole acetic acid (IAA), the compatibility between *Streptomyces* spp. and *Bradyrhizobium japonicum* and the antagonistic activity to the pathogenic fungi *Curvularia lunata* and *Colletotrichum* sp. In addition, the objective was to select isolates of *Streptomyces* spp. to be used as inoculants for both soybean and cowpea culture in the region and to evaluate the effect of the doses on the crops. The results showed that the isolates of *Streptomyces* presented varied phenotypic characteristics, and the isolate UFT-St07 presented index of phosphate solubilization. Regarding the production of indole acetic acid, the best results were obtained in the presence of the L-tryptophan inducer, and the best isolates observed were UFT-St04 and UFT-St08. Regarding the compatibility between *Streptomyces* spp. and inoculant *B. japonicum*, it was observed that the highest inhibition indices were observed with the isolates UFT-St01 and UFT-St09. The UFT-St05 and UFT-St07 isolates showed a positive effect on the biocontrol of *Curvularia lunata*, and the isolates UFT-St04 and UFT-St07 in the biotype of *Colletotrichum* sp. Regarding the use of *Streptomyces* in the soybean crop, better results were observed with the isolate UFT-St07. In the field experiment the different dosages of inoculant were efficient in maintaining the final plant stand, and the best dose of *Streptomyces* MIX (UFT-St03, UFT-St06 and UFT-St08) was 300 mL for every 50 kg of seed. Regarding the bean culture, strain UFT-St03 was the one that presented the best results. In addition, the best inoculant doses were 300 and 400 mL / 50 kg seeds for all parameters evaluated. Thus, it was possible to observe that *Streptomyces* has potential in the biocontrol of phytopathogenic fungi and can be used as biofertilizer because they have potential in the growth and incorporation of biomass, besides favoring productivity.

Keywords: Rizobacterium; promotion of growth; biocontrol; productivity.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2	SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO, SÍNTESE DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO E BIOCOTROLE POR ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i>.....	15
2.1	RESUMO.....	15
2.2	ABSTRACT.....	17
2.3	INTRODUÇÃO.....	18
2.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
2.4.1	Caracterização fenotípica dos isolados.....	19
2.4.2	Solubilização de fosfato.....	20
2.4.3	Produção de Ácido Indol Acético (AIA).....	20
2.4.4	Teste de compatibilidade.....	21
2.4.5	Atividade antagonista.....	22
2.4.6	Análise Estatística.....	23
2.5	RESULTADOS.....	24
2.5.1	Caracterização fenotípica dos isolados e solubilização de fosfato.....	24
2.5.2	Produção de Ácido Indol Acético (AIA).....	25
2.5.3	Teste de compatibilidade.....	26
2.5.4	Atividade antagônica.....	29
2.6	DISCUSSÃO.....	33
2.7	CONCLUSÕES.....	37
2.8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
3	EFICIÊNCIA DE <i>STREPTOMYCES</i> SPP. NO CRESCIMENTO, NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE SOJA.....	42
3.1	RESUMO.....	42
3.2	ABSTRACT.....	43
3.3	INTRODUÇÃO.....	44
3.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	45
3.4.1	Experimento 1 - Seleção de isolados em casa de vegetação.....	45
3.4.2	Experimento 2 - Doses de <i>Streptomyces</i> ssp. em campo.....	48
3.4.3	Análise Estatística.....	50
3.5	RESULTADOS.....	51
3.5.1	Experimento 1 - Seleção de isolados em casa de vegetação.....	51
3.5.2	Experimento 2 - Doses de <i>Streptomyces</i> ssp. em campo.....	55
3.6	DISCUSSÕES.....	58
3.7	CONCLUSÕES.....	62
3.8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
4	EFICIÊNCIA DE <i>STREPTOMYCES</i> SPP. NO CRESCIMENTO, NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE FEIJÃO CAUPI.....	67
4.1	RESUMO.....	67
4.2	ABSTRACT.....	68
4.3	INTRODUÇÃO.....	69
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	70
4.4.1	Experimento 1 - Seleção de isolados em casa de vegetação.....	70
4.4.2	Experimento 2 - Doses de <i>Streptomyces</i> ssp. (casa de vegetação).....	72

4.4.3	Experimento 3 - Doses de <i>Streptomyces</i> ssp. (campo).....	75
4.4.4	Análise Estatística.....	77
4.5	RESULTADOS.....	78
4.5.1	Experimento 1 - Seleção de isolados em casa de vegetação.....	78
4.5.2	Experimento 2 - Doses de <i>Streptomyces</i> ssp. (casa de vegetação).....	81
4.5.3	Experimento 3 - Doses de <i>Streptomyces</i> ssp. (campo).....	87
4.6	DISCUSSÃO.....	91
4.7	CONCLUSÕES.....	94
4.8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	99

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DOS ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i>	24
TABELA 2. PRODUÇÃO DE AIA (MG ML ⁻¹) POR ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> EM MEIO BD NA AUSÊNCIA (AT) E PRESENÇA (PT) DE L-TRIPTOFANO. ¹	25
TABELA 3. INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>CURVULARIA LUNATA</i> POR ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> SPP. ¹	29
TABELA 4. INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>COLLETOTRICHUM</i> SP. POR ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> SPP. ¹	32

CAPÍTULO 2

TABELA 1. VALORES MÉDIOS DE ALTURA, COMPRIMENTO DA RAIZ (CR), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), MASSA SECA DA RAIZ (MSR) E MASSA SECA TOTAL (MST) DE SOJA (M8210 IPRO) INOCULADO COM ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO. ¹	51
TABELA 2. VALORES MÉDIOS DE NÚMERO DE NÓDULOS (NN) E MASSA SECA DOS NÓDULOS (MSN) DE SOJA (M8210 IPRO) INOCULADO COM <i>STREPTOMYCES</i> , EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO. ¹	54
TABELA 3. VALORES MÉDIOS DE MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA) DE SOJA CV. M8615 IPRO INOCULADOS COM DIFERENTES DOSES (100, 200, 300 E 400 ML / 50 KG SEMENTE) COM MIX DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 E UFT-St08) CULTIVADO NO CERRADO EM GURUPI -TO. SAFRA 2016/2017. ¹	56
TABELA 4. 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 (100, 200, 300 E 400 ML / 50 KG SEMENTE) COM MIX DE ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 E UFT-St08) CULTIVADO NO CERRADO EM GURUPI -TO. SAFRA 2016/2017. ¹	57

CAPÍTULO 3

TABELA 1. VALORES MÉDIOS DE ALTURA (AL), DIÂMETRO DO CAULE (DC), COMPRIMENTO DA RAIZ (CR), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), MASSA SECA DA RAIZ (MSR) E MASSA SECA TOTAL (MST) DE FEIJÃO CAUPI VAR. SEMPRE VERDE (BRS ROUXINOL) INOCULADO COM ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> SSP. EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO. ¹	79
TABELA 2. VALORES MÉDIOS DE ALTURA (AL), DIÂMETRO DO CAULE (DC) COMPRIMENTO DA RAIZ (CR), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), MASSA SECA DA RAIZ (MSR) E MASSA SECA TOTAL (MST) DE FEIJÃO CAUPI VAR. SEMPRE VERDE (BRS ROUXINOL) INOCULADOS COM DIFERENTES DOSES (100, 200, 300 E 400 ML / 50 KG SEMENTE) COM MIX DE ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 E UFT-St08) EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO. ¹	82
TABELA 3. VALORES MÉDIOS DE ALTURA (AL), QUANTIDADE DE ENTRE NÓ (EN), NÚMERO DE VARGENS (NV), NÚMERO DE GRÃOS (NG) E PRODUTIVIDADE DE GRÃOS POR VASO (GV) DE FEIJÃO CAUPI VAR. SEMPRE VERDE (BRS ROUXINOL) AOS 80 DAE INOCULADOS COM DIFERENTES DOSES (100, 200, 300 E 400 ML / 50 KG SEMENTE) COM MIX DE ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 E UFT-St08) EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO. SAFRA 2017/2018. ¹	85

TABELA 4. VALORES MÉDIOS DE MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA) DE FEIJÃO CAUPI VAR. SEMPRE VERDE (BRS ROUXINOL) INOCULADOS COM DIFERENTES DOSES (100, 200, 300 E 400 ML / 50 KG SEMENTE) COM MIX DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 E UFT-St08) CULTIVADO NO CERRADO EM GURUPI -TO. SAFRA 2017/2018. ¹	87
TABELA 5. 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 (BRS ROUXINOL) AOS 85 DAP INOCULADOS COM DIFERENTES DOSES (100, 200, 300 E 400 ML / 50 KG SEMENTE) COM MIX DE ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 E UFT-St08) CULTIVADO NO CERRADO EM GURUPI -TO. SAFRA 2017/2018. ¹	88

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- FIGURA 1.** INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* POR ISOLADOS DE *STREPTOMYCES* SPP. NAS DIFERENTES HORAS DE INCUBAÇÃO: A, 12 H; B, 24 H; C, 48 H; D, 72 H.....27
- FIGURA 2.** COMPATIBILIDADE *IN VITRO* ENTRE ISOLADOS DE *STREPTOMYCES* SPP. E O INOCULANTE *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*: A, UFT-St01; B, UFT-St02; C, UFT-St03; D, UFT-St04; E, UFT-St05; F, UFT-St06; G, UFT-St07; H, UFT-St08; I, UFT-St09. PARTE SUPERIOR: ISOLADOS; PARTE INFERIOR: CONTROLE.....28
- FIGURA 3.** ATIVIDADE ANTAGONISTA *IN VITRO* COM ISOLADOS DE *STREPTOMYCES* SPP. CONTRA O PATÓGENO *CURVULARIA LUNATA*: A, UFT-St01; B, UFT-St02; C, UFT-St03; D, UFT-St04; E, UFT-St05; F, UFT-St06; G, UFT-St07; H, UFT-St08; I, UFT-St09; J, CONTROLE.....31
- FIGURA 4.** ATIVIDADE ANTAGONISTA *IN VITRO* COM ISOLADO DE *STREPTOMYCES* UFT-St07, CONTRA O PATÓGENO *COLLETOTRICHUM* SP.....33

CAPÍTULO 2

- FIGURA 1.** VARIÁVEIS METEOROLÓGICAS EM DIAS APÓS PLANTIO (DAP) - PRECIPITAÇÃO (MM/DIA), TEMPERATURA MÉDIA (°C), ETO (MM/DIA) E UMIDADE RELATIVA MÉDIA (%) OBSERVADAS DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL NA CULTURA DA SOJA NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DE UFT ENTRE 29/07 E 18/09/2016 (GURUPI - TO). FONTE: INMET/UFT.....46
- FIGURA 2.** VARIÁVEIS METEOROLÓGICAS EM DIAS APÓS PLANTIO (DAP) - PRECIPITAÇÃO (MM/DIA), TEMPERATURA MÉDIA (°C), ETO (MM/DIA) E UMIDADE RELATIVA MÉDIA (%) OBSERVADAS DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL NA CULTURA DA SOJA NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DE UFT ENTRE 16/12/2016 E 08/04/2017 (GURUPI - TO). FONTE: INMET/UFT.....48
- FIGURA 3.** MASSA SECA DA RAIZ (MSR) DE PLANTAS DE SOJA CV. M8210 IPRO INOCULADO COM ISOLADOS DE *STREPTOMYCES* EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO.: A, UFT-St03; B, UFT-St05; C, UFT-St06; D, UFT-St08. ESQUERDA: ISOLADOS; DIREITA: TESTEMUNHA.....53
- FIGURA 4.** ALTURA DE PLANTAS DE SOJA CV. M8210 IPRO) INOCULADO COM ISOLADOS DE *STREPTOMYCES* EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO.: A, UFT-St06; B, UFT-St07. ESQUERDA: ISOLADOS; DIREITA: TESTEMUNHA.....53
- FIGURA 5.** EFICIÊNCIA RELATIVA DE PLANTAS DE SOJA (M8210 IPRO) AOS 25 E 55 DAE, INOCULADOS COM ISOLADOS DE *STREPTOMYCES* SSP. EM RELAÇÃO À TESTEMUNHA SEM INOCULAÇÃO, EM GURUPI - TO.....55
- FIGURA 6.** EFICIÊNCIA RELATIVA DE SOJA, INOCULADOS COM DIFERENTES DOSES, 0, 100, 200, 300 E 400 ML DE INOCULANTE DE *STREPTOMYCES* PARA CADA 50 KG DE SEMENTES AOS 25 DAE E AOS 50 DAE EM RELAÇÃO À TESTEMUNHA SEM INOCULAÇÃO, EM GURUPI – TO. SAFRA 2016/2017.....58

CAPÍTULO 3

- FIGURA 1.** VARIÁVEIS METEOROLÓGICAS - TEMPERATURA MÁXIMA (T MAX), TEMPERATURA MÍNIMA (T MIN), TEMPERATURA MÉDIA (T MÉDIA) E PRECIPITAÇÃO OBSERVADAS DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL NA CULTURA DO FEIJÃO CAUPI NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DE UFT ENTRE 05/09 E 01/11/2016 (GURUPI - TO). FONTE: INMET/UFT.....70

FIGURA 2. VARIÁVEIS METEOROLÓGICAS - TEMPERATURA MÁXIMA (T MAX), TEMPERATURA MÍNIMA (T MIN), TEMPERATURA MÉDIA (T MÉDIA) E PRECIPITAÇÃO OBSERVADAS DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL NA CULTURA DO FEIJÃO CAUPI NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DE UFT ENTRE 03/06 E 02/09/2017 (GURUPI - TO). FONTE: INMET/UFT.....	73
FIGURA 3: EFICIÊNCIA RELATIVA DO FEIJÃO CAUPI, INOCULADOS COM DIFERENTES ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> SSP. AOS 20 DAE E AOS 45 DAE EM RELAÇÃO À TESTEMUNHA SEM INOCULAÇÃO, EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI - TO.....	81
FIGURA 4. PARÂMETROS ALTURA (AL) E MASSA SECA DA RAIZ (MSR) DE PLANTAS DE FEIJÃO CAUPI INOCULADAS COM DIFERENTES DOSES (ML/50 KG SEMENTE) DE MIX DE ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO. A, 100 mL; B, 200 mL; C, 300 mL; D, 400 mL (ESQUERDA: TESTEMUNHA; DIREITA: ISOLADOS); E, COMPARATIVO ENTRE AS DOSES.	83
FIGURA 5. PARÂMETROS ALTURA (AL) E MASSA SECA DA RAIZ (MSR) DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI INOCULADAS COM DIFERENTES DOSES (ML/50 KG SEMENTE) DE MIX DE ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO. SAFRA 2017/2018. A, 100 mL; B, 200 mL; C, 300 mL; D, 400 mL (ESQUERDA: TESTEMUNHA; DIREITA: ISOLADOS); E, COMPARATIVO ENTRE AS DOSES.....	84
FIGURA 6. EFICIÊNCIA RELATIVA DO FEIJÃO CAUPI, INOCULADOS COM DIFERENTES DOSES (0; 100, 200, 300 E 400 ML DE INOCULANTE) DE <i>STREPTOMYCES</i> SSP. PARA CADA 50 KG DE SEMENTES AOS 20 DAE E AOS 45 DAE EM RELAÇÃO À TESTEMUNHA SEM INOCULAÇÃO, EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI - TO.....	85
FIGURA 7. PARÂMETRO ALTURA (AL) DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI INOCULADAS COM DIFERENTES DOSES (ML/50 KG SEMENTE) DE MIX DE ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) EM CASA DE VEGETAÇÃO, GURUPI -TO. SAFRA 2017/2018. A, 100 mL; B, 200 mL; C, 300 mL; D, 400 mL (ESQUERDA: TESTEMUNHA; DIREITA: ISOLADOS); E, COMPARATIVO ENTRE AS DOSES.....	87
FIGURA 8. PARÂMETRO ALTURA (AL) DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI INOCULADAS COM DIFERENTES DOSES (ML/50 KG SEMENTE) DE MIX DE ISOLADOS DE <i>STREPTOMYCES</i> (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) EM CAMPO, GURUPI -TO. SAFRA 2017/2018. A, 100 mL; B, 200 mL; C, 300 mL; D, 400 mL (ESQUERDA: TESTEMUNHA; DIREITA: ISOLADOS); E, COMPARATIVO ENTRE AS DOSES.....	89
FIGURA 9. EFICIÊNCIA RELATIVA DO FEIJÃO CAUPI, INOCULADOS COM DIFERENTES DOSES (0; 100, 200, 300 E 400 ML DE INOCULANTE) DE <i>STREPTOMYCES</i> SSP. PARA CADA 50 KG DE SEMENTES AOS 20 DAE E AOS 45 DAE EM RELAÇÃO À TESTEMUNHA SEM INOCULAÇÃO, EM CAMPO - SAFRA 2017/2018, GURUPI - TO.....	90

1 INTRODUÇÃO GERAL

A demanda por alimentos tem crescido muito nos últimos anos e o Cerrado tem sido usado para o cultivo de culturas agrícolas de grande importância nacional e local, como a soja e feijão caupi, respectivamente. O cerrado vem se destacando no setor agropecuário, além de apresentar áreas aptas para o cultivo, possui terras que ainda podem ser exploradas. No Tocantins teve uma área plantada de mais de 1,2 milhões de hectare na safra 2016/2017 (CONAB, 2017).

As doenças causadas por patógenos são os principais fatores que ocasionam perdas na produtividade de grãos nas culturas agrícolas, uma vez que as perdas decorrentes do ataque de doenças nas plantas no Brasil são de cerca de 10-20%(CONAB, 2017).

As diversas práticas agrícolas rotineiras, principalmente quanto ao uso de fungicidas, inseticidas e o uso de produtos químicos não tem alcançado os resultados almejados e tem se tornado inviável. Além de causar efeitos negativos aos organismos não alvos, desequilíbrio ecológico e possíveis efeitos com a incompatibilidade entre o tratamento de sementes com determinados fungicidas e o uso de inoculantes. Isso tem sido considerado um dos maiores problemas relacionados à fixação biológica de nitrogênio nas leguminosas no País (CAMPO; ARAUJO; HUNGRIA, 2009).

O uso de micro-organismos estimulantes na agricultura tem sido uma saída para aumentar a produtividade e reduzir as perdas por patógenos. A presença desses micro-organismos presentes no solo são fundamentais para o processo de ciclagem de nutrientes, além de serem reguladores desse processo (MENDES, 2012).

Em relação aos micro-organismos benéficos encontrados no solo, deve-se ressaltar a importância da bactéria *Streptomyces*, que é um gênero que contém mais de 600 espécies com nomes publicados. Membros do gênero *Streptomyces* representam um dos maiores filos na microbiota do solo em todo o globo terrestre (SHE et al., 2016). Esse micro-organismo presente no solo, apresenta grande potencial, devido a sua habilidade em produzir diversos compostos bioativos como enzimas, toxinas, antibióticos e promotores de crescimento (SAADOUN; GHARAIBEH, 2002).

Ainda há pouco material na literatura sobre o real potencial desse micro-organismo, tão pouco como a sua utilização como inoculantes na agricultura. Dessa forma, o projeto buscou selecionar de *Streptomyces* com potencial, potencial para controle biológico de fitopatógenos e promotor do crescimento vegetal (para o desenvolvimento de inoculantes).

O presente trabalho é apresentado em três capítulos com os respectivos objetivos:

Capítulo I: caracterizar morfológicamente isolados de *Streptomyces* spp., avaliar a capacidade de solubilização de fosfato e a produção de ácido indol acético (AIA) *in vitro* pelos isolados, além de verificar as interações relacionadas a compatibilidade de *Streptomyces* spp. e *Bradyrhizobium japonicum* e antagonismo aos fungos patogênicos *Curvularia lunata* e *Colletotrichum* sp;

Capítulo II: selecionar isolados de *Streptomyces* spp. para a cultura da soja e avaliar o efeito das doses de *Streptomyces* spp. sobre as características agronômicas da cultura;

Capítulo III: avaliar a eficiência de *Streptomyces* spp. no crescimento e produtividade de feijão caupi.

2 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO, SÍNTESE DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO E BIOCONTROLE POR ISOLADOS DE *Streptomyces*

2.1 RESUMO

Actinobactérias do gênero *Streptomyces* apresentam grande potencial em produzir diversos compostos bioativos. Com isso, objetivou-se caracterizar morfológicamente isolados de *Streptomyces* spp., avaliar a solubilização de fosfato e a produção de ácido indol acético (AIA), a compatibilidade entre *Streptomyces* spp. e *Bradyrhizobium japonicum* e a atividade antagônica aos fungos patogênicos *Curvularia lunata* e *Colletotrichum* sp. As fontes de inóculos de *Streptomyces* spp. foram identificadas por meio de testes macro e micro-morfológicos. Para ensaio de solubilização de fosfato *in vitro* foi utilizado meio PCA 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. No teste de compatibilidade 10 μ L de cultivo de cada isolado foi adicionado em seis discos de papel de 4,5 mm em placa de petri. Em seguida foi adicionada a estirpe *Bradyrhizobium japonicum*. Já para avaliação de antagonismo os isolados de *Streptomyces* spp., foram plaqueados em meio BDA e em seguida, discos contendo meio de cultura com colônias do fungo fitopatogênico foram colocados no centro das placas. A caracterização morfológica apontou oito isolados gram positivos dos nove avaliados. Seis isolados apresentaram colônia maior que 2 mm, sete com colônia elevada e cinco transparente. Todos os isolados acidificaram o meio de cultura, com exceção do UFT-St01. Todos os isolados apresentaram resultado positivo quanto à produção de hifas filamentosas e ramificadas, e apenas um isolado (UFT-St03) não apresentou coloração de micélio. Quanto ao teste de capacidade de solubilização de fosfato, apenas um isolado UFT-St07 apresentou índice de solubilização de fosfato. Para a produção de ácido indol acético os melhores resultados foram superiores na presença do indutor L-triptofano, sendo os melhores observados para UFT-St04 ($3,8 \mu\text{g mL}^{-1}$) e UFT-St08 ($3,09 \mu\text{g mL}^{-1}$). Os isolados UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St07 não inibiram o crescimento de *Bradyrhizobium japonicum*. Para avaliação de antagonismo os isolados UFT-St05 e UFT-St07 apresentaram porcentagens de inibição contra o patógeno *Curvularia*

lunata de 90 e 93,7% de inibição, respectivamente. Quanto ao patógeno *Colletotrichum* sp., observou-se maiores porcentagens de inibição dos isolados UFT-St04 (85,2%) e UFT-St07 (87,6%). Os resultados do presente trabalho comprovam a eficiência de *Streptomyces* spp. como promotor de crescimento e agente de controle biológico.

Palavras-chave: Rizobactéria, promotor de crescimento, fitormônio, biocontrole.

2.2 ABSTRACT

Actinobacteria of the genus *Streptomyces* have great potential in producing several bioactive compounds. The objective of this study was to characterize the morphological isolates of *Streptomyces* spp., to evaluate phosphate solubilization and the production of indole acetic acid (AIA), the compatibility between *Streptomyces* spp. and *Bradyrhizobium japonicum* and the antagonistic activity to the pathogenic fungi *Curvularia lunata* and *Colletotrichum* sp. The sources of inocula of *Streptomyces* spp. were identified through macro and micro-morphological tests. For *in vitro* phosphate solubilization assay PCA medium added with K_2HPO_4 and $CaCl_2$ solution was used. For the AIA production assay, the isolates were transferred to Erlenmeyer flasks with culture media in the absence (control) and presence of L-tryptophan. In the compatibility test 10 μ l culture of each isolate was added to six 4.5 mm paper discs in petri dish. Then the strain *Bradyrhizobium japonicum* was added. For the evaluation of antagonism, the *Streptomyces* spp. Isolates were plated in BDA medium and then disks containing culture medium with colonies of the phytopathogenic fungus were placed in the center of the plates. The morphological characterization indicated eight gram positive isolates from the nine evaluated. Six isolates presented colony greater than 2 mm, seven with colony high and five transparent. All isolates acidified the culture medium, with the exception of UFT-St01. All the isolates showed a positive result for the production of filamentous and branched hyphae, and only one isolate (UFT-St03) showed no mycelial staining. As for the phosphate solubilization test, only one isolate UFT-St07 presented solubilization index. For the production of indole acetic acid, the best results were higher in the presence of the L-tryptophan inducer, being the best observed for UFT-St04 ($3.8 \mu\text{g mL}^{-1}$) and UFT-St08 ($3.09 \mu\text{g mL}^{-1}$). Isolates UFT-St03, UFT-St06 and UFT-St07 did not inhibit the growth of *Bradyrhizobium japonicum*. For evaluation of antagonism isolates UFT-St05 and UFT-St07 presented inhibition percentages against the pathogen *Curvularia lunata* of 90 and 93.7% of inhibition, respectively. As for the pathogen *Colletotrichum* sp., it was observed higher percentages of inhibition of the isolates UFT-St04 (85.2%) and UFT-St07 (87.6%). Thus, the results of the present work prove the efficiency of *Streptomyces* spp. as growth promoter and biological control agent.

Keywords: Rhizobacterium, growth promoter, phytohormonium, biocontrol.

2.3 INTRODUÇÃO

A rizosfera é a zona de contato entre solo e raízes, possuindo grande diversidade de organismos, onde são encontradas bactérias, fungos, algas, entre outros. As rizobactérias tem a capacidade de solubilizar fosfato e de produzir metabólitos diretamente relacionados ao crescimento da planta, como auxinas, giberelinas e citocininas. Além disso, sintetizam antibióticos, sideróforos e ácido hidrocínâmico que reduzem a atividade de patógenos (GRAÇAS et al., 2015).

A solubilização de fosfato por micro-organismos é importante, pois os fosfatos naturais apresentam o inconveniente de possuírem baixa solubilidade e, portanto, são pouco disponíveis às plantas. Entre os micro-organismos solubilizadores de fosfato, as bactérias são encontradas em maior número e, a solubilização de fontes insolúveis de fosfato pode ocorrer em razão da excreção de ácidos orgânicos pelos micro-organismos, que solubilizam esses fosfatos por meio da acidificação do ambiente (MASSENSINI et al., 2015).

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 micro-organismos endofíticos, onde pode-se citar o fungo *Trichoderma* sp. (OLIVEIRA et al., 2012) e as bactérias *Azospirillum brasiliensis* e *A. lipoferum* (KUSS et al., 2007), *Pseudomonas fluorescens* (HERNANDEZ et al., 2008) e espécies de *Bacillus* (RATÓN et al., 2011).

O efeito de espécies patogênicas na agricultura é bastante reportado, uma vez que as perdas decorrentes do ataque de doenças nas plantas no Brasil são de cerca de 10-20% (CONAB, 2017). Algumas das doenças transmitidas são mofo branco do feijão e da soja, fusarioses de um grande número de espécies hospedeiras, e podridões, entre outras (GOULART, 2014). Entre as espécies patogênicas que causam grandes prejuízos à agricultura pode-se citar o gênero *Colletotrichum*, causador de antracnose em inúmeras espécies de interesse econômico (ESPAÑA et al., 2017). Além desses, outros patógenos de importância secundária, são detectados com bastante frequência causando danos as plantas, como é o caso de *Curvularia lunata* (GAO et al., 2017).

Já em relação aos micro-organismos benéficos encontrados no solo, deve-se ressaltar a importância da bactéria *Streptomyces*, que é um gênero que contém mais de 600 espécies com nomes publicados (SHE et al., 2016). Membros do gênero *Streptomyces* representam um dos maiores filos na microbiota do solo em todo o globo terrestre. São actinomicetos aeróbicos, formadores de esporos e gram positivos. Os genomas dos estreptomicetos carregam um grande número de agrupamentos de genes responsáveis pela produção de metabólitos bioativos, como enzimas, toxinas, antibióticos, antitumorais e antifúngicos (SHE et al., 2016).

Dessa forma, *Streptomyces* são bactérias potenciais na produção de metabólitos com importante aplicação na agricultura. Com isso, o presente estudo teve por objetivo caracterizar morfologicamente isolados de *Streptomyces* spp., avaliar a capacidade de solubilização de fosfato e a produção de ácido indol acético (AIA) *in vitro* pelos isolados, além de verificar as interações relacionadas a compatibilidade de *Streptomyces* spp. e *Bradyrhizobium japonicum* e antagonismo aos fungos patogênicos *Curvularia lunata* e *Colletotrichum* sp..

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1 Caracterização fenotípica dos isolados

Os experimentos foram conduzidos de fevereiro a maio de 2017, no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins – *Campus* de Gurupi. As fontes de inóculos de *Streptomyces* spp., foram isoladas de diferentes amostras de solos de cultivo de regiões do estado do Tocantins e posteriormente foram identificadas por meio de testes macro e micro-morfológicos (WILLIAMS et al., 1989).

Foram obtidos nove isolados e as características fenotípicas avaliadas foram: tempo de crescimento (1 a 8 dias); diâmetro, forma, elevação e transparência da colônia; produção de hifas filamentosas e ramificadas e coloração do micélio; modificação do pH do meio (HUNGRIA et al., 2001) e teste de coloração de Gram (KONEMAN, 2008).

2.4.2 Solubilização de fosfato

Para o ensaio de solubilização de fosfato *in vitro* os isolados de *Streptomyces* spp. foram cultivados e replicados em meio de cultura BDA modificado (Batata 20%, dextrose 2%, ágar 1,5% e amido 1%; água destilada; pH 6,8), onde foram incubados a 29 °C por sete dias. Foi utilizado o meio Plate Count Ágar - PCA (Peptona 0,5%, Extrato de levedura 0,25%, glicose 0,1%, ágar 15%, água destilada), ao qual foi adicionada uma solução contendo 0,25 g L⁻¹ de K₂HPO₄ e outra contendo 1 g L⁻¹ de CaCl₂, para a formação do fosfato de cálcio precipitado. Foi acrescentado o corante azul de bromotimol no meio P-Ca, que teve como objetivo a visualização da alteração do pH do meio pelas bactérias, em função da alteração da cor do meio, ajustando-se o pH para 6,6 com o intuito de se formar fosfato de cálcio precipitado (HARA; OLIVEIRA, 2004).

A partir dos isolados previamente incubados anteriormente, foram feitos discos de aproximadamente 10 mm dos isolados em cada placa de Petri. A incubação foi realizada em BOD a 28±1 °C. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições. As avaliações foram feitas com 48, 96, 144, 192, 240 e 288 horas após a inoculação dos isolados de *Streptomyces* spp. sendo avaliados por um período de 12 dias. As medidas do diâmetro (Φ) dos halos de solubilização, percebido como uma área translúcida ao redor da colônia, e as do Φ das colônias foram mensuradas utilizando um paquímetro digital. A partir dessas medidas, foram obtidos os índices de solubilização de cada isolado por meio da fórmula: $IS = \Phi \text{ Halo (mm)} / \Phi \text{ Colônia (mm)}$ (HARA; OLIVEIRA, 2004). A partir do IS, as *Streptomyces* spp. foram classificadas como estirpes com baixa ($IS < 2$), média ($2 \leq IS < 4$) e alta solubilização ($IS > 4$) (HARA; OLIVEIRA, 2005).

2.4.3 Produção de Ácido Indol Acético (AIA)

Para o ensaio de produção de AIA *in vitro* pelos isolados de *Streptomyces* spp. inicialmente os isolados foram previamente cultivados em placa de Petri em meio de cultura BDA modificado (Batata 20%, dextrose 2%, ágar 1,5% e amido 1%; água destilada; pH 6,8), onde foram incubados em BOD a 29±1 °C por oito dias. Foi utilizado o meio BD modificado (Batata 20%, dextrose 2% e amido 1%; água

destilada; pH 6,0). Os isolados foram transferidos, através de discos de aproximadamente 2-3 mm de diâmetro contendo massa celular bacteriana para frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 100 mL com os meios BD na ausência (controle) e presença de L-triptofano. A concentração de L-triptofano utilizada foi de 100 mg L⁻¹. 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 *Streptomyces* spp. sendo cultivados em mesa agitadora com movimentação orbital (Novatécnica®, 100 rpm a 26 ± 2 °C). Posteriormente a biomassa celular bacteriana 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 [FeCl₃ 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 µg mL⁻¹, foram calculadas a partir de uma curva padrão com concentrações conhecidas da forma sintética do hormônio (0 a 100 µg mL⁻¹), cujas leituras foram a base para calcular a concentração de AIA nas amostras.

2.4.4 Teste de compatibilidade

Inicialmente, discos (2 – 3 mm de diâmetro, 4 unidades) dos isolados de *Streptomyces* spp. previamente cultivados (28 °C) em ágar BDA modificado (Batata 20%, dextrose 2%, ágar 1,5% e amido 1%; água destilada; pH 6,8) foram adicionados em 100 mL de caldo Plate Cout - PC (Peptona 0,5 %, Extrato de levedura 0,25%, glicose 0,1%, água destilada, pH 6,8) e cultivados em mesa agitadora com movimentação orbital (Novatécnica®, 100 rpm, 28 °C, cinco dias). Posteriormente, 10 µL do cultivo de cada estirpe, com uma concentração de 1,6 x 10¹⁴, foi adicionado em seis discos de papel de 4,5 mm contidos em cada placa de petri contendo meio Plate Cout Ágar - PCA (Peptona 0,5%, Extrato de levedura 0,25%, glicose 0,1%, agar 15%, água destilada, pH 6,8). Em seguida foi adicionada a estirpe *Bradyrhizobium japonicum*, em concentração de 6 x 10⁹), que foi previamente

inoculado (100 µL) com o auxílio da alça de Drigalski, utilizando a técnica de espalhamento (ANTUNES, 1995).

As placas foram incubadas (28 °C) e a formação de halo ao redor dos discos foi avaliada em três períodos distintos (24, 48 e 72 horas). Placas contendo discos com os isolados de *Streptomyces* spp. com ausência do antagonista foram utilizadas como controle. O experimento foi realizado em triplicata e o efeito das estirpes foi caracterizado em uma escala de cinco graus, onde o comprimento da zona de inibição foi estimado proporcionalmente quando comparado ao controle: 0% (ausente), 1 - 25% (fraco), 26 - 50% (moderado), 51 - 75% (forte) e 76 - 100% (muito forte) (BREZA; PALUSZAK, 2016).

2.4.5 Atividade antagonista

A atividade antagonista dos nove isolados de *Streptomyces* spp. foi testada contra os fungos patogênicos *Curvularia lunata* e *Colletotrichum* sp. O fungo *C. lunata* utilizado foi isolado de plantas de milho procedentes do campo experimental da UFT com sintomas da doença. O fungo fitopatogênico *C. lunata* foi caracterizado molecularmente no Laboratório de Manejo Integrado de Plantas na UFT - Campus de Gurupi. O fungo *Colletotrichum* sp., também obtido da coleção do Laboratório de Microbiologia da UFT, foi isolado de plantas de soja com sintomas de antracnose.

Os nove isolados de *Streptomyces* spp. foram inicialmente cultivados em placa de Petri em meio de cultura BDA modificado (Batata 20%, dextrose 2%, ágar 1,5% e amido 1%; água destilada; pH 6,8), e incubados em BOD a 29±1 °C por sete dias. O fungo fitopatogênico também foi colocado em crescimento em meio BDA modificado e incubado por sete dias.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições.

Para avaliação de antagonismo foi utilizada a técnica de cultura fúngica sobre cultura antagonista. Após os sete dias de crescimento dos isolados de *Streptomyces* spp., os inóculos foram plaqueados em meio BDA com o auxílio de uma alça de platina. Em seguida, discos de aproximadamente 6 mm contendo meio de cultura com colônias do fungo fitopatogênico com sete dias de crescimento foram colocados no centro das placas.

As avaliações do potencial de antagonismo foram feitas com 48, 96, 144 e 192 horas após a inoculação dos isolados de *Streptomyces* spp. sendo efetuadas medições do diâmetro das colônias, em três sentidos diametralmente opostos, com auxílio de um paquímetro digital, definindo-se uma média para cada colônia. Os diâmetros das colônias do patógeno foram comparados com o controle, cujo patógeno se desenvolveu em meio BDA.

A porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) foi calculada pela fórmula de MENTEN et al. (1976), onde: $PIC = [(Crescimento\ do\ controle - Crescimento\ tratamento) / Crescimento\ do\ controle] \times 100$. O índice da velocidade de crescimento micelial (IVCM) foi calculado segundo a fórmula adaptada por OLIVEIRA (1991): $IVCM = \Sigma (D - D_a) / N$, em que IVCM = Índice de velocidade de crescimento micelial ($cm.dia^{-1}$), D = Diâmetro médio atual (cm), D_a = Diâmetro médio do dia anterior (cm), e N = Número de dias após a inoculação (dias).

2.4.6 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância teste F e ao teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA, 2008).

2.5 RESULTADOS

2.5.1 Caracterização fenotípica dos isolados e solubilização de fosfato

Com base nas características fenotípicas observadas, dos nove isolados somente um (UFT-St08) apresentou crescimento lento, e todos os isolados acidificaram o meio de cultura, com exceção do UFT-St01 (Tabela 1).

Tabela 1. Características fenotípicas dos isolados de *Streptomyces*.

Isolados ¹	Características dos isolados									
	TC	pH	DC	FC	EC	Tr	PH	CM	Gram	IS
UFT-St01	R	Al	≤ 2	C	E	N	S	P	-	-
UFT-St02	R	Ac	> 2	C	P	S	S	P	+	-
UFT-St03	R	Ac	> 2	C	P	S	S	A	+	-
UFT-St04	R	Ac	≤ 2	C	E	N	S	P	+	-
UFT-St05	R	Ac	> 2	C	E	N	S	P	+	-
UFT-St06	R	Ac	> 2	C	E	S	S	P	+	-
UFT-St07	R	Ac	> 2	C	E	S	S	P	+	++
UFT-St08	L	Ac	≤ 2	C	E	N	S	P	+	-
UFT-St09	R	Ac	> 2	C	E	S	S	P	+	-

¹Isolados da coleção do Laboratório de Agro-microbiologia da UFT; ²TC - tempo de crescimento (R: rápido ≤ 3 dias, L: lento > 3 dias); pH do meio (Ac: ácido, Al: alcalino); DC - diâmetro da colônia em mm; FC - forma da colônia (C: circular); EC - elevação da colônia (P: plana, E: elevada); Tr - transparência (S: sim, N: não); PH - produção de hifas filamentosas e ramificadas (S: sim); CM - coloração micélio (P: presente, A: ausente); Gram - Teste Gram (+, Positiva, -, Negativa). IS - Índice de solubilização de P-Ca [+ , IS < 2 (baixo); ++, 2 < IS < 4 (médio); +++, IS > 4 (alto)].

Em relação à colônia, seis isolados apresentaram diâmetro maior que 2 mm, dois isolados exibiram colônia plana e sete colônia elevada; todos apresentaram colônia com forma circular e cinco exibiram colônia transparente. Além disso, todos os isolados apresentaram resultado positivo quanto à produção de hifas filamentosas e ramificadas, e apenas um isolado (UFT-St03) não apresentou coloração de micélio. Quanto ao teste de coloração de Gram, foi observado que todos os isolados, exceto o UFT-St01, apresentaram Gram positivos (Tabela 1).

Quanto à avaliação de solubilização de fosfato, que foi realizada por método quantitativo, foi observado que apenas um isolado (UFT-St07) apresentou índice de solubilização, sendo um índice médio, isto é, entre 2 e 4 (Tabela 1).

2.5.2 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 0,54 a 3,85 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 2. Produção de AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$) por isolados de *Streptomyces* 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	0,57 cA	0,52 dA	0,54 e	0,69 eA	0,65 fA	0,67 g
UFT-St01	0,66 cB	1,20 aA	0,93 b	1,04 dB	2,89 bA	1,96 c
UFT-St02	0,65 cA	0,57 dA	0,61 e	1,06 dA	0,72 fB	0,89 f
UFT-St03	0,54 cA	5,9 dA	0,57 e	0,73 eA	0,77 fA	0,75 g
UFT-St04	0,83 bA	8,5 cA	0,84 c	2,03 bA	1,83 dA	1,93 c
UFT-St05	0,78 bA	8,7 cA	0,82 c	1,37 cA	1,39 eA	1,38 d
UFT-St06	0,86 bA	5,9 dB	0,73 d	1,08 dA	1,31 eA	1,19 e
UFT-St07	0,55 cB	8,3 cA	0,69 d	0,67 eB	1,28 eA	0,97 f
UFT-St08	0,89 bA	1,00 bA	0,95 b	2,51 aB	3,28 aA	2,89 a
UFT-St09	2,20 aA	1,2 aB	1,71 a	2,58 aA	2,17 cB	2,37 b
Média	0,86 a	0,82 b	-	1,37 b	1,63 a	-
C.V.(%) ²	9,6	9,6	9,6	9,9	9,9	9,9
Isolados	144 horas			192 horas		
	AT	PT	Média	AT	PT	Média
	AT	PT	Média	AT	PT	Média
Controle	0,81 fA	0,73 fA	0,77 h	0,66 gA	5,92 fA	0,63 h
UFT-St01	1,03 eB	3,62 aA	2,32 d	0,98 fB	3,12 bA	2,05 d
UFT-St02	1,75 cA	0,78 fB	1,26 f	1,84 dA	0,74 fB	1,29 f
UFT-St03	0,73 fA	0,75 fA	0,74 h	0,57 gB	0,89 fA	0,73 h
UFT-St04	3,68 aA	3,12 bB	3,40 a	3,85 aA	3,75 aA	3,80 a
UFT-St05	1,36 dB	1,79 dA	1,57 e	1,30 eB	1,93 dA	1,62 e
UFT-St06	1,12 eA	0,90 fA	1,01 g	1,05 fA	0,83 fB	0,94 g
UFT-St07	0,69 fB	1,36 eA	1,03 g	0,69 gB	1,29 eA	0,99 g
UFT-St08	3,01 bA	3,16 bA	3,09 b	3,02 bA	2,94 bA	2,98 b
UFT-St09	2,91 bA	2,22 cB	2,56 c	2,60 cA	2,22 cB	2,41 c
Média	1,71 b	1,84 a	-	1,66 b	1,83 a	-
C.V.(%) ²	7,9	7,9	7,9	7,6	7,6	7,6

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

Nas primeiras 48 e 96 h de incubação observou-se melhores resultados com os isolados UFT-St08 (0,89 e 2,51 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e UFT-St09 (2,20 e 2,58 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Na avaliação de 144 e 196 h, o isolado UFT-St08 manteve-se com os melhores resultados, aumentando a produção para 3,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 144 h e mantendo o valor em 196 h (3,02 $\mu\text{g mL}^{-1}$). O mesmo não acontece com o isolado UFT-St09. Um aumento de produção é observado com o isolado UFT-St04, sendo 3,68 e 3,85 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 144 h e 192 h, respectivamente.

Na presença de L-triptofano observa-se aumento na síntese de ácido indol acético, variando de 0,52 a 3,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em 48 h de incubação, os melhores resultados são observados com os isolados UFT-St04 e UFT-St05, obtendo-se 8,5 e 8,7 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Porém, esses resultados não se mantêm, uma vez que nas demais horas de incubação, observam-se melhores resultados com os isolados UFT-St01 e UFT-St08, obtendo valores respectivos de 2,89 e 3,28 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 96 h; 3,62 e 3,16 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 144 h; e 3,12 e 3,02 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 192 h de incubação (Tabela 2).

Em uma média geral, observa-se que os isolados UFT-St08 e UFT-St09 foram os melhores para produção de AIA nas primeiras horas de incubação, 0,95 e 1,71 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 48 h, e 2,89 e 2,37 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 96 h, respectivamente. Já com 144 e 192 h de incubação, os melhores isolados na média geral foram UFT-St04 e UFT-St08, com 3,40 e 3,09 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 144 h, e 3,80 e 2,98 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 192 h, 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).

2.5.3 Teste de compatibilidade

A avaliação de compatibilidade entre *Streptomyces* spp. e o inoculante *B. japonicum* demonstrou que houve baixa inibição de crescimento (Figura 1). Não foram observadas inibições com os isolados UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St07 em nenhum dos tempos de incubação avaliados. O isolado UFT-St04 não apresentou inibição apenas nas primeiras 12 h de incubação (Figura 1A), sendo observada inibição nas demais avaliações. Já o isolado UFT-St05 somente apresentou inibição na última avaliação, com 72 h de incubação (Figura 1D).

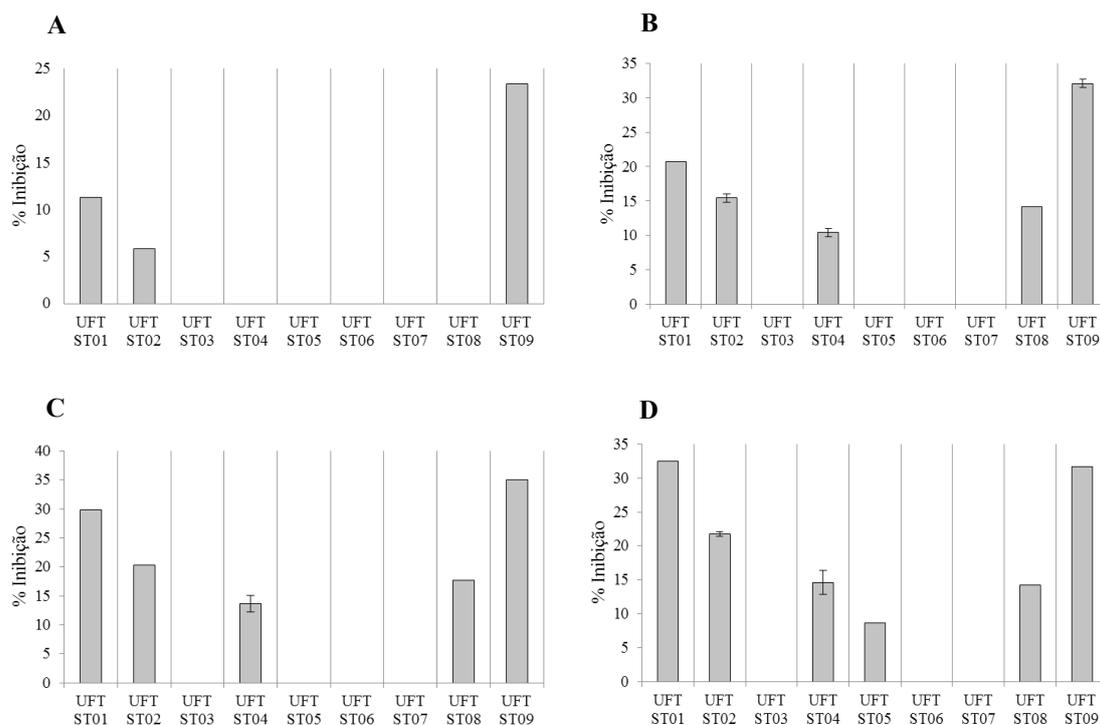


Figura 1. Inibição do crescimento micelial de *Bradyrhizobium japonicum* por isolados de *Streptomyces* spp. nas diferentes horas de incubação: A, 12 h; B, 24 h; C, 48 h; D, 72 h.

A porcentagem de inibição dos isolados variou de 5,8 a 35%, sendo os maiores índices de inibição observados com os isolados UFT-St01 e UFT-St09, com 32,5% em 72 h de incubação (Figura 1D) e 35% em 48 h de incubação (Figura 1C), respectivamente. A Figura 2 apresenta os resultados do crescimento sinérgico entre *Streptomyces* spp. e *B. japonicum*, apontando halos de inibição dos isolados UFT-St01 (Figura2A) e UFT-St09 (Figura2I).

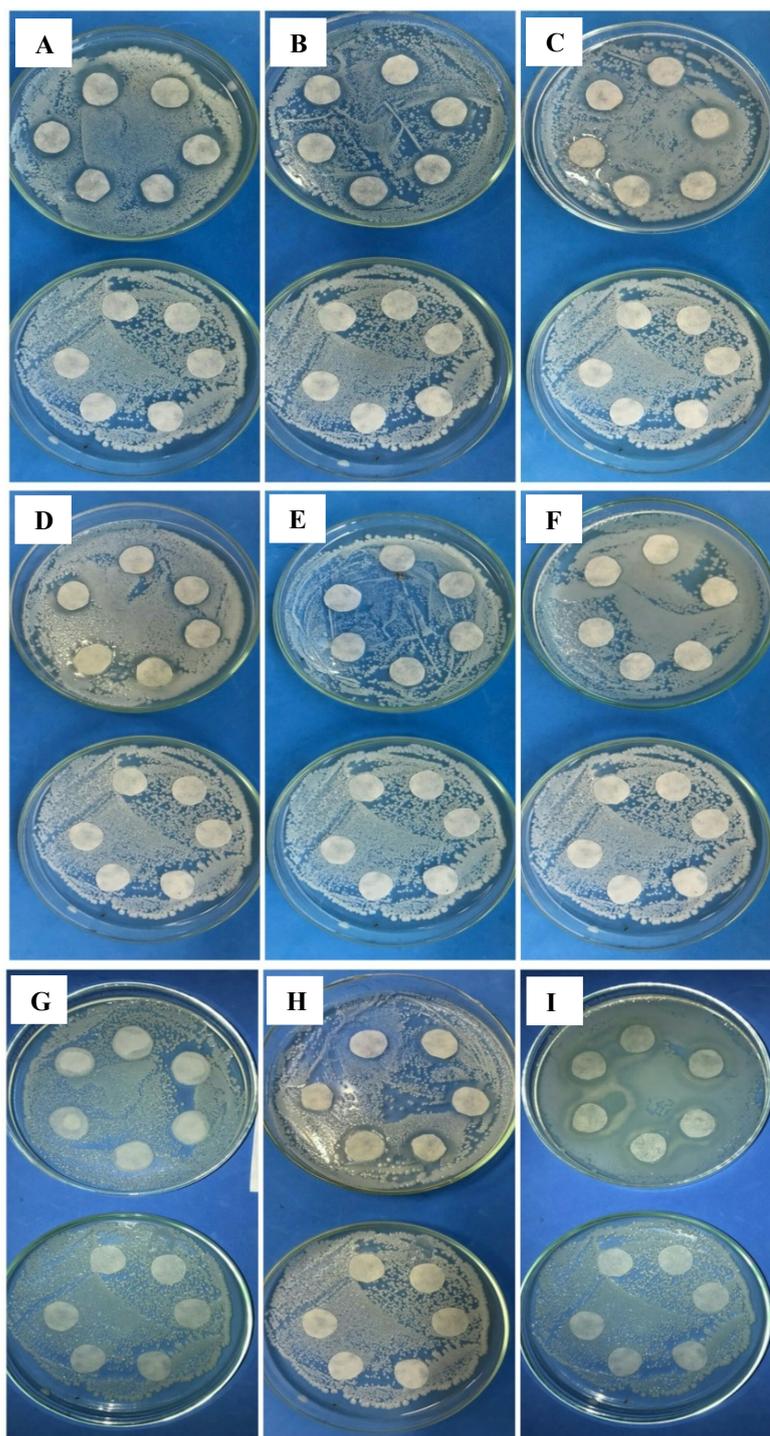


Figura 2. Compatibilidade *in vitro* entre isolados de *Streptomyces* spp. e o inoculante *Bradyrhizobium japonicum*: A, UFT-St01; B, UFT-St02; C, UFT-St03; D, UFT-St04; E, UFT-St05; F, UFT-St06; G, UFT-St07; H, UFT-St08; I, UFT-St09. Parte superior: isolados; parte inferior: Controle.

2.5.4 Atividade antagônica

Em relação ao patógeno *Curvularia lunata*, observou-se que os isolados de *Streptomyces* spp. apresentaram inibição, sendo que a porcentagem de inibição variou de 29,9 a 91,7% (Tabela 3). As melhores porcentagens de inibição foram observadas com os isolados UFT-St05 e UFT-St07 em todos os dias de avaliação, sendo os melhores valores de inibição 90% para o isolado UFT-St05 (Figura 3E) e 91,7% para o isolado UFT-St07 com 96 h de incubação (Figura 3G). Já as menores porcentagens de inibição foram observadas com o isolado UFT-St01 (Figura 3A), alcançando valores menores que 50% com 144 e 192 h de incubação, com 39,6 e 29,9% respectivamente. Além disso, a avaliação do crescimento micelial aponta valores de índice da velocidade de crescimento micelial (IVCM) reduzidos quando comparados ao controle. Observou-se decréscimo do índice conforme o tempo de incubação, com valor máximo de 9,2 com o isolado UFT-St01 em 48 h de incubação e valores menores que 1,2 para todos os isolados em 144 e 192 h de incubação. Os dados mostram que os isolados que apresentaram melhores resultados em relação à porcentagem de inibição de crescimento (PIC), também apresentaram valores baixos de IVCM, sendo de 0,3 e 0,1 em 96 h de incubação para os isolados UFT-St05 e UFT-St07, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Inibição do crescimento micelial de *Curvularia lunata* por isolados de *Streptomyces* spp.¹

Tratamentos	Época de avaliação (dias após incubação)					
	48 horas			96 horas		
	Diâmetro da colônia (mm)	PIC ³ (%)	IVCM ⁴	Diâmetro da colônia (mm)	PIC (%)	IVCM
Controle	52,6 g		23,4	90,0 f		9,3
UFT-St01	24,1 f	54,2	9,2	48,7 e	45,9	6,1
UFT-St02	9,4 c	82,1	1,8	10,3 c	88,6	0,2
UFT-St03	15,9 e	69,8	5,1	20,4 d	77,3	1,1
UFT-St04	8,8 d	83,3	1,5	13,4 c	85,1	1,1
UFT-St05	7,9 b	85,0	1,1	9,0 b	90,0	0,3
UFT-St06	14,8 e	71,9	4,5	19,7 d	78,1	1,2
UFT-St07	5,6 a	89,4	0,0	6,2 a	93,1	0,1
UFT-St08	17,2 e	67,3	5,7	20,2 d	77,6	0,7
UFT-St09	16,9 e	67,9	5,6	22 d	75,6	1,3
C.V.(%) ²	7,0			7,3		
Tratamentos	144 horas			192 horas		
	Diâmetro da colônia (mm)	PIC (%)	IVCM	Diâmetro da colônia (mm)	PIC (%)	IVCM
Controle	90 e		0,0	90,0 e		0,0
UFT-St01	54,4 d	39,6	1,0	63,1 d	29,9	1,1
UFT-St02	14,6 b	83,8	0,7	20,0 b	77,8	0,7
UFT-St03	24,4 c	72,9	0,7	32,0 c	64,4	1,0
UFT-St04	15,4 b	82,9	0,3	19,2 b	78,7	0,5
UFT-St05	11,0 a	87,8	0,3	15,0 a	83,3	0,5
UFT-St06	23,7 c	73,7	0,7	28,6 c	68,2	0,6
UFT-St07	7,5 a	91,7	0,2	10,1 a	88,8	0,3
UFT-St08	26,5 c	70,6	1,1	33,6 c	62,7	0,9
UFT-St09	26,2 c	70,9	0,7	31,6 c	64,9	0,7
C.V.(%) ²	6,8			11,4		

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,01).

²Coeficiente de Variação. ³PIC: Porcentagem de Inibição do Crescimento. ⁴IVCM: Índice de velocidade de crescimento micelial.

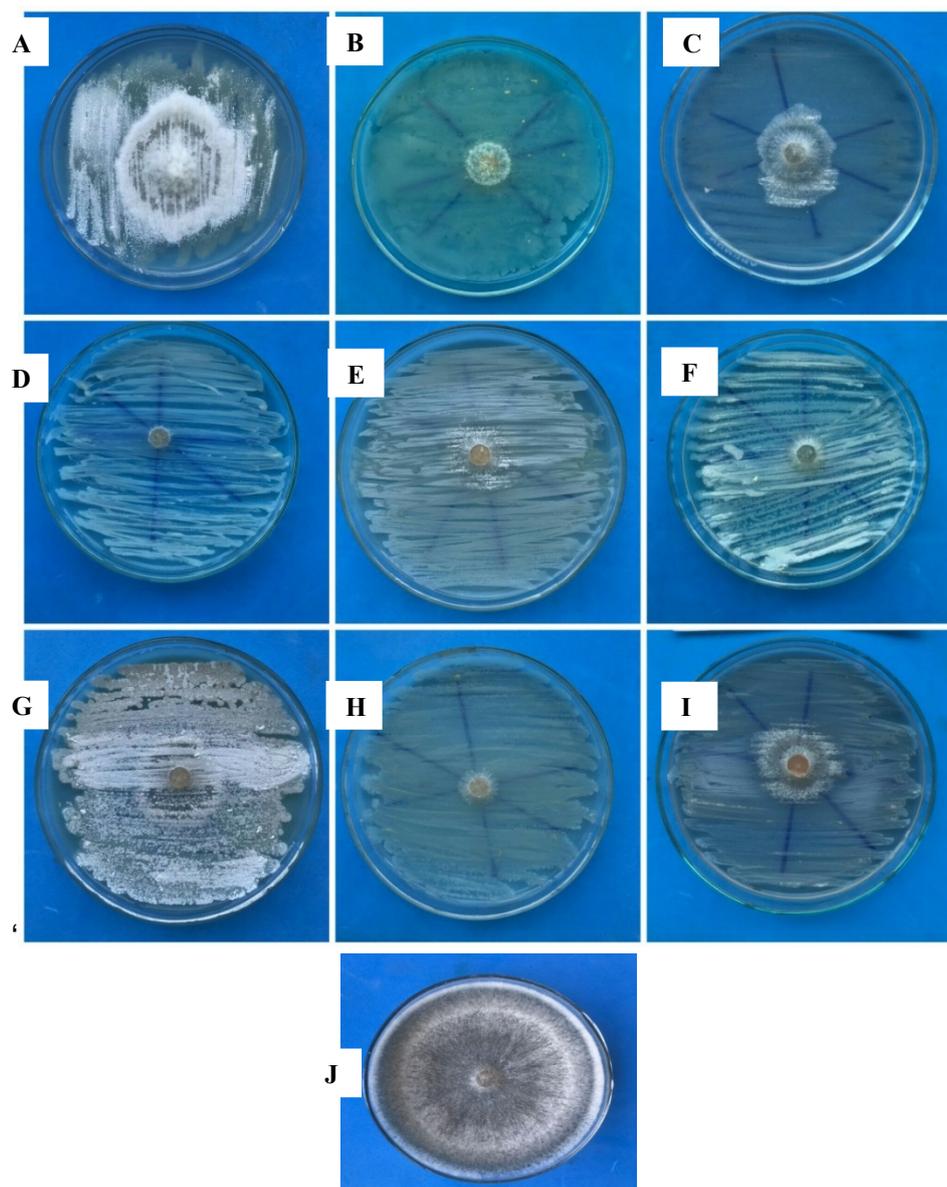


Figura 3. Atividade antagonista *in vitro* com isolados de *Streptomyces* spp. contra o patógeno *Curvularia lunata*: A, UFT-St01; B, UFT-St02; C, UFT-St03; D, UFT-St04; E, UFT-St05; F, UFT-St06; G, UFT-St07; H, UFT-St08; I, UFT-St09; J, Controle

Já em relação ao patógeno *Colletotrichum* sp., a porcentagem de inibição variou de 0,6 a 87,6% (Tabela 4). Em 48 h de incubação, os melhores resultados de inibição de crescimento são observados com os isolados UFT-St07 e UFT-St08, com 60,8 e 58,6% de inibição, respectivamente. Nas demais horas de incubação, observa-se melhor inibição com os isolados UFT-St04 e UFT-St07, sendo valores respectivos de 72,1 e 76,6% em 96 h; 81 e 84,1% em 144 h; e 85,2 e 87,6% em 192 h. Assim, de uma maneira geral o isolado UFT-St07 foi o que obteve os melhores resultados, exercendo ação antagônica em relação ao patógeno, não deixando-o se

desenvolver no meio de cultura, o que pode ser observado na Figura 4. Já as menores porcentagens de inibição são observadas com os isolados UFT-St03 e UFT-St06 em todos os tempos avaliados (Tabela 4).

Tabela 4. Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. por isolados de *Streptomyces* spp.¹

Tratamentos	Época de avaliação (dias após incubação)					
	48 horas			96 horas		
	Diâmetro da colônia (mm)	PIC ³ (%)	IVCM ⁴	Diâmetro da colônia (mm)	PIC (%)	IVCM
Controle	18,6 c		5,8	31,2 e		3,2
UFT-St01	8,5 a	54,3	0,8	18,1 c	42,0	2,4
UFT-St02	8,8 a	52,7	0,9	8,8 a	71,8	0,0
UFT-St03	14,5 b	22,0	3,8	25,0 d	19,9	2,6
UFT-St04	8,7 a	53,2	0,8	8,7 a	72,1	0,0
UFT-St05	8,6 a	53,8	0,8	12,9 b	58,7	1,1
UFT-St06	17,9 c	3,8	5,4	31,0 e	0,6	3,3
UFT-St07	7,3 a	60,8	0,1	7,3 a	76,6	0,0
UFT-St08	7,7 a	58,6	0,4	15,1 b	51,6	1,8
UFT-St09	7,9 a	57,5	0,4	14,0 b	53,5	1,9
C.V.(%) ²	8,2			8,7		
Tratamentos	144 horas					
	144 horas			192 horas		
	Diâmetro da colônia (mm)	PIC (%)	IVCM	Diâmetro da colônia (mm)	PIC (%)	IVCM
Controle	45,9 f		2,4	58,7 f		1,6
UFT-St01	19,6 c	57,3	0,2	19,6 c	66,6	0,0
UFT-St02	8,8 a	80,8	0,0	8,8 a	85,0	0,0
UFT-St03	31,4 d	31,6	1,1	34,4 d	41,4	0,3
UFT-St04	8,7 a	81,0	0,0	8,7 a	85,2	0,0
UFT-St05	12,9 b	71,9	0,0	12,9 b	78,0	0,0
UFT-St06	39,0 e	15,0	1,3	47,3 e	19,4	1,0
UFT-St07	7,3 a	84,1	0,0	7,3 a	87,6	0,0
UFT-St08	15,3 b	66,7	0,0	15,7 b	73,3	0,0
UFT-St09	14,2 b	69,1	0,0	15,1 b	74,3	0,0
C.V.(%) ²	7,1			8,5		

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,01).

²Coeficiente de Variação. ³PIC: Porcentagem de Inibição do Crescimento. ⁴IVCM: Índice de velocidade de crescimento micelial.

Quanto ao índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), observam-se resultados semelhantes aos obtidos no estudo com *Curvularia lunata*, uma vez que os valores de IVCM foram baixos quando comparados ao controle. Além disso, conforme o tempo de incubação houve decréscimo do índice de crescimento, sendo menores ou iguais a 0,3 para todos os isolados em 144 h e 192 h de incubação, exceto para UFT-St03 e UFT- St06 (Tabela 4).

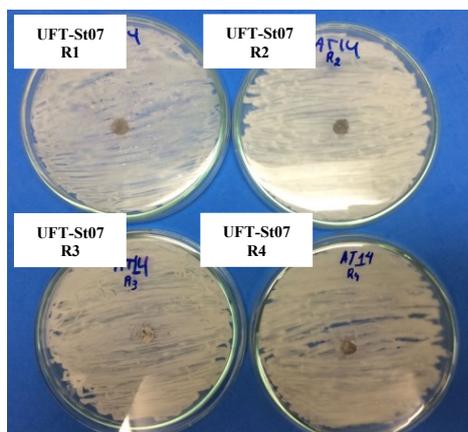


Figura 4. Atividade antagonista *in vitro* com isolado de *Streptomyces* UFT-St07, contra o patógeno *Colletotrichum* sp.

2.6 DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos quanto à caracterização morfológica, os isolados estudados foram agrupados no gênero *Streptomyces*, apesar de um deles não obter resultado positivo quanto ao teste de coloração de gram (Tabela 1). *Streptomyces* pertencem aos actinomicetos, isto é bactérias gram positivas. São encontradas primordialmente no solo e suas colônias exibem colorações variadas, podendo ser identificadas por sua morfologia opaca, rugosa e não disseminante (MADIGAN et al., 2016).

Oliveira (2003) descreve que actinomicetos apresentam características morfológicas variadas, tornando possível diferenciá-los de outras bactérias com facilidade. Algumas dessas características são produção de micélio, o que faz com que apresentem aparência pulverulenta, produção de hifas filamentosas e ramificadas, e produção de pigmentos. É importante ressaltar que os isolados apresentaram características fenotípicas bastante variadas, o que sugere grande diversidade genética entre eles.

Em relação à solubilização de fosfato os resultados mostraram que somente um isolado apresentou índice de solubilização (Tabela 1), porém relatos afirmam que bactérias solubilizadoras de fosfato possuem a capacidade para converter a forma insolúvel de fósforo em uma forma disponível para planta. PANDE et al. (2017) avaliaram oito isolados bacterianos da região de Nainital na Índia, obtendo três isolados com alta solubilização de fosfato. Além disso, a análise na sequência de genes destes três melhores isolados indicaram que dois estavam intimamente relacionados com *Alcaligenes aquatilis* e um com *Burkholderia cepacia*.

A solubilização de fosfato pelas bactérias do solo está relacionado com a diminuição do pH do meio pelos ácidos orgânicos, sendo que os ácidos orgânicos liberados pelas bactérias tem a capacidade de dissolver o fosfato mineral como resultado da troca de ânion de PO_4^{-2} por ânion ácido (HARA, OLIVEIRA, 2005). Um estudo de solubilização por micro-organismos, tanto fungos quanto bactérias, isolados da rizosfera de Feijão-guandu (*Cajanus cajan* L. Millsp.) obteve 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; ABBOUD, 2007).

Quanto à capacidade de sintetizar AIA, todos os isolados em estudos apresentaram produção, porém sendo maior na presença de L-triptofano adicionado ao meio de cultura (Tabela 2). Segundo PATTEN; GLICK (1996), um micro-organismo 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).

Um exemplo é o estudo de TAMREIHAO et al. (2016) avaliando o biocontrole e atividades de promoção do crescimento de plantas de uma estirpe de *Streptomyces corchorusii*, obtendo que a estirpe produziu até $30,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de AIA e solubilizou uma quantidade significativa de fosfato inorgânico (até $102 \mu\text{g mL}^{-1}$). Além disso, produziu 69% de unidades de sideróforo. Em outro estudo, observou-se

que uma estirpe de *Streptomyces* sp. acidotolerante isolada de pedreira de calcário produziu 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido indol acético, solubilizar até 140 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de fosfato com uma diminuição concomitante do pH do meio (TAMREIHAO et al. 2016).

MU'MINAH et al. (2015), avaliaram a produção de exopolissacarídeos e substâncias estimulantes do crescimento, como o ácido indol acético na presença do precursor L-triptofano por bactérias isoladas de rizosfera de plantas de batata. Os resultados apontaram 34 isolados produtores de AIA no intervalo de 0,40 a 21,14 mg L^{-1} .

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 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 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 bactérias diazotróficas associadas 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 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tal fato é ressaltado por TSAVKELOVA et al. (2006), os quais afirmam que existem bactérias que podem produzir AIA na ausência de triptofano, seguindo a via metabólica que independe desse precursor. No entanto, os autores também afirmam os mecanismos envolvidos na síntese de AIA por meio desta via metabólica ainda não são bastante elucidados. Dessa forma, os fatores apontados como determinantes para a produção de AIA são a espécie estudada e as condições de cultivo do micro-organismo, tais como fase de crescimento do isolado, oxigenação, pH e presença ou ausência do indutor (PEDRAZA et al., 2004).

Para a avaliação da compatibilidade entre os isolados de *Streptomyces* e *B. japonicum* observou-se variações nos resultados, mas com baixo percentual de inibição em geral (Figura 1), evidenciando que a dupla inoculação pode não interferir na atividade de cada micro-organismos. Alguns estudos na literatura mostram como ocorre a ação sinérgica entre *Bradyrhizobium* e outros micro-organismos, a fim de favorecer o desenvolvimento da planta, como é o caso do estudo de BADAWI et al. (2011), em que se verificou a capacidade de isolados rizomicrobianos *Serratia marcescens* e *Trichoderma harzianum* juntamente com uma cepa de bactéria de

nódulos radiculares *Bradyrhizobium* spp. em exibir propriedades de crescimento de plantas de amendoim em condições *in vitro*.

Os autores observaram que a sinergia entre *Bradyrhizobium* spp. e os demais micro-organismos testados levou a aumentos consideráveis de todos os caracteres avaliados no crescimento da planta (capacidade de solubilizar fosfato e produção de AIA, bem como a produção de sideróforos e ácido cianídrico). Sendo que a ação sobre a nodulação de amendoim, desempenho de fixação de N₂ e caracteres vegetativos foi melhor com a inoculação dupla de *Bradyrhizobium* spp. e *S. marcescens* (BADAWI; BIOMY; DESOKY, 2011).

LIMA et al. (2011) avaliaram a viabilidade da co-inoculação das sementes de feijão-caupi usando *Paenibacillus*, *Brevibacillus* e *Bacillus* com *Bradyrhizobium* e verificaram o sinergismo entre eles. Os resultados demonstraram que houve sinergismo das estirpes de *Bacillus* sp. e *Bacillus pumilus* co-inoculadas com a estirpe de *Bradyrhizobium* sp. em relação às variáveis massa seca da parte aérea e eficiência de fixação de nitrogênio.

Não são vastos na literatura estudos que avaliam a ação sinérgica de *Streptomyces* em conjunto com outros micro-organismos de modo a favorecer o desenvolvimento da planta, bem como também são pouco reportados estudos *in vitro*. Os estudos observados concentram-se em avaliar o sinergismo de micro-organismos em campo, isso porque os efeitos da interação são dependentes de muitos fatores, como espécie e estirpe de micro-organismo; variedade, cultivar e espécie de planta; tipo de estresse biótico ou abiótico; momento, modo e frequência de aplicação, que devem ser avaliados em campo (GRAÇAS et al., 2015).

Quanto a capacidade antagônica dos isolados de *Streptomyces*, ficou evidente o potencial para o biocontrole de *Curvularia lunata* e *Colletotrichum* sp. (Tabelas 3 e 4). O gênero *Streptomyces* é apontado comumente como excelente produtor de vários metabólitos bioativos úteis, como antibióticos (NGUYEN et al., 2015). Além da produção de antibióticos, *Streptomyces* também produzem enzimas degradantes da parede celular, como quitinases e glucanase (KAUR et al., 2016). Assim, por esses motivos, o gênero *Streptomyces* tem ganhado grande importância como agente de biocontrole em campo agrícola, em razão de seu potencial de inibição de diversos patógenos fúngicos e bacterianos.

Um exemplo do potencial de *Streptomyces* é retratado no estudo de BRESSAN; FIGUEIREDO (2001), em que foi avaliado o efeito de isolados de

Streptomyces spp. no controle de *Stenocarpella maydis* em condições *in vitro* e em sementes de milho. Os autores observaram que em condições *in vitro*, os isolados de *Streptomyces* spp. apresentaram efetividade antagonista, sendo que as zonas de inibição do desenvolvimento do *Stenocarpella maydis* variaram de 30 a 52 mm. Em relação às sementes, as que foram inoculadas com *Streptomyces* tiveram redução na incidência do fungo de cerca de 90%, mostrando a efetividade dos isolados no controle de *Stenocarpella maydis*.

O potencial de biocontrole de *Streptomyces goshikiensis* contra *Fusarium oxysporum* sp. Niveum foi avaliado por FAHEEM et al. (2015), em que se observou que a estirpe produziu compostos antifúngicos voláteis capazes de inibir o crescimento do fungo *in vitro* em até 40% , além de uma ampla gama de fungos fitopatogênicos. Já o estudo de SINGH & GAUR (2017) avaliou a indução de genes reguladores de defesa por *Streptomyces* spp. endofíticas contra *Sclerotium rolfsii* em grão-de-bico, em que se observou que a estirpe regula genes que codificam enzimas como superóxido dismutase, peroxidase, ascorbato peroxidase e guaiacol peroxidase, levando a uma resistência induzida contra *S. rolfsii*.

2.7 CONCLUSÕES

Os isolados de *Streptomyces* apresentaram características fenotípicas variadas, apenas o isolado UFT-St07 apresentou índice de solubilização de fosfato. 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-St04 e UFT-St08.

Quanto à compatibilidade entre *Streptomyces* spp. e o inoculante *B. japonicum*, os isolados UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St07 de *Streptomyces* spp. não inibiram o crescimento de *Bradyrhizobium japonicum* em nenhum dos tempos de incubação. Os maiores índices de inibição foram observados com os isolados UFT-St01 e UFT-St09.

Os isolados UFT-St05 e UFT-St07 apresentaram efeito positivo no biocontrole de *Curvularia lunata*., e os isolados UFT-St04 e UFT-St07 no biocontrole de *Colletotrichum* sp.

2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, G. S. **Manual de diagnóstico bacteriológico**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, p. 278, 1995.

BADAWI, F. S. F.; BIOMY, A. M. M.; DESOKY, A. H. Peanut plant growth and yield as influenced by co-inoculation with *Bradyrhizobium* and some rhizo-microorganisms under sandy loam soil conditions. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 56, n. 1, p. 17–25, 2011.

BRESSAN, W.; FIGUEIREDO, J. E. F. Potencial de isolados de *Streptomyces* spp. no controle de *Stenocarpella maydis* em sementes de milho. **Embrapa - Comunicado Técnico**, p. 1–4, 2001.

BREZA, B.; PALUSZAK, Z. The antagonistic activity of actinomycetes of *Streptomyces* genus in relation to *Trichoderma koningii*. **Journal of Ecological Engineering**. v. 17, n. 1, p. 106-113, 2016.

ESPAÑA, M. D.; ARBOLEDA, J. W.; RIBEIRO, J. A.; ABDELNUR, P. V.; GUZMAN, J. D. Eucalyptus leaf byproduct inhibits the anthracnose-causing fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 793–797, 2017.

FAHEEM, M.; RAZA, W.; ZHONG, W.; ZHANG, N.; QIRONG, S.; YANGCHUN X. Evaluation of the biocontrol potential of *Streptomyces goshikiensis* YCXU against *Fusarium oxysporum* f. sp. niveum. **Biological Control**, v. 81, p. 101–110, 2015.

GAO, S.; NI X.; LI Y.; FU K.; YU C.; GAO, J.; WANG M.; LI Y.; CHEN J. Sod gene of *Curvularia lunata* is associated with the virulence in maize leaf. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, n. 4, p. 874–883, 2017.

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. 2014, p. 7–14, 2015.

GOULART, A. C. P. (EMBRAPA A. O). Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle. **Embrapa Agropecuária Oeste**. p. 72, 2014.

GRAÇAS, J. P.; RIBEIRO, C.; COELHO, F. A. A.; CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, P. R. C. E. Microrganismos Estimulantes Na Agricultura. **Série Produtor Rural**, v. 59, p. 56, 2015.

HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, L. A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazônica**, v. 34, n. 3, p. 343-357, 2004.

HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, L. A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 7, p. 667-672, 2005.

HERNANDEZ, R. A.; HEYDRICH-PEREZ, M.; ACEBO-GUERRERO, Y.; VELAZQUEZ, D. V.; M. G.; HERNANDEZ, L. N. A. Antagonistic activity of Cuban native rhizobacteria against *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. in maize (*Zea mays* L.). **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, n. 39, v. 2, p. 180-186. 2008.

HUNGRIA, M.; CHUEIRE, L. M. O.; COCA, R. G.; MEGÍAS, M. Preliminary characterization of fast growing rhizobial strains isolated from soybean nodules in Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 10, p. 1349-1361, 2001.

KAUR, T.; JASROTIA, S.; OHRI, P.; MANHAS, R. K. Evaluation of in vitro and in vivo nematicidal potential of a multifunctional streptomycete, *Streptomyces hydrogenans* strain DH16 against *Meloidogyne incognita*. **Microbiological research**, v. 192, p. 247–252, 2016.

KONEMAN, E. W. WINN, JR. W.; ALLEN, S.; JANDA, W.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERBER, P.; WOODS, G. **Diagnóstico Microbiológico, Texto e Atlas Colorido**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008

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 Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 42, n.10, p.1459-1465, 2007.

LIMA, A. S. T. DE; BARRETO, M. DO C. S.; ARAÚJO, J. M.; SELDIN L.; BURITY, H. A.; FIGUEIREDO, M. V. B. Sinergismo *Bacillus*, *Brevibacillus* e, ou, *Paenibacillus* na simbiose *Bradyrhizobium-caupi*. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 35, n. 3, p. 713–721, 2011.

MASSESSINI, A. M.; TÓTOLA, M. R.; BORGES, A. C.; COSTA, M. D. Solubilização potencial de fosfatos mediada pela microbiota rizosférica de eucalipto cultivado em topossequência típica da zona da mata mineira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 3, p. 692–700, 2015.

MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de Brock**, 14. ed. Porto Alegre: ArtMed, p. 960, 2016.

MENTEN, J. O. M.; MINUSSI, C. C.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.1, n.2, p.57-66, 1976.

MU'MINAH; BAHARUDDIN; SUBAIR, H.; FAHRUDDIN. Isolation and Screening Bacterial Exopolysaccharide (EPS) from potato rhizosphere in highland and the potential as a producer Indole Acetic Acid (IAA). **Italian Oral Surgery**, v. 3, p. 74–81, 2015.

NGUYEN, L. T; SCHMIDT H. A.; VON, H. A.; MINH, B. Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, p. 268–274, 2015.

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.

OLIVEIRA, M. F. Identificação e caracterização de actinomicetos isolados de processo de compostagem. **Dissertação** (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS., p. 140, 2003.

OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.). **Dissertação** (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras, p. 111, 1991.

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

PANDE, A.; PANDEY, P.; MEHRA, S.; SINGH, M.; KAUSHIK, S. Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 41, n. 2, p. 109-117, 2017.

PEDRAZA, R. O. RAMÍREZ, M. A.; XIQUI, M. L.; BACA, B. E. Aromatic amino acid aminotransferase activity and indole-3-acetic production by associative nitrogenfixing bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 233, n. 1, p. 15-21, 2004.

RATÓN, T. M. O.; YANO, R.; GÁMEZ, O. R.; FLOH, E. I. S.; DÍAZ, M. J. S.; BARBOSA, H. R. Isolation and characterization of aerobic endospore forming *Bacilli* from sugarcane rhizosphere for the selection of strains with agriculture potentialities. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1593-603, 2011.

SHE, W.; SUN, Z.; YI, L.; ZHAO, S.; LIANG, Y. *Streptomyces alfalfae* sp. Nov. and comparisons with its closest taxa streptomyces silaceus, *Streptomyces flavofungini* and *Streptomyces intermedius*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 44–49, 2016.

SILVA, A. B.; LANDGRAF, P. R. C. Inoculação de bactérias produtoras de ácido 3-indol acético em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) inoculation of indole-3-acetic acid producing bacteria in lettuce plants., v. 11, n. 1, p. 89–96, 2017.

SILVA, F. de A. S. **ASSISTAT**. Versão 7.6 beta. Campina Grande, 2008.

SINGH, S. P.; GAUR, R. Endophytic *Streptomyces* spp. underscore induction of defense regulatory genes and confers resistance against *Sclerotium rolfsii* in chickpea. **Biological Control**, v. 104, p. 44–56, 2017.

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.

TAMREIHAO, K.; NIMAICHAND, S.; CHANU, S. B.; DEVI, K. A.; LYNDIA, R.; JEENIITA, N.; NINGTHOUJAMA, D. S. Acidotolerant *Streptomyces* sp. MBRL 10

from limestone quarry site showing antagonism against fungal pathogens and growth promotion in rice plants. **Journal of King Saud University - Science**, v. 12, p. 250–268, 2016.

TAMREIHAO, K.; NINGTHOUJAMA, D. S.; NIMAICHAND, S.; SINGH E. S.; REENA P.; SINGH S. H.; NONGTHOMBA U. Biocontrol and plant growth promoting activities of a *Streptomyces corchorusii* strain UCR3-16 and preparation of powder formulation for application as biofertilizer agents for rice plant. **Microbiological Research**, v. 192, p. 260–270, 2016.

TSAVKELOVA, E. A.; KLIMOVA, S. Y.; CHERDYNTSEVA, T. A.; NETRUSOV, A. I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 42, p. 117-126, 2006.

WILLIAMS, S.; SHARPE, M.; HOLT, J. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. v. 4, 1989.

WINN, W. C.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; KONEMAN, E. W.; PROCOP. G. W.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WOODS, G. L. **Diagnóstico microbiológico : texto e atlas colorido**. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

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.

3 EFICIÊNCIA DE *Streptomyces* spp. NO CRESCIMENTO, NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE SOJA

3.1 RESUMO

A cultura da soja possui grande importância socioeconômica e, atualmente, tem crescido a demanda por produtos livres de agrotóxicos, o que favorece a utilização de produtos à base de agentes biológicos, principalmente micro-organismos promotores de crescimento. Assim, o presente estudo teve como objetivo selecionar isolados de *Streptomyces* spp., adaptadas a região do cerrado para a cultura da soja e avaliar o efeito das doses de *Streptomyces* ssp. sobre as características agrônômicas da cultura. Em experimento em casa de vegetação, foi feita a inoculação de nove isolados de *Streptomyces* ssp. em soja (*Glycine max* L.) cultivar M8210 IPRO. Foram feitas duas avaliações de biomassa, a primeira aos 25 dias após a emergência (DAE) e a segunda aos 55 DAE. Em experimento de campo foram avaliados tratamentos constituídos por cinco doses de inoculante a base de *Streptomyces* (0, 100, 200, 300 e 400 mL de inoculante de *Streptomyces* para cada 50 kg de sementes), sendo a cultivar de soja utilizada M8615 IPRO. Foram realizadas três avaliações de biomassa, aos 20 e 55 (DAE), e uma semana após ter apresentado 95% das vagens maduras para avaliação de biomassa e produtividade. Para o experimento em casa de vegetação, observou-se na primeira avaliação que o isolado UFT-St02 proporcionou incremento da massa seca das plantas de soja (1,48 g) e massa seca total (2,18 g). Na segunda avaliação os melhores resultados para tais parâmetros foram observados com o isolado UFT-St07, com 6,01 e 7,05 g, respectivamente. Para o experimento de campo, os resultados mostraram que as diferentes dosagens de inoculante foram eficientes na manutenção do estande final de plantas, sendo que a melhor dose foi de 300 mL para cada 50 kg de semente, a qual favoreceu uma maior produtividade de grãos (3.290,1 kg ha⁻¹). Assim, esse estudo mostra que *Streptomyces* spp. tem potencial de utilização como biofertilizante sendo potenciais no crescimento e incorporação de biomassa em plantas de soja, além de favorecer a produtividade.

Palavras-chave: *Glycine max* L.; promoção de crescimento; biomassa; biofertilizante.

3.2 ABSTRACT

Soybean cultivation has great socioeconomic importance; and the demand for pesticide-free products has increased, which favors the use of products based on biological agents, mainly growth promoting microorganisms. Thus, the present study aimed to select isolates of *Streptomyces* spp., adapted to the cerrado region for a soybean crop and evaluation of the effect of *Streptomyces* ssp. on the agronomic characteristics of the crop. In greenhouse, it was made the inoculation of nine isolates of *Streptomyces* ssp. in soybean (*Glycine max* L.) of cultivar M8210 IPRO. Two biomass evaluations were performed, one first evaluation at 25 days after an emergency (DAE) and a second evaluation at 55 DAE. In field experiment were evaluated treatments consisting of five doses of inoculant based on *Streptomyces* ssp. (0, 100, 200, 300 and 400 mL of *Streptomyces* ssp inoculant for each 50 kg of seeds), being a soybean cultivar used M8615 IPRO. Three biomass evaluations were performed at 20 and 55 (DAE), and one week after presenting 95% of the mature pods for biomass and productivity evaluation. For the greenhouse experiment, it was observed in the first evaluation that the isolate UFT-St02 provided increment of the dry matter of soybean plants (1.48 g) and total dry mass (2.18 g). In the second evaluation, the best results for these parameters were observed with the isolate UFT-St07, with 6.01 and 7.05 g, respectively. For the field experiment, the results showed that the different inoculant dosages were efficient in maintaining the final stand of plants, and the best dose was 300 mL for each 50 kg of seed, which favored a higher grain yield (3.290,1 kg ha⁻¹). Thus, this study shows that *Streptomyces* spp. has potential of use as a biofertilizer being potentials in the growth and incorporation of biomass in soybean plants, in addition to favoring productivity.

Keywords: *Glycine max* L.; growth promotion; biomass; biofertilizer.

3.3 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é umas das culturas de grande importância socioeconômica, se destacando como uma das principais culturas agrícolas do país. É uma excelente fonte de proteínas, ácidos graxos saturados e insaturados, algumas vitaminas, além de diversos outros compostos importantes, como por exemplo os polifenólicos (ÁVILA et al., 2007).

Os Estados Unidos da América (EUA) vêm se destacando como o maior produtor mundial de soja, seguido pelo Brasil. Estima-se que a produção de soja em 2017/2018 seja de 115,8 milhões de toneladas (USDA, 2017). O Brasil teve uma supersafra de grãos em 2016/2017. Além de estar entre as principais culturas de exportação, a soja tem sido um grande destaque no âmbito nacional e internacional (MAPA, 2017).

O Estado do Tocantins faz parte da região MATOPIBA (região de interface entre os Estados do Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia). A safra de grãos de soja para a região teve produtividade acima de 2.900 kg ha⁻¹, se comparada à safra passada, obtendo uma produtividade 55,3% superior (CONAB, 2017).

Com a crescente demanda por produtos livres de agrotóxicos e que causem um menor impacto sobre os recursos naturais, surge como uma alternativa os produtos a base de agentes biológicos, no qual tem crescido muito (MORANDI & BETTIOL, 2009). Para se obter grandes produtividades e reduzir os gastos com adubação e o manejo fitossanitário, atualmente tem se adotado pelos produtores o uso de micro-organismos promotores de crescimento vegetal. Pois as interações desses diferentes micro-organismos no solo são de suma importância para a manutenção da microbiota (fungos, bactérias, algas e vírus) do solo (HUNGRIA et al., 1994). Mendes (2012) alerta sobre a importância desses micro-organismos presentes no solo, por serem fundamentais para o processo de ciclagem de nutrientes, além de reguladores desse processo.

Dentre esses micro-organismos do solo as bactérias constituem o grupo mais numeroso. As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP) colonizam as raízes de plantas e levam um aumento no crescimento vegetal por mecanismos benéficos como a absorção de nutrientes, principalmente o nitrogênio, ferro e fósforo, e a síntese de fitohormônios (LUZ, 1996; VESSEY, 2003), além da

produção de antibióticos e enzimas líticas e induzir a resistência sistêmica (BONFANTE; ANCA, 2009; GLICK, 2012).

Os actinomicetos presentes nos solos ainda que pertençam ao mesmo grupo taxonômico das bactérias exercem funções importantes, além de ter características próprias e que se assemelham muito às realizadas pelos fungos (GALLI, 1964).

Entre os micro-organismos do solo, a bactéria *Streptomyces* apresenta grande potencial, devido a sua habilidade em produzir diversos compostos bioativos como enzimas, toxinas, antibióticos e promotores de crescimento (SAADOUN & GHARAIBEH, 2002). Desse modo, o presente estudo teve como objetivo selecionar isolados de *Streptomyces* spp., adaptadas a região do cerrado para a cultura da soja e avaliar o efeito das doses de *Streptomyces* ssp. sobre as características agronômicas da cultura.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Experimento 1 - Seleção de isolados em casa de vegetação

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. A temperatura média anual é de 27 °C e precipitação média anual de 1.600 mm, sendo verão chuvoso, inverno seco (Figura 1).

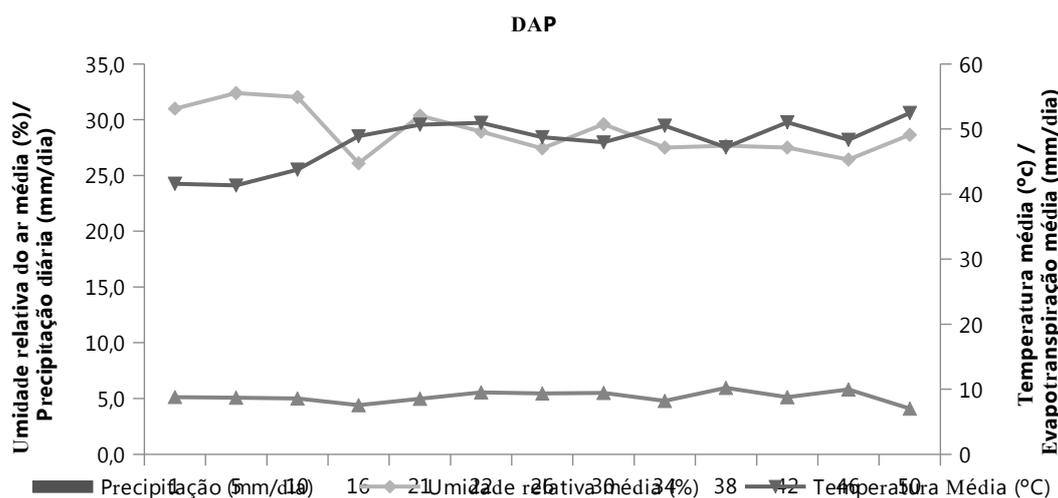


Figura 5. Variáveis meteorológicas em Dias Após Plantio (DAP) - Precipitação (mm/dia), Temperatura média (°C), Evapotranspiração média - ET₀ (mm/dia) e Umidade relativa média (%) observadas durante o período experimental na cultura da soja na Estação Experimental de UFT entre 29/07 e 18/09/2016 (Gurupi - TO).
Fonte: INMET/UFT.

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 nove isolados de *Streptomyces* ssp. 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 2^a 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 de mínima de 6×10^9 UFC mL⁻¹.

Para a instalação dos experimentos foram utilizados vasos com capacidade de 5 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.

Nos experimentos foram semeadas seis sementes por vaso e aos dez 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.

Foi utilizado o inoculante líquido a base de *Streptomyces* ssp. O produto foi formulado no Laboratório de Microbiologia da UFT *Campus* Gurupi. Para a produção do inoculante das cepas de *Streptomyces* ssp. inicialmente os discos (5 – 6 mm de diâmetro, 5 unidades) dos isolados do gênero *Streptomyces* spp. previamente cultivados (28 °C) em ágar BDA modificado (batata 20%, dextrose 2%, ágar 1,5% e amido 1%; água destilada; pH 6,8) foram adicionados em 100 mL de caldo Plate Cout - PC (peptona 0,5 %, extrato de levedura 0,25 %, glicose 0,1 %, água destilada, pH 6,8) e cultivados em mesa agitadora com movimentação orbital (Novatécnica®, 100 rpm, 28°C, 6 dias).

Os isolados de *Streptomyces* ssp. de solos de cerrado no Tocantins, apresentavam concentração mínima de 1×10^{10} UFC mL⁻¹, e foram aplicados direto na cova sobre as sementes (0,2 mL por cova), no momento do plantio.

O delineamento experimental utilizado constituiu-se de blocos inteiramente casualizados, com dez tratamentos e oito repetições.

Foram feitas duas avaliações no experimento, sendo a primeira avaliação feita aos 25 dias após a emergência (DAE) no estágio fenológico V3 e a segunda avaliação foi aos 55 DAE quando as plantas apresentavam floração plena, no estágio R2 da escala de Fehr et al. (1971).

Foram avaliados altura de planta (AP), diâmetro do caule (DC) e número de hastes (NH). Posteriormente, separou-se o sistema radicular da parte aérea das plantas e as raízes foram lavadas em água corrente para remoção do solo aderido e

medido o comprimento das raízes (CR) e os nódulos foram retirados cuidadosamente e contados. 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), massa seca total (MST) e massa seca dos nódulos (MSN).

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

3.4.2 Experimento 2 - Doses de *Streptomyces* ssp. em campo

O experimento de campo foi conduzido, também na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* Gurupi. As variáveis meteorológicas durante a condução do experimento estão na Figura 2.

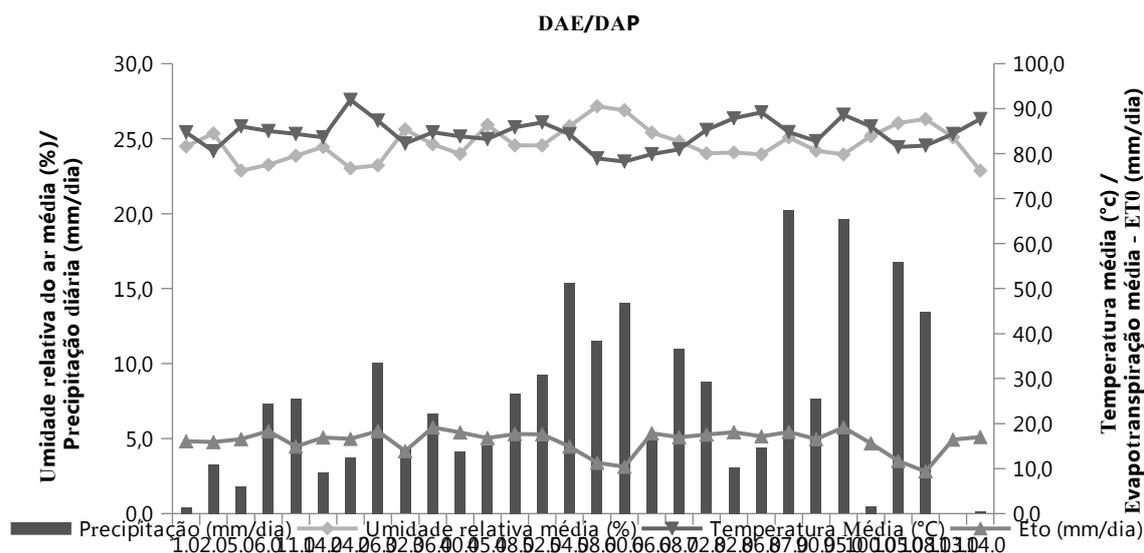


Figura 6. Variáveis meteorológicas em Dias Após Plantio (DAP) - Precipitação (mm/dia), Temperatura média (°C), Evapotranspiração média - ET0 (mm/dia) e Umidade relativa média (%) observadas durante o período experimental na cultura da soja na Estação Experimental de UFT entre 16/12/2016 e 08/04/2017 (Gurupi - TO). Fonte: INMET/UFT.

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.

O delineamento experimental utilizado, em cada ensaio, foi de blocos casualizados com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por cinco doses de inoculante a base de *Streptomyces* (0, 100, 200, 300 e 400 mL de inoculante de *Streptomyces* para cada 50 kg de sementes).

A cultivar de soja utilizada foi a M8615 IPRO que apresenta as seguintes características fenotípicas: porte semi-ereto, hábito de crescimento determinado, altura média de 85 cm, ciclo médio de 117 dias, grupo de maturidade 8.6. É de uma variedade tolerante a seca com boa resistência ao acamamento, possui alta estabilidade nas lavouras além de alta rentabilidade devido ao seu alto teto produtivo.

Foram realizadas as adubações de base (N-P-K+S+Ca+Micro) conforme recomendação para cultura e análise do solo no qual foi aplicado 400 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 0,4 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 100 mL 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 x 10⁹ com a finalidade de obter uma boa nodulação das raízes da planta, garantindo o suprimento de nitrogênio à cultura.

Durante o ciclo da cultura, foram realizados os manejos fitotécnicos e fitossanitários seguindo as recomendações de Henning (2009).

Foram realizadas três avaliações, sendo duas aos 20 e 55 dias após a emergência (DAE). 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). Com os dados de biomassa determinou a eficiência relativa de cada tratamento, calculada segundo a fórmula: $ER = (MSPA \text{ inoculada com os isolados} / MSPA \text{ sem inoculante}) \times 100$ (LIMA et al., 2005).

A terceira avaliação das plantas, de cada parcela experimental, foi realizada uma semana após a cultura ter apresentado 95% das vagens maduras aos 114 DAP, ou seja, no estágio R8 da escala de Fehr et al. (1971). A produção de grão foi obtida da área útil de 4 m², colhidas das linhas centrais. Após terem sido secas ao sol até alcançarem a umidade de 12%, as vagens foram debulhadas e as sementes pesadas e limpas, para determinação da produção de grãos.

A eficiência (E%) das doses de *Streptomyces* frente ao estande de plantas, foi calculada utilizando a equação: $E\% = \{1 - [T_i / T_c]\} \times 100$ no qual E% = eficiência do tratamento; T_i = média do estande final no tratamento; T_c = média do estande final no tratamento testemunha (GAVA; MENEZES, 2012).

3.4.3 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância com teste F, e as médias dos tratamentos agrupados pelo teste de Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico Assistat (SILVA, 2014).

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Experimento 1 - Seleção de isolados em casa de vegetação

No experimento em casa de vegetação, foi avaliada a promoção de crescimento das culturas da soja em vasos com estirpes de *Streptomyces* ssp., em que alguns isolados mostraram-se promissores na promoção de crescimento e incremento da massa seca das culturas (Tabelas 1).

Tabela 5. Valores médios de altura, comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) de soja (M8210 IPRO) inoculado com isolados de *Streptomyces* em casa de vegetação, Gurupi -TO.¹

Isolados	Altura (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
25 DAE²					
UFT-St01	31,8 a	37,0 c	1,25 a	0,59 b	1,84 b
UFT-St02	34,3 a	43,3 b	1,48 a	0,70 a	2,18 a
UFT-St03	32,0 a	38,5 c	1,28 a	0,64 b	1,92 a
UFT-St04	33,3 a	42,8 b	1,20 a	0,71 a	1,91 a
UFT-St05	36,5 a	44,3 b	1,38 a	0,77 a	2,15 a
UFT-St06	33,3 a	42,5 b	1,18 a	0,67 b	1,85 b
UFT-St07	31,8 a	49,5 a	1,00 b	0,67 b	1,67 b
UFT-St08	30,8 a	50,8 a	1,25 a	0,73 a	1,98 a
UFT-St09	32,8 a	40,8 c	1,30 a	0,75 a	2,05 a
Testemunha	31,8 a	39,5 c	0,90 b	0,59 b	1,49 b
CV (%) ³	9,84 ^{NS}	7,72 ^{**}	13,94 ^{NS}	9,33 ^{**}	11,41
55 DAE					
UFT-St01	38,2 e	40,3 a	2,26 c	1,10 a	3,36 c
UFT-St02	42,0 d	42,5 a	2,95 c	1,18 a	4,13 c
UFT-St03	46,2 c	44,8 a	3,30 b	1,34 a	4,64 c
UFT-St04	43,6 d	37,0 b	2,71 c	1,02 a	3,73 c
UFT-St05	44,6 d	37,5 b	2,72 c	1,28 a	4,00 c
UFT-St06	50,8 a	38,8 b	4,05 b	1,25 a	5,30 b
UFT-St07	55,4 a	34,3 b	6,01 a	1,04 a	7,05 a
UFT-St08	49,2 b	35,5 b	3,43 b	1,25 a	4,68 c
UFT-St09	49,8 b	39,5 a	3,81 b	1,27 a	5,08 b
Testemunha	38,0 e	35,3 b	2,07 c	1,00 a	3,07 c
CV (%) ³	5,94 ^{**}	9,92 ^{**}	19,48	17,81	16,73

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ² DAE = dias após a emergência. ³ CV = coeficiente de variação. ^{NS} Não significativo. ^{**}Significativo a 1%.

Na primeira avaliação aos 25 DAE, para o parâmetro altura, nenhum tratamento diferiu estatisticamente da testemunha. Para o parâmetro comprimento da raiz (CR), os isolados UFT-St07 (49,5 cm) e UFT-St08 (50,8 cm) foram superiores ($p < 0,05$) aos outros tratamentos e a testemunha (Tabela 1).

Para a característica massa seca da parte aérea (MSPA) todos os isolados foram superiores a testemunha sem inoculação, exceto o isolado UFT-St07. Em relação à massa seca da raiz (MSR) observaram-se melhores resultados com os isolados UFT-St02 (0,70 g), UFT-St04 (0,77 g), UFT-St05 (0,77 g), UFT-St08 (0,73 g) e UFT-St09 (0,75 g) ($p < 0,05$). Já para massa seca total (MST) os isolados UFT-St02, UFT-St03, UFT-St04, UFT-St05, UFT-St08 e UFT-St09 foram superiores ($p < 0,05$) aos demais isolados, com 2,18, 1,92, 1,91, 2,15, 1,98 e 2,05 g, respectivamente (Tabela 1).

Para a segunda avaliação aos 55 DAE, para o parâmetro altura, os tratamentos UFT-St06 e UFT-St07 (Figura 4) foram superiores aos demais, com 50,8 e 55,4 cm respectivamente (Tabela 1). Para CR, os isolados UFT-St01, UFT-St02, UFT-St03 e UFT-St09 foram superiores ($p < 0,05$) aos outros tratamentos e a testemunha (Tabela 1), conforme observado também na Figura 3.

Para o parâmetro MSPA apenas os tratamentos UFT-St07 (6,01 g) foram estatisticamente superior aos demais e à testemunha. O parâmetro MSR não apresentou diferença estaticamente, mas os isolados apresentaram médias superiores a testemunha (Tabela 1).

E para MST o melhor tratamento ($p < 0,05$) foi UFT-St07 (7,05 g), seguido pelos tratamentos UFT-St06 (5,30 g) e UFT-St09 (5,08 g) superiores ($p < 0,05$) a testemunha (Tabela 1).



Figura 7. Raízes de plantas de soja cv. M8210 IPRO inoculado com isolados de *Streptomyces* em casa de vegetação, Gurupi -TO.: A, UFT-St01; B, UFT-St02; C, UFT-St03; D, UFT-St09. Esquerda: Isolados; Direita: Testemunha.

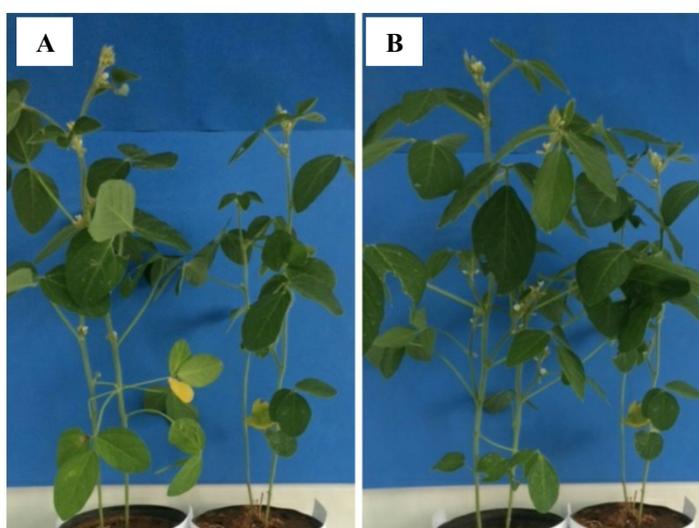


Figura 8. Altura de plantas de soja cv. M8210 IPRO) inoculado com isolados de *Streptomyces* em casa de vegetação, Gurupi -TO.: A, UFT-St06; B, UFT-St07. Esquerda: Isolados; Direita: Testemunha.

Para o número de nódulos (NN) e massa seca de nódulos (MSN) nenhum tratamento diferiu estatisticamente da testemunha pelo teste F (Tabela 2). Lembrando que todos os tratamentos da cultura da soja incluindo a testemunha foram inoculados antes do plantio com inoculante a base de *Bradyrhizobium japonicum* com uma concentração mínima de 6×10^9 .

Tabela 6. Valores médios de número de nódulos (NN) e massa seca dos nódulos (MSN) de soja (M8210 IPRO) inoculado com *Streptomyces*, em casa de vegetação, Gurupi -TO.¹

Isolados	NN	MSN (mg)
UFT-St01	48,3 a	60,1 a
UFT-St02	57,8 a	71,7 a
UFT-St03	63,5 a	71,8 a
UFT-St04	51,8 a	67,3 a
UFT-St05	57,0 a	70,8 a
UFT-St06	71,0 a	62,5 a
UFT-St07	60,5 a	67,5 a
UFT-St08	59,3 a	67,5 a
UFT-St09	56,0 a	63,5 a
Controle	48,1 a	60,0 a
CV (%) ²	18,67 ^{NS}	16,75 ^{NS}

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ² Coeficiente de variação. ^{NS} Não significativo.

Em relação à eficiência relativa dos isolados (ER) (Figura 5), que relaciona a biomassa da parte aérea dos tratamentos inoculados com isolados de *Streptomyces* e a testemunha, aos 25 DAE para a cultura da soja, as melhores médias foram encontradas com a inoculação dos isolados UFT-St05 e UFT-St02 com aumento da ER de 62% (UFT-St05) e 49% (UFT-St02) em relação à testemunha. Podemos destacar também os tratamentos UFT-St04 e UFT-St06 ambos apresentaram uma ER de 41% e todos os tratamentos foram maiores que a testemunha.

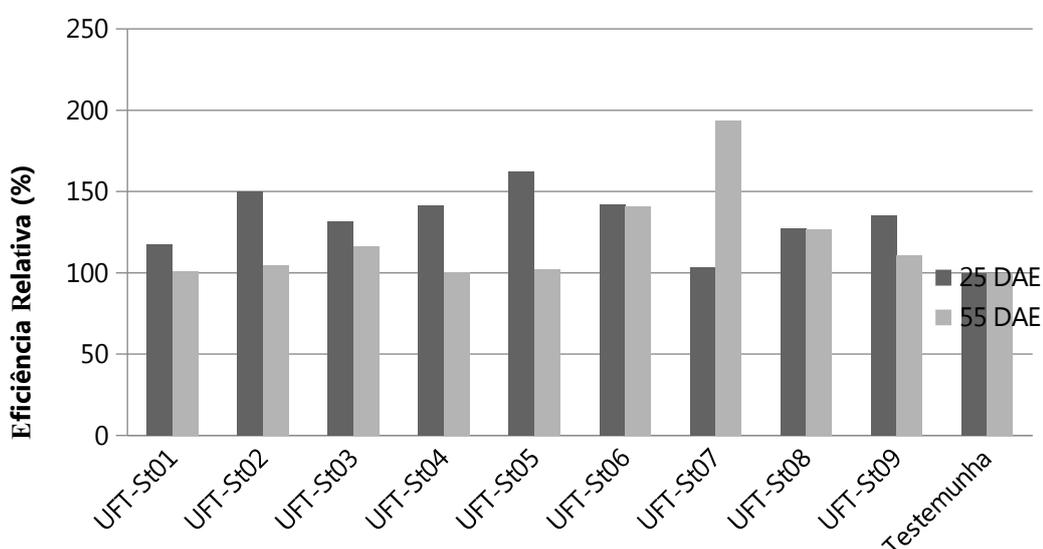


Figura 9. Eficiência relativa de plantas de soja (M8210 IPRO) aos 25 e 55 DAE, inoculados com isolados de *Streptomyces* ssp. em relação à testemunha sem inoculação, em Gurupi - TO.

Aos 55 DAE, as maiores médias foram encontradas com a inoculação dos isolados UFT-St06 e UFT-St07 com aumento da ER de 41% (UFT-St07) e 93% (UFT-St06) em relação à testemunha. Pode-se destacar que todos os tratamentos foram superiores à testemunha (Figura 5).

3.5.2 Experimento 2 - Doses de *Streptomyces* ssp. em campo

Na avaliação da MSPA aos 20 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 300, 400 e 200 mL/50 kg sementes, sendo de 17,2, 16,8 e 16,5 g, onde se observa que as mesmas não diferiram estatisticamente. Não houve diferença entre a dose de 100 mL em relação à testemunha (Tabela 3).

Tabela 7. Valores médios de massa seca da parte aérea (MSPA) de soja cv. M8615 IPRO, estande inicial (EI), estande final (EF) e eficiência (E) inoculados com diferentes doses (100, 200, 300 e 400 mL / 50 kg semente) com MIX de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) cultivado no cerrado em Gurupi -TO. Safra 2016/2017.¹

Tratamentos	MSPA (g)	MSPA (g)	EI	EF	E ⁴
	20 DAE ²	50 DAE ²	20 DAE	85 DAE	(%)
100 mL	12,1 b	22,8 a	54,5 a	51,7 a	15,5
200 mL	16,5 a	25,0 a	56,7 a	53,5 a	11,1
300 mL	17,2 a	27,6 a	56,5 a	53,7 a	24,4
400 mL	16,8 a	27,2 a	57,2 a	56,0 a	31,1
Testemunha	10,8 b	15,6 b	50,7 a	44,2 b	-
CV (%) ³	15,16**	11,77**	5,68 ^{NS}	6,78**	-

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 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 50 DAE, todos os tratamentos foram superiores ($p < 0,05$) em relação à testemunha, com maiores médias para a dosagem de 300 mL (27,6 g).

Quanto a avaliação do estande inicial (EI), não houve diferença significativa entre os tratamentos. Já para o estande final (EF) todas as dosagens foram superiores ($p < 0,01$) em relação aos da testemunha sem inoculação.

A eficiência das dosagens quanto à sobrevivência e ao número de plantas efetivamente em produção, foi demonstrado na manutenção do estande de plantas. A dosagem de 400 mL foi superior com 31,1%, seguidas das dosagens de 300, 100 e 200 mL, com uma eficiência de 24,4%, 15,5% e 11,1%, respectivamente (Tabela 3).

Para as características de altura (AL), quantidade de entre nós (EN) todos os tratamentos com inoculação de *Streptomyces* foram superiores ($p < 0,01$) em relação à testemunha sem inoculação (Tabela 4). Para AL as melhores dosagens foram de 300 e 400 mL com plantas de soja com média de 102,8 e 103,9 cm, respectivamente, seguindo das dosagens de 100 e 200 mL que tiveram as maiores médias com 99,6 e 100,0 cm, simultaneamente (Tabela 4).

Tabela 8. 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 (100, 200, 300 e 400 mL / 50 kg semente) com MIX de isolados de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) cultivado no cerrado em Gurupi -TO. Safra 2016/2017.¹

Tratamentos	AL (cm)	EN	NV	NG	Prod. (kg ha ⁻¹)
100 mL	99,6 b	17,0 b	85,9 b	171,6 b	2.319,6 b
200 mL	100,0 b	18,7 a	105,1 a	210,8 a	2.711,7 a
300 mL	102,8 a	19,0 a	110,6 a	225,0 a	3.290,1 a
400 mL	103,9 a	19,3 a	101,1 a	231,3 a	3.002,0 a
Testemunha	95,2 c	15,2 c	81,3 b	149,4 b	1.900,1 b
CV (%) ³	12,28**	3,77**	16,41**	18,79**	11,13**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ² DAE = Dias após a emergência. ³ CV = Coeficiente de variação. ******Significativo a 1%.

Para a característica de EN todas as dosagens foram superiores a da testemunha, destacando-se a de 200, 300 e 400 mL, seguido da dosagem de 100 mL. Quanto ao NV não houve diferença significativa entre a testemunha e a dosagem de 100 mL. Para o NG os tratamentos com a inoculação nas doses de 200, 300 e 400 mL foram superiores ($p < 0,01$) em relação aos demais tratamentos (Tabela 4).

Em relação à produtividade os tratamentos com as doses de *Streptomyces* foram superiores ($p < 0,01$) em relação à testemunha sem inoculação, variando de 2711,7 (45,1 sacas ha^{-1}) a 3290,1 (54,8 sacas ha^{-1}) $kg ha^{-1}$, representando um aumento acima de 42% em relação à testemunha (Tabela 4). As doses de 200 a 400 mL não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$).

Quanto a ER das doses testadas em campo com a cultivar M8615 IPRO, tanto aos 20 e 50 DAE, todos os tratamentos foram superiores à testemunha (Figura 6). Podendo se destacar com uma melhor eficiência o tratamento dose de 300 mL que foi superior em ambas as avaliações aos 20 e 50 DAE com 126% e 142%, sucessivamente.

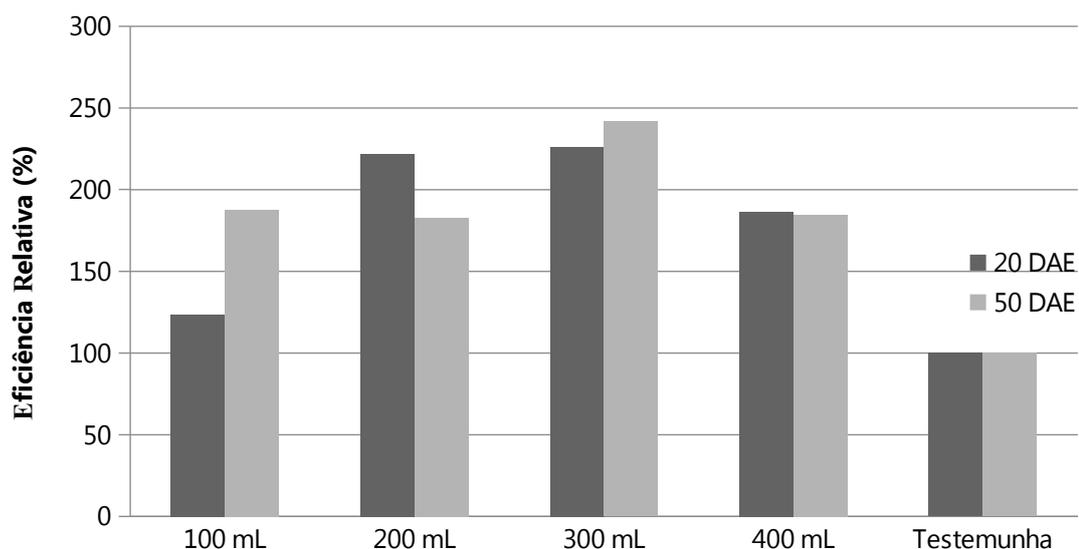


Figura 10. Eficiência relativa de soja, inoculados com diferentes doses, 0 (testemunha), 100, 200, 300 e 400 mL de Inoculante de *Streptomyces* para cada 50 Kg de sementes aos 25 DAE e aos 50 DAE em relação à testemunha sem inoculação, em Gurupi – TO. Safra 2016/2017.

Na avaliação de 20 DAE podemos dar destaque também nos tratamentos com as doses de 200 e 400 mL que proporcionaram incremento na biomassa da parte aérea da soja de 122 e de 86%, respectivamente. Com relação à testemunha aos 50 DAE as maiores médias foram obtidas pelos tratamentos com as doses de 300 (142%), 100 (88%) e 400 mL (85%), respectivamente.

3.6 DISCUSSÕES

A promoção de crescimento em plantas está ligada diretamente com a rizosfera que é a zona de contato entre solo e raízes. As rizobactérias tem a capacidade de solubilizar fosfato e de produzir metabólitos diretamente relacionados ao crescimento da planta, como auxinas, giberelinas e citocininas. Além disso, sintetizam antibióticos, sideróforos e ácido hidrocínâmico que reduzem a atividade de patógenos (GRAÇAS, 2015). Tal fato é observado nas diversas características agronômicas avaliadas, como altura de plantas, comprimento de raiz, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca total (Tabela 1).

Tiwari & Gupta (2014) ressaltam a importância da produção de antibióticos produzidos por *Streptomyces* no controle de micro-organismos patogênicos e na utilização de produtos naturais, destacando a produção de compostos bioativos raros e o potencial. Além disso, é de suma importância destacar que a microbiota do solo contém distintas espécies que podem exercer interação, seja ela positiva ou negativa. As afinidades entre os organismos influencia em diversos processos do solo como mineralização, controle biológico de pragas e doenças, ciclagem de nutrientes, formação de húmus, equilíbrio biológico e fixação biológica de nitrogênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Em um estudo avaliando a doença da ferrugem da bainha de arroz em casa de vegetação utilizando um filtrado de cultura de *Streptomyces* sp. foi obtido um controle médio acima de 60% da doença, além de plantas mais vigorosas e saudáveis, quando comparadas com a testemunha (BOUKAEW; PRASERTSAN, 2014), ou seja, plantas mais saudáveis, apresentaram melhores performances das características agronômicas avaliadas.

Os resultados do presente trabalho demonstram a eficiência dos isolados de *Streptomyces* ssp. frente ao tratamento sem inoculação, o que pode ser explicado devido a ser característico das *Streptomyces* ssp. produzirem diversos compostos

bioativos como enzimas, toxinas, antibióticos e serem promotores de crescimento (SAADOUN; GHARAIBEH, 2002).

Os diversos estudos observados se concentram em aferir o sinergismo de micro-organismos em campo, isso porque os efeitos da interação são dependentes de muitos fatores, como por exemplo a espécie e estirpe de micro-organismo (GRAÇAS, 2015). E que o gênero *Streptomyces* é apontado na literatura frequentemente como excelente produtor de vários metabólitos bioativos úteis, como antibióticos (NGUYEN et al., 2015).

A promoção de crescimento de algumas cepas de *Streptomyces* está diretamente relacionada com capacidade de produzir substâncias benéficas para as plantas. Um isolado de *Streptomyces* obtido a partir de solos rizosféricos de arroz foi capaz de produzir AIA (30,5 µg / mL), solubilizar fosfato inorgânico (até 102 µg / mL) e produzir 69% de unidades de sideróforo (TAMREIHAO et. al., 2016).

Sreevidya et al. (2016) dedicaram em isolar e caracterizar os actinomicetos responsáveis pela promoção de crescimento de plantas de grão-de-bico. Os resultados apontaram que quatro actinomicetos exibiram aumento no número de nódulos, peso e rendimento nas plantas. As parcelas tratadas com actinomicetos aumentaram o N total, o P disponível e o C orgânico sobre o controle não inoculado. Além disso, os perfis de expressão para os genes ácido indol acético, sideróforo e 1,3-glucanase exibiram regulação para os três traços nos isolados testados. Os actinomicetos foram identificados como *Streptomyces*, mas espécies diferentes na análise do rDNA 16S.

A literatura também traz estudos sobre promoção de crescimento em plantas com as mais diversas espécies. Como é o caso do estudo de Qin et al. (2017), em que se avaliou o potencial de *Pseudochrobactrum kiredjianaie* para o controle biológico e atividade de promoção do crescimento da planta. Os resultados em casa de vegetação mostraram que a bactéria melhorou os parâmetros fisiológicos e reduziu as atividades das enzimas de defesa do trigo (*Triticum aestivum* L.) na presença do patógeno *Rhizoctonia cerealis*.

Em outro estudo, bactérias endofíticas foram avaliadas em casa de vegetação para o controle biológico da mancha foliar de *Exserohilum turcicum* em milho. Os autores observaram que eficiência das bactérias *Bacillus lentimorbus*, *Xanthomonas axonopodis*, *Ewingella americana* e *Streptomyces* sp., com um

controle entre 37 e 59% quando aplicadas nas sementes (SHIOMI; MELO; MINHONI, 2015).

No presente estudo foi observado que a aplicação das doses do inoculante *Streptomyces* resultou em redução significativa na mortalidade de plantas de soja e uma melhor manutenção do estande final de plantas. Um estudo com sementes de milho avaliou que isolados de *Streptomyces* são capazes de reduzir a incidência de micro-organismos fitopatógenos (fungos e bactérias) em até 90% (BRESSAN; FIGUEIREDO, 2001), diminuindo a mortalidade das plântulas, causadas por doenças ligadas às sementes. As sementes tratadas com *Streptomyces corchorusii*, apresentaram um elevado índice de vigor nas plântulas, além de apresentarem resultados de condições desfavoráveis à patógenos associados (TAMREIHAO et. al., 2016).

De acordo com Prabavathy et al. (2006) cerca de 80% actinobactérias conhecidas são do gênero *Streptomyces* ssp.. Em um outro estudo, Oliveira et. al. (2010) avaliou 70 actinobactérias como possíveis agentes de controle biológico em plantas de tomateiro e dos micro-organismos testados, 88,6% exibiram atividade antimicrobiana contra pelo menos um fitopatógeno, 72,1% exibiram reação positiva para a produção de ácido indolacético, 86,8% produziram sideróforos e 16,2% apresentaram reação positiva para a solubilidade do fosfato. Isso pode estar ligado as diversas características agrônômicas avaliadas que foram superiores à testemunha sem inoculação do micro-organismo.

Em outro estudo com arroz, foram avaliados dois compostos alifáticos antifúngicos, obtidos de *Streptomyces* onde foi significativamente maior no rendimento de grãos de arroz do que na testemunha (PRABAVATHY et. al., 2006)

Em um estudo de avaliação de uma estirpe de *Streptomyces* isolada de solos de arroz foi observado que bactéria foi capaz de promover um crescimento significativo na incorporação de biomassa, além de aumentar produção de rendimento de grãos de arroz (TAMREIHAO et. al., 2016).

Um estudo de campo com arroz, avaliando estirpes de *Streptomyces* isoladas de vermicomposto de ervas, apontou que as estirpes foram capazes de aumentar significativamente o número de calhas, números de panícula, números de grãos e peso, rendimento de farinha, rendimento de grãos, MST, CR, volume e peso seco sobre a testemunha. Na rizosfera, foram capazes de aumentar significativamente o nitrogênio total, o fósforo disponível, % de carbono orgânico e a

biomassa microbiana de carbono sobre o controle não inoculado (GOPALAKRISHNAN et. al., 2014).

Um estudo de Singh e Gaur (2017), avaliou a indução de genes reguladores de defesa e confere resistência contra *Sclerotium rolfsii* a partir de isolados de *Streptomyces* ssp. endófito em plantas de grão-de-bico. Foi possível observar que a via de defesa do grão-de-bico é desencadeada após a percepção dos endófitos para sintetizar várias enzimas, o que levou a uma resistência induzida contra *S. rolfsii*.

Segundo Rodriguez e Fraga (1999) as bactérias promotoras de crescimento excitam o crescimento da planta diretamente pela solubilização de nutrientes. Além da fixação do nitrogênio (HAN et. al., 2005), e a produção de hormônios de crescimento como AIA (CORREA et. al., 2005).

É apresentado que 80% dos micro-organismos isolados da rizosfera das culturas têm a capacidade de sintetizar e liberar auxinas como metabólitos secundários que são conhecidos por causar o alongamento das raízes e o crescimento das plantas (PATTEN; GLICK, 2002).

Diversos autores relatam o potencial de promoção de crescimento das *Streptomyces* spp. (TOKALA et al., 2002; SREEVIDYA et al., 2016; (GOPALAKRISHNAN et al., 2002).

Sadeghi et al., (2012) avaliou a promoção de crescimento de plantas de isolados de *Streptomyces*. e constatou que houve aumentos significativos na taxa de germinação, porcentagem e uniformidade, comprimento e peso seco em comparação com a testemunha. A aplicação dos inóculos bacterianos aumentou a concentração de N, P, Fe e Mn em brotos de trigo cultivados em solo normal e salino.

A capacidade de biocontrole e o comportamento de colonização de *Streptomyces mutabilis* em mudas de trigo foram avaliados e os autores observaram que a estirpe secreta AIA e GA3 e é capaz de aumentar o crescimento de mudas de trigo. Além disso, os resultados mostraram que as sementes revestidas com a estirpe puderam reduzir a ocorrência da doença causada por *Fusarium culmorum* (TOUMATIA et al., 2016).

3.7 CONCLUSÕES

Em casa de vegetação, na primeira avaliação o isolado UFT-St02 proporcionou incremento da massa seca das plantas de soja e massa seca total. Na segunda avaliação, melhores resultados para tais parâmetros foram observados com o isolado UFT-St07.

No experimento em campo as diferentes dosagens do inoculante mostraram-se eficientes na manutenção do estande final de plantas, sendo que a melhor dose do MIX de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) foi de 300 mL para cada 50 kg de semente, com maior produtividade de grãos.

Dessa forma, foi possível observar que na cultura da soja, as *Streptomyces* tem potencial para serem utilizadas como biofertilizante por apresentarem potencial no crescimento e incorporação de biomassa em plantas de soja, além de favorecer a produtividade.

3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. D. L.; SCAPIM, C. A.; MANDARINO, J. M. G.; ALBRECHT, L. P.; VIDIGAL FILHO, P. S. Componentes do rendimento, teores de isoflavonas, proteínas, óleo e qualidade das sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 111–127, 2007.

BONFANTE, P.; ANCA, I. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. **Annual review of microbiology**, v. 63, p. 363-383, 2009.

BOUKAEW, S.; PRASERTSAN, P. Suppression of rice sheath blight disease using a heat stable culture filtrate from *Streptomyces philanthi* RM-1-138. **Crop Protection**, v. 61, p. 1–10, 2014.

BRESSAN, W.; FIGUEIREDO, J. E. F. Potencial de isolados de *Streptomyces* spp. no controle de *Stenocarpella maydis* em sementes de milho. **Embrapa - Comunicado Técnico**, p. 1–4, 2001.

CONAB: COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira: café. **Monitoramento agrícola- Safra 2017**, v. 4, n. 1, p. 1–98, 2017.

CORREA, J. D; LEÓN, B. M.; PÉREZ, G. R. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Islands. **Plant and Soil**, v. 266, n. 1–2, p. 261–272, 2005.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, p. 306. 2009.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E.; BURMOOD, D. T.; PENNINGTON, J. S. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop science**, v. 11, n. 6, p. 929-931, 1971.

GALLI, F. Microrganismos do solo. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 21, p. 247–252, 1964.

GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 633-640, 2012.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v. 2012, p. 1–15, 2012.

GOPALAKRISHNAN, S.; KIRAN, B. K.; HUMAYUN, P.; VIDYA, M. S.; DEEPTHI, K.; JACOB, S.; RUPELA, O. Biocontrol of charcoal-rot of sorghum by actinomycetes isolated from herbal vermicompost. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 79, p. 18142–18152, 2002.

GOPALAKRISHNAN, S.; VADLAMUDI, S.; BANDIKINDA, P.; SATHYA, A.;

VIJAYABHARATHI, R.; RUPELA, O.; VARSHNEY, R. K. Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in rice. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 40–48, 2014.

GRAÇAS, J. P. Microrganismos estimulantes na agricultura. **Série Produtor Rural**, v. 59, 2015.

HENNING, A. A. Manejo de doenças da soja (*Glycine max* L. Merrill). **Informativo ABRATES**, v. 19, n. 3, p. 9-12, 2009.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. Microrganismos de importância agrícola. **Brasília: Embrapa/SPI**, p. 236, 1994.

HAN, J.; SUN, L.; DONG, X.; CAI, Z.; SUN, X.; YANG, H.; SONG, W. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 28, n. 1, p. 66–76, 2005.

KÖPPEN, W. Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra. **Fondo de Cultura Económica**. México. p. 479, 1948.

LIMA, A. S.; PEREIRA, J. P. A. R.; MOREIRA, F. M. S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. de solos da Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1095-1104, 2005.

LUZ, W. C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, n. 2, p. 1-96, 1996.

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: 19 set. 2017.

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

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente**, p. 7–15, 2009.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e biotecnologia do solo. p. 729, 2006.

NGUYEN, L. T.; SCHMIDT, H. A.; VON, H. A.; MINH, B. Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. **Molecular biology and evolution**, v. 32, n. 1, p. 268–274, 2015.

OLIVEIRA, M. F.; SILVA, M. G.; VAN DER SAND, S. T. Anti-phytopathogen potential of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in southern Brazil, and characterization of *Streptomyces* sp. R18(6), a potential biocontrol agent. **Research in Microbiology**, v. 161, n. 7, p. 565–572, 2010.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 8, p. 3795–801, 2002.

PRABAVATHY, V. R.; MATHIVANAN, N.; MURUGESAN, K. Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. PM5. **Biological Control**, v. 39, n. 3, p. 313–319, 2006.

QIN, Y.; FU, Y.; KANG, W.; LI, H.; GAO, H.; VITALIEVITCH, K. S.; LIU, H. Isolation and identification of a cold-adapted bacterium and its characterization for biocontrol and plant growth-promoting activity. **Ecological Engineering**, v. 105, p. 362–369, 2017.

RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v. 17, n. 4–5, p. 319–339, 1 out. 1999.

SAADOUN, I.; GHARAIBEH, R. The *Streptomyces* flora of Jordan and its' potential as a source of antibiotics active against antibiotic-resistant Gram-negative bacteria. **Journal of Microbiology & biotechnology**, v. 18, p. 465–470, 2002.

SADEGHI, A. KARIMI, E.; DAHAJI, P. A.; JAVID, M. G.; DALVAND, Y.; ASKARI, H. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1503–1509, 2012.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, p. 507-512, 1974.

SHIOMI, H. F.; MELO, I. S. DE; MINHONI, M. T. DE A. Avaliação de bactérias endofíticas para o controle biológico da mancha foliar de *Exserohilum turcicum* em milho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, n. 0, p. 1–4, 2015.

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.

SINGH, S. P.; GAUR, R. Endophytic *Streptomyces* spp. underscore induction of defense regulatory genes and confers resistance against *Sclerotium rolfsii* in chickpea. **Biological Control**, v. 104, p. 44–56, 1 jan. 2017.

SREEVIDYA, M.; GOPALAKRISHNAN, S.; KUDAPA, H.; VARSHNEY, R. K. Exploring plant growth-promotion actinomycetes from vermicompost and rhizosphere soil for yield enhancement in chickpea. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 390–392, 2016.

TAMREIHAO, K. NINGTHOUJAM, D. S., NIMAICHAND, S., SINGH, E. S., REENA, P., SINGH, S. H., NONGTHOMBA, U. Biocontrol and plant growth promoting activities of a *Streptomyces corchorusii* strain UCR3-16 and preparation of powder formulation for application as biofertilizer agents for rice plant. **Microbiological Research**, v. 192, p. 260–270, 2016.

TIWARI, K.; GUPTA, R. K. Bioactive Metabolites from Rare Actinomycetes. **Studies**

in natural products chemistry, v. 41, p. 419–512, 2014.

TOKALA, R. K.; STRAP, J. L.; JUNG, C. M.; CRAWFORD, D. L.; SALOVE, M. H.; DEOBALD, L. A.; MORRA, M. J. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 5, p. 2161–71, 2002.

TOUMATIA, O.; COMPANT, S.; YEKKOUR, A.; GOUDJAL, Y.; SABAOU, N.; MATHIEU, F.; ZITOUNI, A. Biocontrol and plant growth promoting properties of *Streptomyces mutabilis* strain IA1 isolated from a Saharan soil on wheat seedlings and visualization of its niches of colonization. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 234–239, 2016.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Soybean crop in the world 2016/2017**. Disponível em: <http://www.usda.gov>. Acesso em 10 setembro de 2017.

VESSEY, J. K.; BUSS, T. J. *Bacillus cereus* UW85 inoculation effects on growth, nodulation, and N accumulation in grain legumes: controlled-environment studies. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 82, n. 2, p. 282-290, 2002.

4 EFICIÊNCIA DE *Streptomyces* spp. NO CRESCIMENTO, NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE FEIJÃO CAUPI

4.1 RESUMO

O feijão-caupi é uma cultura de grande importância alimentar; no entanto, possui baixa produtividade devido ao baixo nível tecnológico. E para se alcançar melhores produtividades, diversos estudos relacionados com a seleção de micro-organismos têm sido observados. Dessa forma, o presente trabalho objetivou selecionar por meio de estudos de eficiência agrônômica, cepas de *Streptomyces* spp. para serem utilizadas como inoculantes para a cultura do feijão-caupi na região e avaliar o efeito das doses sobre a cultura. A seleção de isolados foi conduzida em casa de vegetação com a inoculação de nove isolados de *Streptomyces* spp. em feijão caupi. Foram feitas duas avaliações no experimento, aos 20 e 45 dias após a emergência (DAE). Após isso, foi avaliado o efeito de diferentes doses de *Streptomyces* spp., tanto em casa de vegetação quanto em campo. Foi utilizado a cultivar de feijão caupi Sempre Verde BRS Rouxinol e os tratamentos foram constituídos por cinco doses de inoculante (0; 100, 200, 300 e 400 ml de inoculante de *Streptomyces* spp. para cada 50 Kg de sementes), sendo as avaliações realizadas aos 20, 50 e 75 DAE em casa de vegetação e aos 20, 50 e 77 DAE em campo. Quanto à avaliação de seleção dos isolados observou-se que para o parâmetro diâmetro do caule destacaram-se as estirpes UFT- St06 (4,48 mm) e UFT-St07 (4,17 mm). Além disso, estirpes UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08 foram as que apresentaram melhor eficiência relativa dos isolados (ER), com 23, 30 e 21%, respectivamente. Quanto ao efeito das doses, em casa de vegetação as melhores doses foram de 300 e 400 ml/50 kg sementes para todos os parâmetros avaliados. A melhor eficiência relativa foi observada com tratamento com 300 mL nas duas avaliações (20 e 50 DAE). O experimento de doses em campo confirmou os resultados obtidos no experimento em casa de vegetação, sendo que a maior produtividade de grãos foi obtida com a dosagem de 300 mL (1.113,5 kg ha⁻¹). Portanto, pode-se observar que o gênero *Streptomyces* é um agente promissor em virtude da produção de diversos metabólitos de interesse.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* L.; promoção de crescimento; produtividade.

4.2 ABSTRACT

Cowpea is a very important food crop; however, it has low productivity due to the level of the technological level. And to achieve better productivity, several studies related to the selection of micro-organisms have been observed. Thus, the present work aimed to select, through agronomic efficiency studies, strains of *Streptomyces* ssp. known as inoculants for a bean cowpea crop in the region and to evaluate the effect of the doses on a crop. A selection of isolates was conducted in a greenhouse with an inoculation of nine isolates of *Streptomyces* ssp. in cowpea beans. Two evaluations were performed without experience, at 20 and 45 days after emergence (AED). After that, the effect of different doses of *Streptomyces* ssp., both in the greenhouse and in the field, was evaluated. A cultivar of Sempre Verde BRS Rouxinol cowpea was used and the treatments consisted of five inoculant doses (0, 100, 200, 300 and 400 mL of *Streptomyces* ssp. inoculant, for each 50 kg of seeds), being reviewed in 20, 50 and 75 DAE in greenhouse and at 20, 50 and 77 DAE in the field. Regarding the evaluation of the selection of the isolates, it was observed that UFT-St06 (4.48 mm) and UFT-St07 (4.17 mm) strains were distinguished for the stem diameter parameter. In addition, UFT-St03, UFT-St06 and UFT-St08 strains showed a better relative efficiency of the isolates (ER), with 23, 30 and 21%, respectively. As for the effect of doses, in greenhouse as better doses of 300 and 400 mL/50 kg seeds for all parameters. And the best observation efficiency with 300 mL treatment in both evaluations (20 and 50 DAE). The field dose experiment confirmed the results obtained without greenhouse experimentation, and a higher grain yield was obtained with a dosage of 300 ml (1.113,5 kg ha⁻¹). Thus, one can observe the genus *Streptomyces* is a promising agent due to the production of several metabolites of interest.

Keywords: *Vigna unguiculata* L.; growth promotion; productivity.

4.3 INTRODUÇÃO

O feijão-de-corda, feijão-caupi ou feijão-macassar (*Vigna unguiculata* L. Walp.) abrange uma área de aproximadamente 713,4 mil hectares atualmente (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). Trata-se de um alimento essencial na mesa das famílias de baixa renda, além de ser um excelente componente alimentar com fonte de proteínas, contendo todos os aminoácidos essenciais, carboidratos, vitaminas e minerais. Possui alta presença de fibras dietéticas, baixa quantidade de gordura e não contém colesterol (ALMEIDA et al., 2010).

Além de sua grande importância alimentar nas regiões norte e nordeste, o feijão-caupi teve acréscimo da área semeada em todas as safras, porém a cultura apresenta uma baixa produtividade devido ao baixo nível tecnológico (CONAB, 2017), fazendo com que normalmente seja cultivado como agricultura de subsistência (AURAS; AMANCIO, 2015).

Existem diversos trabalhos de pesquisa utilizando novos inoculantes para aumentar a produtividade que são promissores para a cultura (ZILLI et al., 2009; CHAGAS JUNIOR et al., 2010; LACERDA et al., 2015). Entretanto, a introdução de inoculantes contendo esses micro-organismos é dificultada, pois estirpes nativas geralmente são muito competitivas e tem baixa eficiência na fixação do N₂ (BORGES et al., 2007).

Para se alcançar melhores produtividades, diversos estudos relacionados com a seleção de micro-organismos têm sido estudados. As actinobactérias promotoras de crescimento tem ganhado grande destaque por serem capazes de aumentar a produção de grãos e por serem uma das maneiras mais viáveis de se aumentar a produtividade agrícola (LINS, 2014). Os actinomicetos são bactérias gram positivas, pertencentes à ordem Actinomycetale (EMBLEY; STACKEBRANDT, 1994). São encontrados em sua grande maioria no solo, podendo ser encontrados também na água, plantas e associações com líquens (GONZÁLEZ et al., 2005).

O gênero *Streptomyces* é o gênero microbiano capaz de produzir todos os grupos de antibióticos, além de ser capaz de produzir muitos outros metabólitos secundários de grande importância econômica (TADDEI et al., 2006). Ainda há

pouco material na literatura sobre o real potencial das *Streptomyces* ssp. como promotoras de crescimento em plantas, além de uma lacuna para a utilização de inoculantes à bases de *Streptomyces* ssp. em feijão-caupi, bem como dosagem correta. Diante desse exposto, objetivou-se avaliar a eficiência de *Streptomyces* spp. no crescimento, nodulação e produtividade de feijão caupi.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Experimento 1 - Seleção de isolados em casa de vegetação

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. A temperatura média anual é de 27° C e precipitação média anual de 1.600 mm, sendo verão chuvoso, inverno seco (Figura 1).

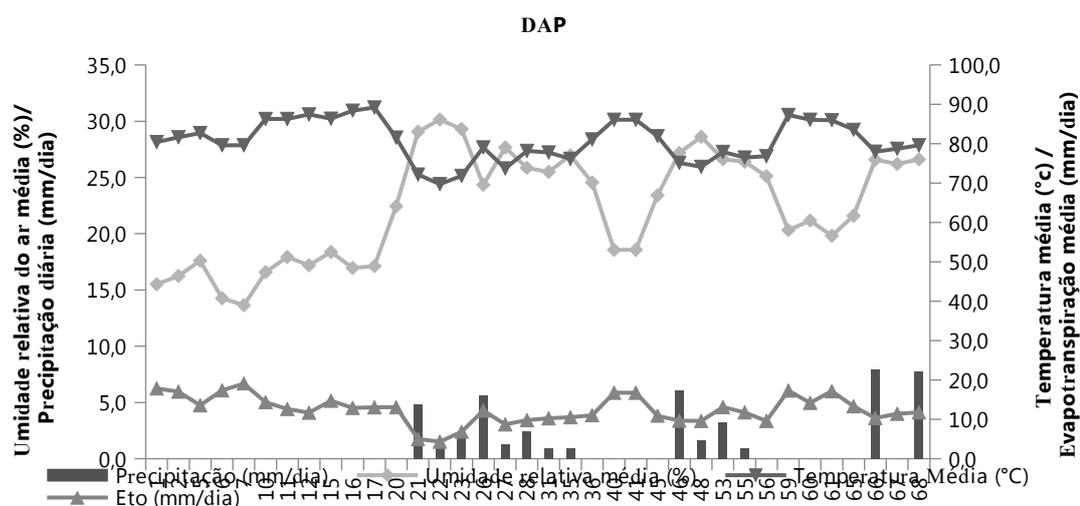


Figura 11. Variáveis meteorológicas - Temperatura máxima (T max), Temperatura mínima (T min), Temperatura média (T média) e precipitação observadas durante o período experimental na cultura do feijão caupi na Estação Experimental de UFT entre 05/09 e 01/11/2016 (Gurupi - TO). Fonte: INMET/UFT.

O solo (camada 0-20 cm) da área do experimento foi utilizado na composição do substrato e encaminhado para o Laboratório de Solos da UFT para de análise química e física do solo. O solo da área experimental foi classificado como um Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico típico (Embrapa, 2006) 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, H₂O 5,73.

O experimento foi feito com a inoculação de nove isolados de *Streptomyces* ssp. em feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) var. Vinagre que apresenta as seguintes características fenotípica: porte semi-ereto, hábito de crescimento indeterminado, altura média de 72 cm, tegumento liso e de cor avermelhada, cor do hilo branco, ciclo médio-tardio (71-90 dias). Trata-se de uma variedade amplamente adaptada, cultivado na região do cerrado por muitos produtores da região.

As sementes foram previamente tratadas no Laboratório de Microbiologia da UFT – *Campus* Gurupi - TO, frascos de Erlenmeyers de 2.000 mL de capacidade. Os fungicidas e inseticidas (em g i.a./100 kg de sementes) + 2% de água foram adicionados sobre as sementes, agitando-se vigorosamente 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.

Duas horas antes do plantio, as sementes foram inoculadas com inoculante comercial (estripes *Bradyrhizobium* sp. Semia 6462) na dosagem de 100 mL g⁻¹ para 25 kg de sementes com uma concentração mínima de 3,0 x 10⁹ células viáveis por mL g⁻¹.

Para a instalação dos experimentos foram utilizados vasos com capacidade de 5 L (0,005 m³) preenchidos com solo peneirado (peneira de 4 mm de malha). Foi feita a adubação de base conforme recomendação para cultura e análise do solo. Nos experimentos foram semeadas seis sementes por vaso e aos dez dias após a semeadura (DAS) foi feito o desbaste deixando duas plantas por vaso. A irrigação foi feita com o auxílio de um copo graduado, mantendo a capacidade de campo a 65%.

Foi utilizado o inoculante líquido a base de *Streptomyces* ssp. O produto foi formulado no Laboratório de Microbiologia da UFT *Campus* UFT. Para a produção

do inoculante das cepas de *Streptomyces* ssp., inicialmente os discos (5 – 6 mm de diâmetro, 5 unidades) dos isolados do gênero *Streptomyces* spp. previamente cultivados (28 °C) em ágar BDA modificado (Batata 20%, dextrose 2%, ágar 1,5% e amido 1%; água destilada; pH 6,8) foram adicionados em 100 mL de caldo Plate Cout - PC (Peptona 0,5 %, Extrato de levedura 0,25 %, glicose 0,1 %, água destilada, pH 6,8) e cultivados em mesa agitadora com movimentação orbital (Novatécnica®, 100 rpm, 28°C, 6 dias). Os isolados de *Streptomyces* ssp. apresentava concentração mínima de 1×10^{10} UFC mL⁻¹, e foi aplicado direto na cova sobre as sementes (0,2 mL por cova), no momento do plantio.

O delineamento experimental utilizado constituiu-se de blocos inteiramente casualizados, com dez tratamentos e oito repetições.

Foram feitas duas avaliações no experimento, sendo a primeira avaliação feita aos 20 dias após a emergência (DAE) no estágio fenológico V3 e a segunda avaliação foi aos 45 DAE quando as plantas apresentavam floração plena, no estágio R2. Foi avaliado altura de planta (AP), diâmetro do caule (DC), posteriormente separou-se o sistema radicular da parte aérea das plantas e as raízes foram lavadas em água corrente para remoção do solo aderido e medido o comprimento das raízes (CR). Em seguida, o material foi colocado para secagem em estufa com aeração forçada a 65 °C por 72 horas até atingir massa constante, 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), massa seca total (MST).

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

4.4.2 Experimento 2 - Doses de *Streptomyces* ssp. (casa de vegetação)

O experimento de casa de vegetação foi conduzido, também na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* Gurupi. As variáveis meteorológicas durante a condução do experimento estão na Figura 2.

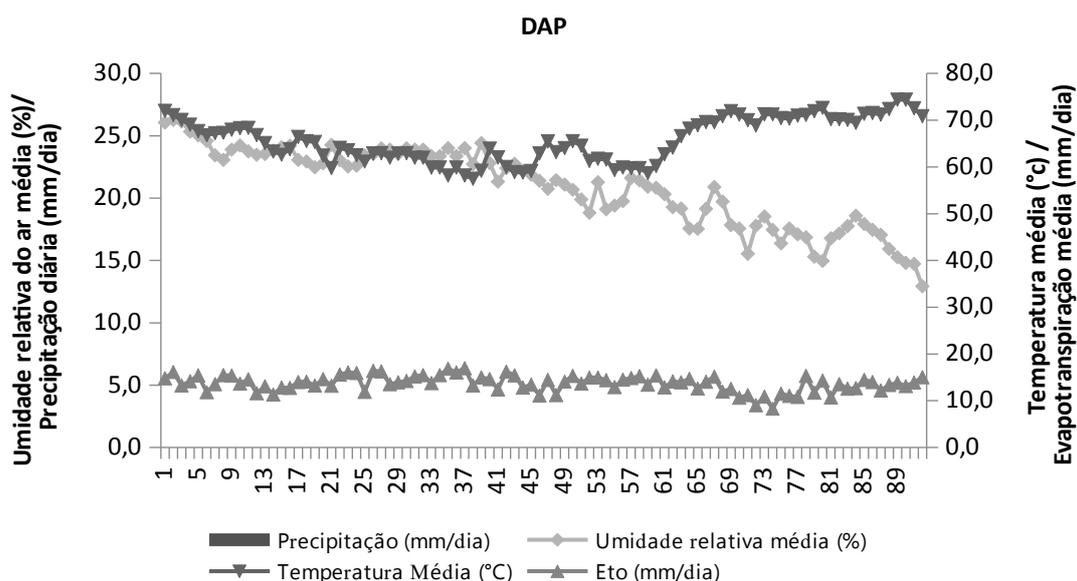


Figura 12. Variáveis meteorológicas - Temperatura máxima (T max), Temperatura mínima (T min), Temperatura média (T média) e precipitação observadas durante o período experimental na cultura do feijão caupi na Estação Experimental de UFT entre 03/06 e 02/09/2017 (Gurupi - TO). Fonte: INMET/UFT.

Foi utilizado o solo da área experimental, que 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 CaCl₂ 5,18, H₂O 5,87.

A cultivar de feijão caupi utilizada foi a Sempre Verde BRS Rouxinol que apresenta as seguintes características fenotípica: porte semi-ereto, hábito de crescimento determinado, altura média de 50 cm, flores de cor branca, cor do hilo branca. Trata-se de uma variedade amplamente adaptada, com elevado potencial produtivo.

O delineamento experimental utilizado, foi de blocos casualizados com cinco tratamentos, sendo cinco repetições. Os tratamentos foram constituídos por cinco doses de Inoculante a base de *Streptomyces* ssp. (0; 100, 200, 300 e 400 mL de inoculante de *Streptomyces* ssp. para cada 50 Kg de sementes).

No experimento foram utilizados o inoculante líquido a base de *Streptomyces* ssp. O produto foi formulado na JCO Fertilizantes (Barreiras, BA) com três estirpes

de *Streptomyces* ssp (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) isolados de solos de cerrado no Tocantins. Foi adicionada a dosagem de 100 mL para cada 50 Kg de sementes do Inoculante a base de *Streptomyces* ssp. que apresentava concentração mínima de 1×10^8 UFC mL⁻¹, e foi aplicado direto nas sementes, meia hora antes do plantio.

Foram feitas as adubações de base (N-P-K+S+Ca+Micro) conforme recomendação para cultura e análise do solo no qual foi aplicado 350 kg ha⁻¹ da formulação 05-25-15 + 30 Kg de Br12.

Foram utilizados vasos com capacidade de 7 L, preenchidos com solo peneirado (peneira de 4 mm de malha).

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%; K₂HPO₄ 0,04%; MgSO₄.7H₂O 0,02%; NaCl 0,01%; extrato de levedura 0,4%; ágar 15%; água destilada-1000 mL; pH 6,7) (VINCENT, 1970) e incubadas durante quatro dias em estufa bacteriologia (Sterilifer®) à 28±1 °C.

Em seguida foram suspensas em solução salina (0,2% MgSO₄) e adicionadas com concentração de mínima de 10⁹ 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 realizada capina manual quando necessário e a irrigação foi feita com o auxílio de um copo graduado, mantendo a capacidade de campo a 65%.

As duas primeiras avaliações foram aos 20 e 45 DAE sendo avaliado as características de altura de planta (AP), diâmetro do caule (DC), comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST). E aos 80 DAE para determinar AP, quantidade de entre nó (EM), número de vargens (NV), grãos por vaso (GP) e produtividade de grãos por vaso (GV). 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), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST). Com os dados de biomassa determinou-se a eficiência relativa de cada tratamento, calculada segundo a fórmula: ER = (MSPA inoculada com os isolados / MSPA sem inoculante) x 100.

Os grãos depois de debulhados foram limpos para determinação da produção de grãos, com a umidade corrigida para 14%.

4.4.3 Experimento 3 - Doses de *Streptomyces* ssp. (campo)

O experimento de campo foi conduzido, também na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* Gurupi. As variáveis meteorológicas durante a condução do experimento estão na Figura 2.

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 CaCl₂ 5,18, H₂O 5,87.

A cultivar de feijão caupi utilizada foi a Sempre Verde BRS Rouxinol. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com cinco tratamentos, sendo cinco repetições. Os tratamentos foram constituídos por cinco doses de Inoculante a base de *Streptomyces* ssp. (0; 100, 200, 300 e 400 mL de inoculante de *Streptomyces* ssp. para cada 50 Kg de sementes).

No experimento foram utilizados o inoculante líquido a base de *Streptomyces* ssp. O produto foi formulado na JCO Fertilizantes (Barreiras, BA) com três estirpes de *Streptomyces* ssp (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) isolados de solos de cerrado no Tocantins. Foi adicionada a dosagem de 100 mL para cada 50 Kg de sementes do Inoculante a base de *Streptomyces* ssp. que apresentava concentração mínima de 10⁸ UFC mL⁻¹, e foi aplicado direto nas sementes, meia hora antes do plantio.

Foram feitas as adubações de base (N-P-K+S+Ca+Micro) conforme recomendação para cultura e análise do solo no qual foi aplicado 350 kg ha⁻¹ da formulação 05-25-15 + 30 Kg de Br12.

O preparo da área foi utilizado o método convencional de plantio, empregando uma gradagem e duas operações de nivelamento para melhor uniformização da área. Na sulcagem foi admitida 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 desprezados as duas

linhas laterais e 0,5 m das extremidades das duas linhas centrais. O espaçamento adotado entre blocos foi de 1 m.

Durante o ciclo da cultura, foram realizados os manejos fitotécnicos e fitossanitários para manter a cultura livre de plantas daninhas, doenças e pragas. 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-1000 mL; pH 6,7) (VINCENT, 1970) e incubadas durante quatro dias em estufa bacteriologia (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.

As duas primeiras avaliações foram feitas aos 20 e 50 DAE para determinar o estande inicial (EI) e MSPA. E aos 85 DAE avaliado estande final (EF), AP, número de entre nó (EN), número de vargens (NV), número de grãos por planta (GP) e produtividade.

A eficiência (E%) das doses de *Streptomyces* ssp. frente ao estande de plantas, foi calculada utilizando-se a equação: $E\% = \{1 \cdot [T_i / T_c]\} \times 100$ no qual E% = eficiência do tratamento; T_i = média do estande final no tratamento; T_c = média do estande final no tratamento testemunha (GAVA; MENEZES, 2012).

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

Os grãos depois de debulhados foram limpos para determinação da produção de grãos, com a umidade corrigida para 14%.

4.4.4 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância com teste F, e as médias dos tratamentos agrupados pelo teste de Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico Assistat (SILVA, 2014).

4.5 RESULTADOS

4.5.1 Experimento 1 - Seleção de isolados em casa de vegetação

No experimento em casa de vegetação, onde foi avaliada a promoção de crescimento do feijão caupi em vasos com nove estirpes de *Streptomyces* ssp., alguns isolados se mostraram promissores na promoção de crescimento e incremento da matéria seca das culturas (Tabelas 1).

Tabela 9. Valores médios de altura (AL), diâmetro do caule (DC), comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) de feijão caupi var. Sempre Verde (BRS Rouxinol) inoculado com isolados de *Streptomyces* ssp. em casa de vegetação, Gurupi -TO.¹

Isolados	AL (cm)	DC (mm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
20 DAE²						
UFT-St01	32,6 b	3,72 b	41,0 b	3,42 b	1,54 a	4,96 b
UFT-St02	38,5 a	3,56 c	41,5 b	3,73 b	1,13 b	4,87 b
UFT-St03	44,3 a	3,88 b	41,2 b	4,05 a	1,61 a	5,66 a
UFT-St04	43,6 a	3,68 b	43,0 b	3,73 b	0,97 b	4,60 b
UFT-St05	39,8 a	3,40 c	39,0 b	3,70 b	0,91 b	4,61 b
UFT-St06	44,8 a	4,48 a	43,0 b	4,37 a	1,70 a	6,07 a
UFT-St07	36,6 a	4,17 a	39,2 b	3,61 b	0,98 b	4,60 b
UFT-St08	40,7 a	3,80 b	50,0 a	4,18 a	1,85 a	6,03 a
UFT-St09	39,1 a	3,43 c	39,5 b	3,71 b	0,91 b	4,62 b
Testemunha	32,2 b	3,40 c	39,5 b	3,91 b	0,89 b	4,80 b
CV (%) ³	10,26**	6,54**	7,39**	6,52**	20,86**	7,49**
45 DAE						
UFT-St01	39,9 b	3,78 b	40,8 b	6,71 b	1,92 a	8,63 b
UFT-St02	43,4 b	3,57 c	42,0 b	7,04 b	1,36 b	8,40 b
UFT-St03	50,6 a	3,85 b	42,2 b	8,94 a	2,00 a	10,9 a
UFT-St04	48,4 a	3,79 b	42,5 b	6,74 b	1,16 b	7,90 b
UFT-St05	43,4 b	3,51 c	40,7 b	6,63 b	1,51 b	8,14 b
UFT-St06	48,0 a	4,30 a	45,2 a	8,38 b	1,97 a	10,6 a
UFT-St07	40,7 b	4,25 a	40,0 b	7,20 b	1,49 b	8,70 b
UFT-St08	44,0 b	4,05 a	48,7 a	8,06 a	2,13 a	10,2 a
UFT-St09	44,0 b	3,48 c	41,5 b	6,62 b	1,38 b	8,00 b
Testemunha	38,1 b	3,39 c	41,0 b	6,60 b	1,18 b	7,78 b
CV (%) ³	7,76**	5,49**	7,34*	13,96*	15,63**	11,42**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ² DAE = Dias após a emergência. ³ CV = Coeficiente de variação. *Significativo a 5%. **Significativo a 1%.

Na primeira avaliação aos 20 dias após a emergência (DAE), quanto à característica de altura de plantas (AL), dos nove isolados de *Streptomyces* ssp. testados, somente o isolado UFT-St01, com AL média de 32,6 cm, não apresentou diferença ($p < 0,05$) quando comparado a testemunha sem inoculação que apresentou AL média de 32,2 cm. Todos os demais tratamentos foram superiores

($p < 0,01$), variando entre os isolados de 36,6 a 44,8, UFT-St07 e UFT-St06, respectivamente (Tabela 1).

Para a característica diâmetro do caule (DC) as estirpes UFT-St06 (4,48 mm) e UFT-St07 (4,17 mm) se destacaram, seguidos dos isolados UFT-St03 (3,88 mm), UFT-St08 (3,80 mm), UFT-St01 (3,72 mm) e UFT-St04 (3,68 mm), que foram superiores à testemunha sem inoculação. Para o parâmetro CR, apenas o isolado UFT-St08 (50,0 cm) foi superior ($p < 0,01$) aos outros tratamentos e a testemunha (Tabela 1).

Para massa seca da parte aérea (MSPA) os melhores isolados observados foram UFT-St06, UFT-St08 e UFT-St03, com 4,37, 4,18 e 4,05 g, respectivamente. Em relação à massa seca da raiz (MSR) observaram-se melhores resultados com os isolados UFT-St08 (1,85 g), UFT-St06 (1,70 g), UFT-St03 (1,61 g) e UFT-St01 (1,54 g). Já para massa seca total (MST) os isolados UFT-St06, UFT-St08 e UFT-St03 também foram superiores ($p < 0,01$) aos demais isolados, com 6,07, 6,03 e 5,66 g.

Para a segunda avaliação aos 45 DAE, para o parâmetro altura, os tratamentos UFT-St03, UFT-St04 e UFT-St06 foram superiores aos demais, com 50,6, 48,4 e 48,0 cm respectivamente.

Com relação a comprimento de raiz (CR) apenas os tratamentos UFT-St08 (48,7 cm) e UFT-St06 (45,2 cm) foram superiores a testemunha sem inoculação. Já para o DC os tratamentos UFT-St06, UFT-St07 e UFT-St08 apresentaram se superiores aos demais com 4,30, 4,25 e 4,05 mm, respectivamente, seguidos dos tratamentos UFT-St03 (3,85 mm), UFT-St04 (3,79 mm) e UFT-St01 (3,78 mm) que demonstraram-se superiores a testemunha (Tabela 1).

Para o parâmetro MSPA apenas os tratamentos UFT-St03 (8,94 g) e UFT-St08 (8,06 g) foram estatisticamente superiores à testemunha sem inoculação. O parâmetro MSR os tratamentos que apresentaram resultados superiores foram UFT-St08, UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St01, com 2,13, 2,00, 1,97 e 1,92 respectivamente.

E para MST o melhor tratamento ($p < 0,01$) foi UFT-St03 (10,9 g), seguido pelos tratamentos UFT-St06 (10,6 g) e UFT-St08 (10,2 g).

Em relação à eficiência relativa dos isolados (ER) que relaciona a biomassa da parte aérea dos tratamentos inoculados com isolados de *Streptomyces* ssp. aos 20 DAE para a cultura do feijão-caupi, as melhores médias foram encontradas com a inoculação dos isolados UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08 com aumento da ER de

30% (UFT-St06), 21% (UFT-St08) e 23% (UFT-St03) em relação à testemunha (Figura 3). Podemos destacar também os tratamentos UFT-St02, UFT-St04, UFT-St05 e UFT-St07 que apresentaram uma ER variando de 03 a 14% e foram superiores a testemunha que não foi inoculada com nenhuma estirpe de *Streptomyces* sp.

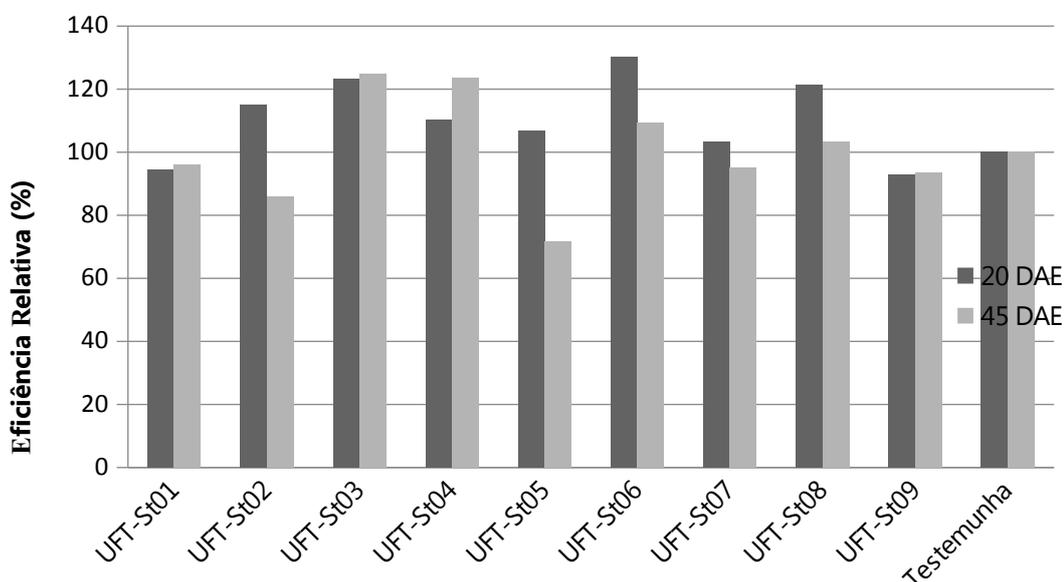


Figura 13: Eficiência relativa do feijão caupi, inoculados com diferentes isolados de *Streptomyces* spp. aos 20 DAE e aos 45 DAE em relação à testemunha sem inoculação, em casa de vegetação, Gurupi - TO.

Aos 45 DAE da soja inoculada com *Streptomyces* sp., as melhores médias foram encontradas com a inoculação dos isolados UFT-St03 e UFT-St04 com aumento da ER de 25% (UFT-St03) e 23% (UFT-St04) em relação à testemunha.

4.5.2 Experimento 2 - Doses de *Streptomyces* spp. (casa de vegetação)

Quanto à promoção de crescimento do feijão caupi em vaso, a avaliação aos 20 DAE indicou que houve diferença significativa para maioria dos tratamentos inoculados em relação à testemunha (Tabela 2).

Tabela 10. Valores médios de altura (AL), diâmetro do caule (DC) comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) de feijão caupi var. Sempre Verde (BRS Rouxinol) inoculados com diferentes doses (100, 200, 300 e 400 mL / 50 kg semente) com MIX de isolados de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) em casa de vegetação, Gurupi -TO.¹

Tratamentos	AL (cm)	DC (mm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
20 DAE²						
100 mL	20,2 a	3,22 a	31,4 b	1,46 b	0,67 b	2,13 b
200 mL	20,2 a	3,02 b	32,2 b	1,55 a	0,68 b	2,24 b
300 mL	20,5 a	3,20 a	40,0 a	1,76 a	0,82 a	2,58 a
400 mL	20,6 a	3,38 a	40,0 a	1,60 a	0,87 a	2,47 a
Testemunha	19,0 a	2,74 c	26,6 c	1,25 b	0,48 c	1,74 c
CV (%) ³	5,86	6,41**	4,88**	13,04*	11,3**	7,6**
45 DAE						
100 mL	23,8 b	3,70 b	29,2 b	3,36 a	2,96 c	6,32 c
200 mL	26,2 a	3,91 b	28,2 b	3,28 a	3,37 b	6,61 b
300 mL	27,6 a	4,22 a	32,2 a	3,50 a	4,24 a	7,75 a
400 mL	28,0 a	4,51 a	27,8 b	3,33 a	3,52 b	6,86 b
Testemunha	22,9 b	4,30 b	24,4 c	3,08 a	1,98 d	5,06 d
CV (%) ³	5,17**	6,73**	6,10**	6,16 ^{NS}	7,54**	4,82**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ² DAE = Dias após a emergência. ³ CV = Coeficiente de variação. ^{NS} Não significativo. *Significativo a 5%. **Significativo a 1%.

Para o parâmetro altura (AL), nenhum tratamento diferiu estatisticamente da testemunha sem inoculação (Tabela 2), porém a testemunha teve valores de AL inferiores aos demais tratamentos, variando de 19,0 cm (testemunha) à 20,6 cm para a dose de 400 mL (Figura 4). Para DC todas as doses se demonstraram superiores a testemunha sem inoculação, com a média maior na dose de 400 mL/50 kg sementes (3,38 mm).

Para CR as melhores doses foram de 300 e 400 mL/50 kg sementes (ambos com 40,0 cm), seguido das doses de 200 e 100 mL, com 32,2 e 31,4 cm respectivamente (Tabela 2).

No parâmetro de MSPA as doses de 200, 300 e 400 mL foram superiores ($p < 0,01$) aos demais tratamentos e a testemunha, com 1,55, 1,76 e 1,60 g, respectivamente. Não houve diferença entre a dose de 100 e 200 mL em relação à

testemunha. Já para MSR as melhores doses foram de 300 e 400 mL, com 0,82 e 0,87 g, seguido das doses de 200 e 100 mL, com 0,68 e 0,67 cm (Tabela 2).

Em relação a MST as maiores médias ($p < 0,01$) foram encontradas nas doses de 300 e 400 mL, sendo de 2,58 e 2,47 g, respectivamente.

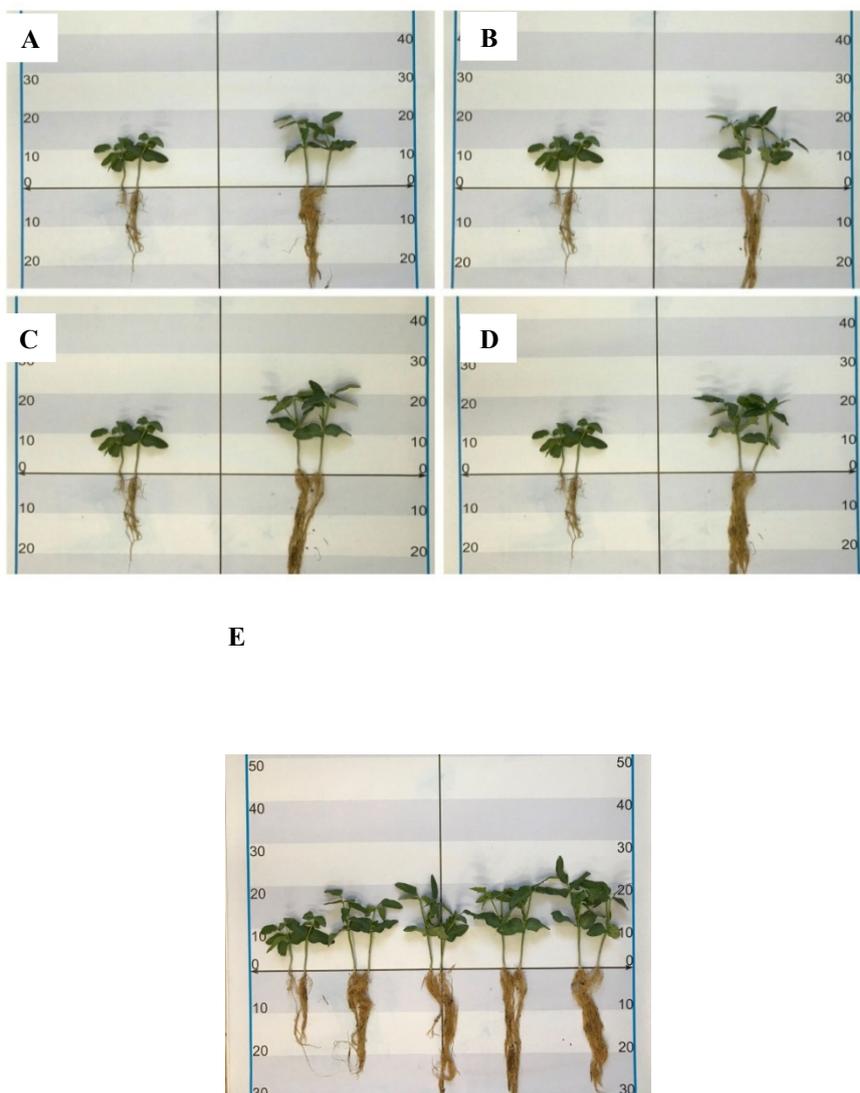


Figura 14. Parâmetros Altura (AL) e Massa seca da raiz (MSR) de plantas de feijão caupi inoculadas com diferentes doses (mL/50 kg semente) de MIX de isolados de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) em casa de vegetação, Gurupi -TO. A, 100 mL; B, 200 mL; C, 300 mL; D, 400 mL (Esquerda: Testemunha; Direita: Isolados); E, Comparativo entre as doses.

Na avaliação aos 45 DAE, para o parâmetro de AL (Figura 5) houve diferença significativa para maioria dos tratamentos inoculados em relação à testemunha. As maiores médias ($p < 0,01$) foram encontradas nas doses de 400, 300 e 200 mL, sendo de 28,0, 27,6 e 26,2 g, onde se observa que as mesmas não diferiram

estatisticamente. Não houve diferença entre a dose de 100 mL em relação à testemunha (Tabela 2).

Em relação ao DC apenas a dose de 400 mL se demonstrou superior aos demais tratamentos (4,51 mm). Para o parâmetro CR, a melhor dose foi de 300 mL com média de 32,2 cm, seguida das demais doses 100, 200 e 400 mL/50 kg de semente, com 29,2, 28,2 e 27,8, respectivamente (Tabela 2). Com relação à MSPA não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses e a testemunha sem inoculação, entretanto as melhores médias foram para a dose de 300 mL (3,50 g) e a menor com a testemunha (3,08).

Para MSR todas as doses foram superiores a testemunha sem inoculação. A melhor média foi para a dose de 300 mL, com 4,24 g, seguidos das doses de 400 e 200 mL, com médias de 3,52 e 3,37, respectivamente (Tabela 2). Com relação a MST todos os tratamentos foram superiores à testemunha, com maiores médias para a dosagem de 300 mL (7,75 g), seguidos das dosagens de 400 e 200 mL/50 kg de semente, 6,86 e 6,61, respectivamente.

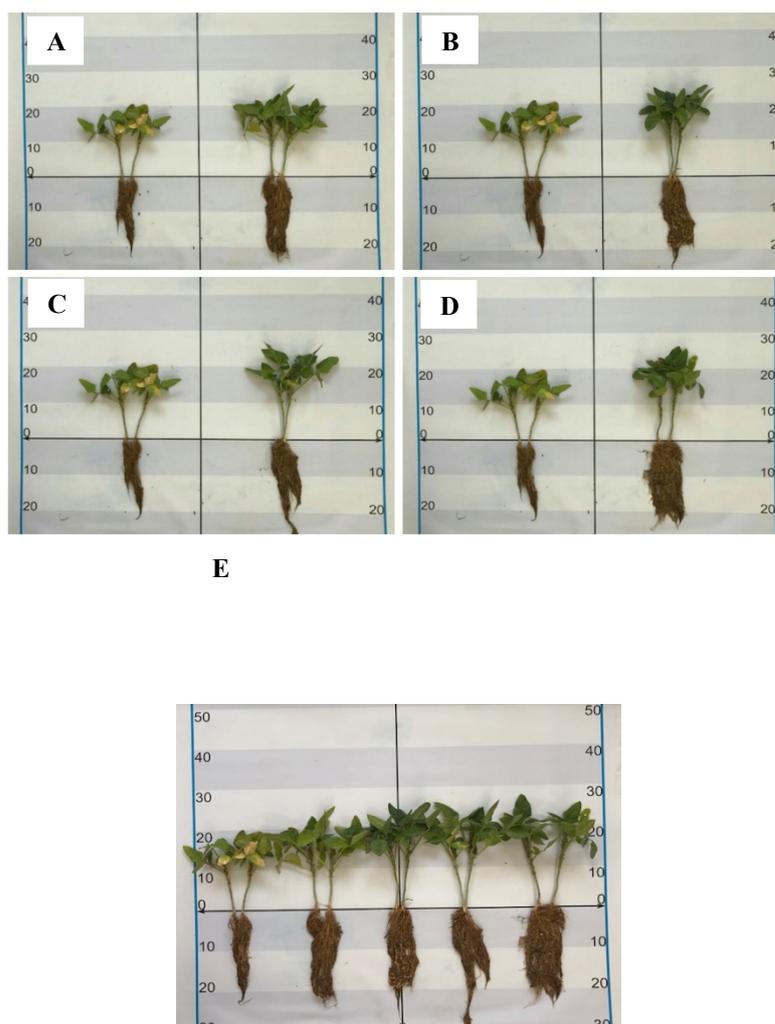


Figura 15. Parâmetros Altura (AL) e Comprimento da raiz (CR) de plantas de feijão-caupi inoculadas com diferentes doses (mL/50 kg semente) de MIX de isolados de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) em casa de vegetação, Gurupi -TO. Safra 2017/2018. A, 100 mL; B, 200 mL; C, 300 mL; D, 400 mL (Esquerda: Testemunha; Direita: Isolados); E, Comparativo entre as doses.

Quanto a ER das doses testadas em casa de vegetação com a cultivar Sempre Verde BRS Rouxinol tanto aos 20 e 45 DAE, todos os tratamentos foram superiores à testemunha (Figura 6). Tendo potencial de destaque com uma melhor eficiência na dose de 300 mL que foi superior nas duas avaliações (20 e 45 DAE) com 74% e 36%, respectivamente. Na avaliação de 20 DAE deve-se destacar a dose de 200 mL que obteve um incremento na biomassa da parte aérea do feijão caupi de 74%, com relação à testemunha sem inoculação. Aos 45 DAE as maiores médias, posteriormente a dose de 300 mL, foram obtidas pelas doses de 200 mL

(27%) e 100 mL (21%) (Figura 6).

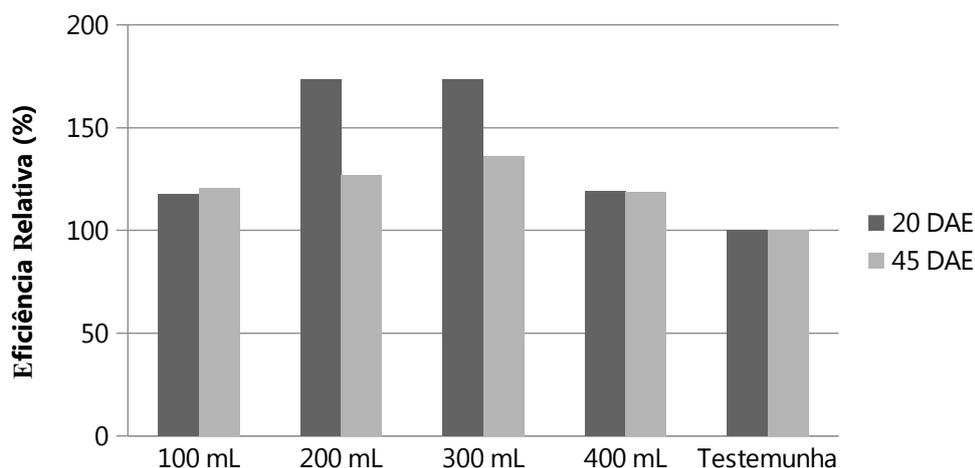


Figura 16. Eficiência relativa do feijão caupi, inoculados com diferentes doses (0; 100, 200, 300 e 400 mL de inoculante) de *Streptomyces* ssp. para cada 50 Kg de sementes aos 20 DAE e aos 45 DAE em relação à testemunha sem inoculação, em casa de vegetação, Gurupi - TO.

Para as características de AL, EN, NV, NG e GV avaliados aos 80 DAE, os tratamentos com diferentes doses, foram superiores ($p < 0,01$) à testemunha sem inoculação (Tabela 3).

Tabela 11. Valores médios de altura (AL), Quantidade de entre nó (EN), número de vargens (NV), número de grãos (NG) e produtividade de grãos por vaso (GV) de feijão caupi var. Sempre Verde (BRS Rouxinol) aos 80 DAE inoculados com diferentes doses (100, 200, 300 e 400 mL / 50 kg semente) com MIX de isolados de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) em casa de vegetação, Gurupi -TO. Safra 2017/2018.¹

Tratamentos	AL (cm)	EN	NV	NG	GV (g)
100 mL	25,8 b	9,00 d	2,70 b	15,5 b	2,96 b
200 mL	30,2 b	9,50 c	2,70 b	17,5 b	3,35 b
300 mL	36,1 a	10,5 a	3,70 a	29,6 a	5,07 a
400 mL	37,2 a	9,90 b	3,30 a	26,5 a	5,66 a
Testemunha	24,1 c	7,80 e	2,10 c	11,4 c	2,18 c
CV (%) ³	7,89**	6,63**	13,07**	18,0**	22,0**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ² DAE = Dias após a emergência. ³ CV = Coeficiente de variação. *Significativo a 5%. **Significativo a 1%.

Para AL as melhores dosagens foram de 300 e 400 mL com plantas de feijão caupi com média de 36,1 e 37,2 cm, respectivamente, seguido das dosagens de 100 e 200 mL que tiveram a segundas maiores médias de 25,08 e 30,2 cm, respectivamente (Figura 7). Para a característica EN todas as dosagens foram superiores à testemunha sem inoculação, destacando-se a de 300 mL (10,5), seguido da dosagem de 400 mL/50 kg de sementes (9,90) (Tabela 3).

Quanto ao NV houve diferença significativa entre a testemunha para as doses de 300 e 400, com 3,7 e 3,3 vargens, respectivamente. As doses de 100 e 200 mL demonstraram-se superiores ($p < 0,01$), quando comparadas à testemunha sem inoculação, ambas com médias de 2,7 vargens por planta (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 300 e 400 mL, com 29,6 e 26,5 grãos por vaso. As doses de 100 e 200 mL também foram superiores ($p < 0,01$) em relação à testemunha sem inoculação (Tabela 3).

Em relação à produtividade os tratamentos com as diferentes doses do MIX de *Streptomyces* ssp foram superiores ($p < 0,01$) à testemunha sem inoculação. Os tratamentos com doses de 300 e 400 mL manifestaram-se como os melhores tratamentos, dando destaque à dosagem de 400 mL/50 kg de sementes com maior produção de grãos (5,66 g).

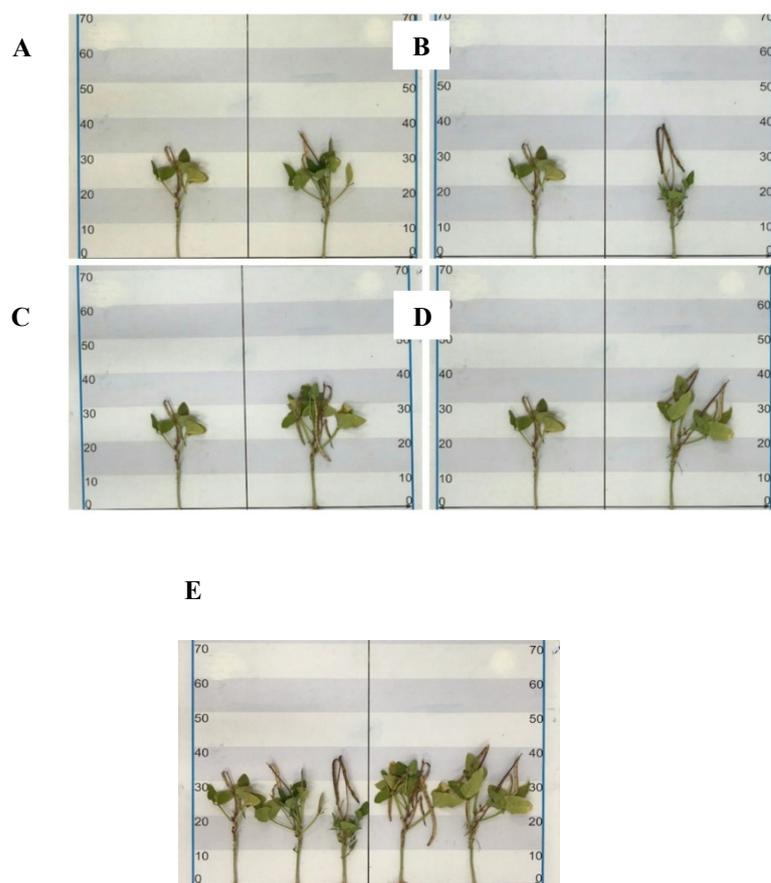


Figura 17. Parâmetro Altura (AL) de plantas de feijão-caupi inoculadas com diferentes doses (mL/50 kg semente) de MIX de isolados de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) em casa de vegetação, Gurupi -TO. Safra 2017/2018. A, 100 mL; B, 200 mL; C, 300 mL; D, 400 mL (Esquerda: Testemunha; Direita: Isolados); E, Comparativo entre as doses.

4.5.3 Experimento 3 - Doses de *Streptomyces* ssp. (campo)

Na avaliação da MSPA aos 20 e 50 DAE na safra 2017/2018, houve diferença significativa para todos os tratamentos inoculados em relação à testemunha. As maiores médias aos 20 DAE ($p < 0,05$) para MSPA foram encontradas nas doses de 400, 300 e 200 mL, sendo de 11,2, 9,40 e 8,80 g, onde se observa que as mesmas não diferiram estatisticamente, seguidas da dose de 100 mL com 7,70 g (Tabela 4).

Tabela 12. Valores médios de massa seca da parte aérea (MSPA) de feijão caupi var. Sempre Verde (BRS Rouxinol) inoculados com diferentes doses (100, 200, 300

e 400 mL / 50 kg semente) com MIX de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) cultivado no cerrado em Gurupi -TO. Safra 2017/2018.¹

Tratamentos	MSPA (g) 20 DAE ²	MSPA (g) 50 DAE ²	EI 20 DAE	EF 77 DAE	E ⁴ (%)
100 mL	7,70 b	26,8 d	52,2 b	50,7 b	15,7
200 mL	8,80 a	35,6 c	54,0 b	51,0 b	16,4
300 mL	9,40 a	49,1 b	56,5 a	53,0 a	21,0
400 mL	11,2 a	55,4 a	55,2 a	54,7 a	24,8
Testemunha	5,20 c	19,2 e	46,7 c	43,8 c	-
CV (%) ³	16,50**	4,69**	2,64**	3,18**	-

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 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 estande. **Significativo a 1%.

Para a MSPA aos 50 DAE todas as doses foram superiores à testemunha sem inoculação. A melhor dose foi de 400 mL, com 55,4 g, seguida da dose de 300 mL com 49,1 g (Tabela 4).

Para o EI, houve diferença significativa entre os tratamentos, dando destaque para a dose de 300 mL/50 kg de semente, com maior média 56,5 plantas, seguido da dose de 400 mL com 55,2 plantas. Já para EF todas as dosagens foram superiores ($p < 0,01$) à testemunha sem inoculação, sendo superior para as doses de 300 e 400 mL.

A eficiência das dosagens quanto à sobrevivência e ao número de plantas efetivamente em produção, foi demonstrado na manutenção do stand de plantas (Tabela 4). Em relação à eficiência na manutenção do stand das plantas de feijão caupi, a dosagem de 400 mL se demonstrou superior com 124,8%, seguidas das dosagens de 300, 200 e 100 mL, com uma eficiência de 121,0%, 116,4% e 115,7%, respectivamente.

Para as características AL, NV e produtividade, todos os tratamentos com inoculação do MIX de *Streptomyces* ssp. foram superiores ($p < 0,01$) à testemunha sem inoculação (Tabela 5).

Tabela 13. Valores médios de altura (AL), Quantidade de entre nó (EN), número de vagens (NV), número de grãos (NG) e produtividade de feijão caupi var. Sempre Verde (BRS Rouxinol) aos 85 DAP inoculados com diferentes doses (100, 200, 300 e 400 mL / 50 kg semente) com MIX de isolados de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) cultivado no cerrado em Gurupi -TO. Safra 2017/2018.¹

Tratamentos	AL (cm)	EN	NV	NG	Prod. (kg ha ⁻¹)
100 mL	57,0 b	11,2 a	5,83 b	40,2 b	851,4 d
200 mL	51,8 b	10,5 a	6,50 b	37,0 b	916,0 c
300 mL	63,4 a	12,5 a	8,33 a	60,0 a	1.113,5 a
400 mL	64,7 a	12,6 a	7,75 a	65,6 a	1.096,1 b
Testemunha	52,4 c	9,33 a	3,24 c	29,0 b	677,8 e
CV (%) ³	12,30**	13,95 ^{NS}	14,34**	27,80**	19,6**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ² DAE = Dias após a emergência. ³ CV = Coeficiente de variação. ^{NS} Não significativo. **Significativo a 1%.

Para AL as melhores dosagens foram de 300 e 400 mL com plantas de feijão caupi com média de 63,4 e 64,7 cm, respectivamente (Figura 8). Para a característica de EN não houve diferença significativa, mas as médias foram maiores que a testemunha sem inoculação. Quanto ao NV não houve diferença significativa entre os as doses de 300 e 400 mL, bem como para as doses de 100 e 200 mL, entretanto todas as doses foram superiores a testemunha sem inoculação (Tabela 5).

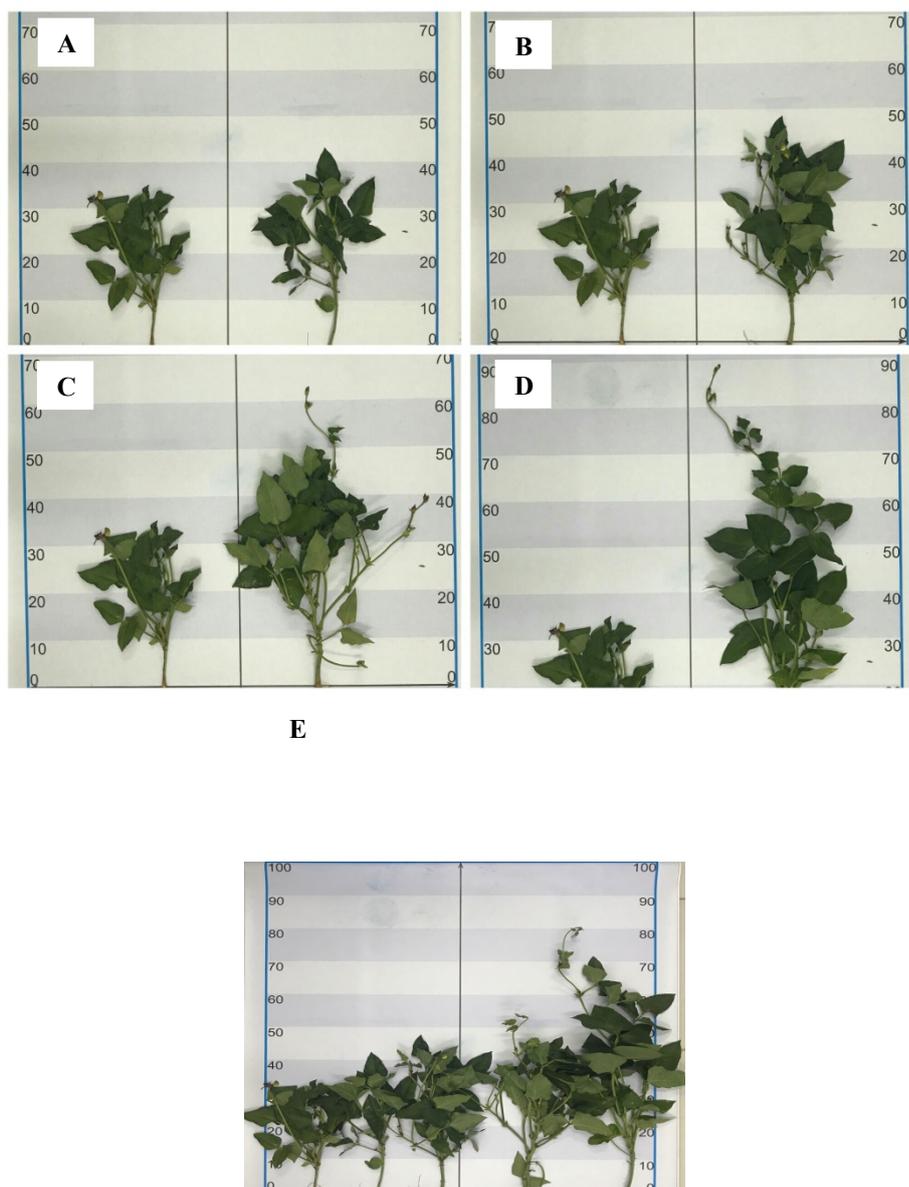


Figura 18. Parâmetro Altura (AL) de plantas de feijão-caupi inoculadas com diferentes doses (mL/50 kg semente) de MIX de isolados de *Streptomyces* (UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08) em campo, Gurupi -TO. Safra 2017/2018. A, 100 mL; B, 200 mL; C, 300 mL; D, 400 mL (Esquerda: Testemunha; Direita: Isolados); E, Comparativo entre as doses.

Para o NG os tratamentos com a inoculação nas doses de 300 e 400 mL foram superiores ($p < 0,01$) em relação aos demais tratamentos (Tabela 5). Em relação à produtividade os tratamentos com as diferentes doses do MIX de *Streptomyces* ssp foram superiores ($p < 0,01$) à testemunha sem inoculação, com médias de produtividade variando de 677,8 (11,3 sacas ha^{-1}) a 1.113,5 (18,56 sacas

ha⁻¹) kg ha⁻¹, representando um aumento acima de 39% em relação à testemunha (Tabela 5). Dando destaque à dosagem de 300 mL que houve maior produtividade de grãos.

Quanto a ER das doses testadas em campo com feijão caupi var. Sempre Verde (BRS Rouxinol), tanto aos 20 e 50 DAE, todos os tratamentos foram superiores à testemunha sem inoculação. Para ambas as avaliações a dose de 100 mL manteve-se praticamente constante com 32 e 30%, aos 20 e 50 DAE respectivamente (Figura 9).

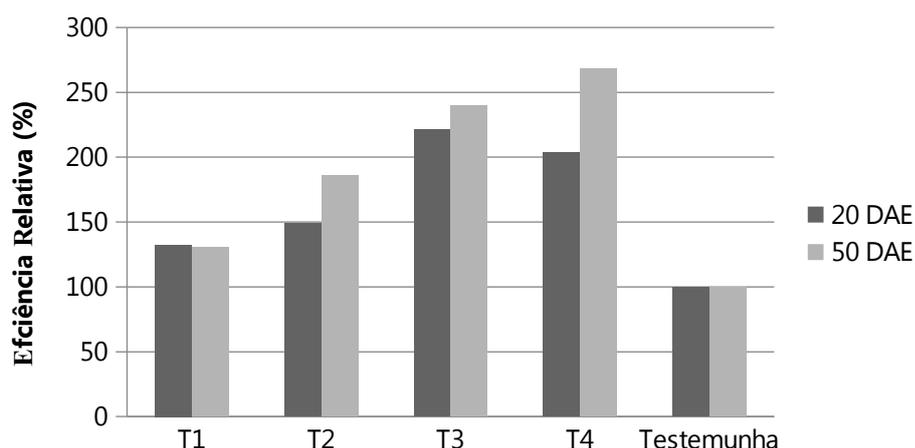


Figura 19. Eficiência relativa do feijão caupi, inoculados com diferentes doses (0; 100, 200, 300 e 400 mL de Inoculante) de *Streptomyces* ssp. para cada 50 Kg de sementes aos 20 DAE e aos 45 DAE em relação à testemunha sem inoculação, em campo - Safra 2017/2018, Gurupi - TO.

Para a avaliação aos 20 DAE a dose de 300 mL foi superior com 121%, seguido da dose de 400 mL (103%). Já para a avaliação aos 50 DAE a melhor ER foi na dose de 400 mL com 168%. Na avaliação de 50 DAE podemos dar destaque também nas doses de 300 e 200 mL que tiveram um incremento na biomassa da parte aérea do feijão caupi de 139 e de 85%, respectivamente, com relação à testemunha sem inoculação (Figura 9).

4.6 DISCUSSÃO

Dentre todas as comunidades bacterianas, tem sido mostrado que os actinomicetos exercem uma ação formidável na rizosfera da planta, liberando uma ampla gama de produtos antimicrobianos, impedindo assim o crescimento de patógenos radiculares. Os actinomicetos, especialmente *Streptomyces*, são elaboradores prolíficos de metabólitos secundários e estão sendo usados como biofertilizantes e agentes de controle biológico para controle de doenças transmitidas pelo solo e transmitidas por sementes de plantas (ROSALES; MEW, 1997).

Em seu estudo, SINGH et al. (2016) avaliaram agentes microbianos como bio-protetores de plantas, e observaram que a produção e acumulação de antioxidantes naturais, biomoléculas ligadas à defesa e outras mudanças na planta levaram não só à promoção do crescimento, mas também a proteção contra doenças nas plantas, auxiliando com a redução na aplicação de pesticidas químicos tóxicos. Tal fato foi observado nas diversas características agrônômicas avaliadas, como AL, DC, CR, MSPA, MSR e MST (Tabela 1).

Diversos actinomicetos, especialmente *Streptomyces* spp., produzem esporos que auxiliam em sua dispersão e conferem resistência a muitas condições adversas (CHATER, 1993); assim, eles podem ser agentes promissores para a ampliação como novos biofertilizantes e agentes de controle biológico.

Contudo, apesar de ser relatada na literatura a importância dos compostos produzidos por *Streptomyces* no biocontrole e seu potencial para promover o crescimento das plantas (ALDESUQUY et. al., 1998), as espécies de *Streptomyces* foram pouco estudadas especificamente quanto ao seu potencial como bactéria promotora do crescimento de plantas (TAMREIHAO et. al., 2016), bem como na literatura não são vastos estudos quanto a doses e uso desses micro-organismos.

De acordo com LIN; XU (2013) que selecionaram cepas de *Streptomyces* ssp de plantas medicinais, foi verificado que as cepas que não produziam AIA não eram capazes de favorecer o crescimento nas plantas. Em um estudo em casa de vegetação com 64 isolados de *Streptomyces* ssp. verificou-se que alguns isolados não tinha competência de colonizadores a rizosfera das raízes das plantas, e que tais isolados não eram capazes de produzir AIA (EL-TARABILY, 2008).

No estudo de KHAMNA et. al. (2009) foram isolados de 16 solos diferentes mais de 440 isolados de actinomicetos e em estudos morfológicos 89% eram

pertencentes ao gênero *Streptomyces* ssp. e dentre eles, 36 isolados foram capazes de produzir AIA e 75 isolados foram capazes de produzir sideróforos além de compostos antifúngicos. E de acordo com GOPALAKRISHNAN et al., (2011) em um estudo com 137 actinomicetos, cinco foram tiveram a capacidade de produção de sideróforo, celulase, protease, ácido hidrocianico (HCN), ácido indol acético (IAA) e potencial antagonista contra diversas doenças.

A eficiência relativa dos isolados encontrada nos experimentos (Figura 3) pode ser explicada devido à utilização de metabólitos secundários produzidos pelos micro-organismos, tais como toxinas, proteínas, hormônios, vitaminas, aminoácidos e antibióticos, particularmente de actinomicetos, para o controle de patógenos das plantas, pois estes são prontamente degradáveis, altamente específicos e menos tóxicos para a natureza (DOUMBOU et al., 2001). De acordo com LIN; XU (2013), as *Streptomyces* ssp. são candidatas promissoras para utilização na melhoria do crescimento de plantas de valor econômico e agrícola.

A avaliação de doses de MIX de *Streptomyces* spp apontou efeito promissor na promoção de crescimento, incremento da matéria seca da cultura. Além disso, as cepas de *Streptomyces* ssp. foram capazes de aumentar significativamente a biomassa da planta em diversos parâmetros (AL, MSPA, MSR, MST), indicando os efeitos fitoestimulantes distintos de cada cepa (LIN; XU, 2013). O mecanismo pelo qual os actinomicetos melhoraram os traços morfológicos e de rendimento das culturas poderia ser atribuído não só às suas atividades enzimáticas, como sideróforo e AIA e/ou quitinase, celulase, lipase, protease e ácido cianídrico, mas também a sua capacidade de sobreviver em ambientes hostis (SADEGHI et al., 2012).

Os resultados observados quanto às doses em casa de vegetação foram confirmados quando avaliados em experimento de campo, mostrando que houve diferença significativa para todos os tratamentos inoculados em relação à testemunha. Esses resultados podem ser explicados segundo TOKALA et al. (2002), ao estudar a interação entre as plantas de ervilha e *Streptomyces* ssp., em que constatou-se que a colonização de raízes e nódulos é um dos vários mecanismos pelos quais a *Streptomyces* atua como uma bactéria promotora de crescimento natural das plantas de ervilha e possivelmente em outras plantas leguminosas.

De acordo com SADEGHI et al. (2012) a aplicação de *Streptomyces* sp. aumentou o crescimento e o desenvolvimento de plantas de trigo e ainda obteve-se

aumentos significativos na taxa de germinação, porcentagem e uniformidade, altura e peso seco em comparação com o testemunha sem inoculação. Além de ter aumentado significativamente a concentração de N, P, Fe e Mn em brotos de trigo. Já EL-TARABILY (2008) afirma em seu estudo que os actinomicetos dos gênero *Streptomyces* são capazes de produzir a enzima ACC desaminase, o precursor imediato de etileno, e promover o crescimento em plantas de tomate, além da produção de AIA.

De forma geral, foi observado que a aplicação das doses do inoculante *Streptomyces* ssp. resultou em redução significativa na mortalidade de plantas de soja e uma melhor manutenção do estande final de plantas. Um estudo com sementes de milho avaliou que isolados de *Streptomyces* são capazes de reduzir a incidência de micro-organismos fitopatógenos (fungos e bactérias) em até 90% diminuindo a mortalidade das plântulas, causadas por doenças ligadas às sementes (BRESSAN; FIGUEIREDO, 2001).

De acordo com TOUMATIA et al. (2016), em estudo com *Streptomyces mutabilis* em mudas de trigo, observou que as sementes revestidas eram capazes de controlar a doença causada pelo patógeno *Fusarium culmorum* ocasionando em uma menor morte das plântulas. Em outro estudo, foi proposta a avaliação de uma estirpe de *Streptomyces* sp. isolada de solos de arroz, em que observou-se que a bactéria foi capaz de promover um crescimento significativo na incorporação de biomassa, além de aumentar produção de rendimento de grãos de arroz (TAMREIHAO et. al., 2016).

Em outro estudo com arroz, avaliou-se dois compostos alifáticos antifúngicos, obtidos de *Streptomyces* sp., onde foi significativamente maior no rendimento de grãos de arroz do que na testemunha (PRABAVATHY et. al., 2006). GOPALAKRISHNAN et.al. (2014) avaliaram parcelas inoculadas com actinomicetos, e observaram que houve um incremento dos nutrientes minerais do solo, como o N total, P disponível e % de carbono orgânico, em que foram significativamente maiores (até 42%, 39% e 35%, respectivamente) do que a testemunha sem inoculação.

Em um estudo com *Streptomyces* ssp. em solos normais e salinos, as mesmas conseguiram aumentar a produção de auxinas na presença de sal, mostrando ter um imenso potencial para ser utilizado como biofertilizante em solos salinos (SADEGHI et al., 2012). O MIX de actinomicetos também melhorou

significativamente os nutrientes minerais do solo e as atividades biológicas (GOPALAKRISHNAN et. al., 2014). SREEVIDYA et al. (2016) dedicaram-se em isolar e caracterizar os actinomicetos responsáveis pela promoção de plantas de grão-de-bico. Os resultados apontaram que quatro actinomicetos exibiram aumento no número de nódulos, peso e rendimento nas plantas.

4.7 CONCLUSÕES

No experimento em casa de vegetação, se destacaram as estirpes UFT-St06 e UFT-St07 para o parâmetro DC e apenas a estirpe UFT-St08 foi superior à testemunha em relação ao parâmetro CR na avaliação de 20 DAE. Os isolados UFT-St06 e UFT-St08 apresentaram os melhores resultados tanto em relação à massa seca da parte aérea (MSPA) quanto à massa seca da raiz (MSR). Aos 50 DAE observou-se que os mesmos isolados destacaram-se em relação aos parâmetros avaliados, com a diferença de que a estirpe UFT-St03 foi a que apresentou melhores resultados. Além disso, estirpes UFT-St03, UFT-St06 e UFT-St08 foram as que apresentaram melhor eficiência relativa dos isolados (ER).

No experimento de doses em casa de vegetação, as melhores doses foram de 300 e 400 mL para todos os parâmetros avaliados. E a melhor eficiência relativa foi observada com o tratamento de 300 mL nas duas avaliações (20 e 50 DAE). O experimento de doses em campo confirmou os resultados obtidos no experimento em casa de vegetação, em que os melhores resultados foram observados com doses de 300 e 400 mL/50 kg de semente, sendo que a maior produtividade de grãos foi obtida com a dosagem de 300 mL.

Dessa forma, pode-se observar que o gênero *Streptomyces* é um agente promissor a ser utilizado como biofertilizante no intuito de promover o crescimento de plantas.

4.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDESUQUY, H. S.; MANSOUR, F. A.; ABO, H. S. A. Effect of the culture filtrates of *Streptomyces* on growth and productivity of wheat plants. **Folia Microbiologica**, v. 43, n. 5, p. 465–470, 1998.

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.

AURAS, N. E.; AMANCIO, C. O. DA G. Cultivo de feijão-caupi em municípios dos estados do Norte, Nordeste e Centro-oeste, conforme a área colhida e a produtividade. **Embrapa Agrobiologia-Documentos**, p. 1-215 2015.

BORGES, W. L.; SILVA, C. E. D. R.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Nodulação e fixação biológica de nitrogênio de acessos de amendoim com estirpes nativas de rizóbios. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 1, p. 32–37, 2007.

BRESSAN, W.; FIGUEIREDO, J. E. F. Potencial de isolados de *Streptomyces* spp. no controle de *Stenocarpella maydis* em sementes de milho. **Embrapa - Comunicado Técnico**, p. 1–4, 2001.

CHAGAS JUNIOR, A. F.; RAHMEIER, W.; FIDELIS, R. R.; SANTOS, G. R.; CHAGAS, L. F. B. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi-TO. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 709–714, 2010.

CHATER, K. F. Genetics of Differentiation in *Streptomyces*. **Annual Review of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 685–711, 1993.

CONAB: COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. **Monitoramento agrícola- Safra 2017**, v. 4, n. 1, p. 1–98, 2017.

DOUMBOU, C. L.; HAMBY SALOVE, M. K.; CRAWFORD, D. L.; BEAULIEU, C. Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. **Phytoprotection**, v. 82, n. 3, p. 85–102, 2001.

EL-TARABILY, K. A. Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing streptomycete actinomycetes. **Plant and Soil**, v. 308, n. 1–2, p. 161–174, 16 jul. 2008.

EMBLEY, T. M.; STACKEBRANDT, E. The Molecular phylogeny and systematics of

- the Actinomycetes. **Annual Review of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 257–289, 1994.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, p. 306, 2009.
- GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 4, p. 633-640, 2012.
- GONZÁLEZ, I.; AYUSO, S. A.; ANDERSON, A.; GENILLOUD, O. Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 54, n. 3, p. 401–415, 2005.
- GOPALAKRISHNAN, S.; PANDE, S.; SHARMA, M.; HUMAYUN, P.; KIRAN, B. K.; SANDEEP, D.; RUPELA, O. Evaluation of actinomycete isolates obtained from herbal vermicompost for the biological control of *Fusarium* wilt of chickpea. **Crop Protection**, v. 30, n. 8, p. 1070–1078, 2011.
- GOPALAKRISHNAN, S.; VADLAMUDI, S.; BANDIKINDA, P.; SATHYA, A.; VIJAYABHARATHI, R.; RUPELA, O.; VARSHNEY, R. K. Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in rice. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 40–48, 2014.
- KHAMNA, S.; YOKOTA, A.; LUMYONG, S. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, n. 4, p. 649–655, 2009.
- KÖPPEN, W. Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra. **Fondo de Cultura Económica**. México. 479p., 1948.
- LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. D. S.; DE ANDRADE, M. J. B.; SOARES, A. L. D. L. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi. **Ceres**, v. 51, n. 293, 2015.
- LIN, L.; XU, X. Indole-3-Acetic Acid production by endophytic *Streptomyces* sp. En-1 isolated from medicinal plants. **Current Microbiology**, v. 67, n. 2, p. 209–217, 2013.
- LINS, M. R. DA C. R. **Seleção de Actinobactérias da Rizosfera da Caatinga com Potencial para Promoção do Crescimento Vegetal**. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Industrial, p. 85, 2014.
- MOREIRA, F. M. S. Estirpes de bactérias altamente eficientes que fornecem nitrogênio para a caupi foram selecionadas na ufla e já são recomendadas para produção de inoculantes comerciais. **Boletim de Extensão da UFLA**, v. 3, p. 1–12, 2005.
- PRABAVATHY, V. R.; MATHIVANAN, N.; MURUGESAN, K. Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. PM5. **Biological Control**, v. 39, n. 3, p. 313–319, 2006.

ROSALES, A. M.; MEW, T. W. Suppression of *Fusarium moniliforme* in Rice by Rice-Associated Antagonistic Bacteria. **Plant Disease**, v. 81, n. 1, p. 49–52, 1997.

SADEGHI, A.; KARIMI, E.; DAHAJI, P. A.; JAVID, M. G.; DALVAND, Y.; ASKARI, H. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1503–1509, 2012.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, p. 507–512, 1974.

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.

SINGH, U. B.; MALVIYA, D.; SINGH, S.; PRADHAN, J. K.; SINGH, B. P.; ROY, M.; SARMA, B. K. Bio-protective microbial agents from rhizosphere eco-systems trigger plant defense responses provide protection against sheath blight disease in rice (*Oryza sativa* L.). **Microbiological Research**, v. 192, p. 300–312, 2016.

SREEVIDYA, M.; GOPALAKRISHNAN, S.; KUDAPA, H.; VARSHNEY, R. K. Exploring plant growth-promotion actinomycetes from vermicompost and rhizosphere soil for yield enhancement in chickpea. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 390–392, 2016.

TADDEI, A.; RODRÍGUEZ, M. J.; MÁRQUEZ, V. E.; CASTELLI, C. Isolation and identification of *Streptomyces* spp. from Venezuelan soils: Morphological and biochemical studies. **Microbiological Research**, v. 161, n. 3, p. 222–231, 2006.

TAMREIHAO, K.; NINGTHOUJAM, D. S.; NIMAICHAND, S.; SINGH, E. S.; REENA, P.; SINGH, S. H.; NONGTHOMBA, U. Biocontrol and plant growth promoting activities of a *Streptomyces corchorusii* strain UCR3-16 and preparation of powder formulation for application as biofertilizer agents for rice plant. **Microbiological Research**, v. 192, p. 260–270, 2016.

TOKALA, R. K.; STRAP, J. L.; JUNG, C. M.; CRAWFORD, D. L.; SALOVE, M. H.; DEOBALD, L. A.; MORRA, M. J. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 5, p. 2161–71, 2002.

TOUMATIA, O.; COMPANT, S.; YEKKOUR, A.; GOUDJAL, Y.; SABAOU, N.; MATHIEU, F.; ZITOUNI, A. Biocontrol and plant growth promoting properties of *Streptomyces mutabilis* strain IA1 isolated from a Saharan soil on wheat seedlings and visualization of its niches of colonization. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 234–239, 2016.

VINCENT, J. M. Manual for the practical study of root nodule bacteria. Oxford: **Blackwell**, p. 164, 1970.

ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; MARSON, B. F.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 4, p. 749–758, 2009.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho apresentou resultados referentes aos isolados de *Streptomyces* que apresentaram capacidade de solubilização de fosfato e produção de ácido indol acético, apresentando compatibilidade entre *Streptomyces* spp. e o inoculante *B. japonicum*, além resultados referentes à capacidade antagônica positivo no biocontrole de *Curvularia lunata* e de *Colletotrichum* sp.

Mostrou a capacidade em promover o crescimento de culturas, como também o efeito positivo da aplicação de *Streptomyces* no crescimento vegetal, desenvolvimento e rendimento da soja em casa de vegetação e campo. Em casa de vegetação com soja proporcionou incremento de biomassa. No experimento em campo as diferentes dosagens de inoculante mostraram-se eficientes na manutenção do estande final de plantas e favoreceu uma maior produtividade de grãos.

Para o feijão caupi no experimento em casa de vegetação e campo, houve um incremento de biomassa, destacando as melhores doses foram de 300 e 400 mL para todos os parâmetros avaliados, além da dose de 300 mL ter apresentado uma eficiência relativa maior nas duas avaliações (20 e 50 DAE), sendo que a maior produtividade de grãos foi obtida com a dosagem de 300 mL.

Dessa forma, foi possível observar que na cultura da soja e feijão caupi as *Streptomyces* tem potencial para serem utilizadas como biofertilizante por apresentarem potencial no crescimento e incorporação de biomassa nas culturas avaliadas, além de favorecer a produtividade.

Com o presente estudo com *Streptomyces* foi observado o seu real potencial dos isolados testados, além do controle biológico e como promotor do crescimento vegetal, direcionado para uso de inoculantes para a região do Cerrado em culturas estratégicas, em função dos resultados desta pesquisa, e para novas áreas em potencial para o uso dos produtos gerados como inoculantes.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v. 48, n. 1–3, p. 154–163, fev. 2009.

CONAB: COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. **Monitoramento agrícola- Safra 2017**, v. 4, n. 1, p. 1–98, 2017.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja**: detecção, importância e controle. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, p. 1-72, 2014.

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

SAADOUN, I.; GHARAIBEH, R. The *Streptomyces* flora of Jordan and its' potential as a source of antibiotics active against antibiotic-resistant Gram-negative bacteria. **Journal of Microbiology & biotechnology**, v. 18, p. 465–470, 2002.

SHE, W.; SUN, Z.; YI, L.; ZHAO, S.; LIANG, Y. *Streptomyces alfalae* sp. Nov. and comparisons with its closest taxa *Streptomyces silaceus*, *Streptomyces flavofungini* and *Streptomyces intermedius*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 44–49, 2016.