

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUALIDADE AMBIENTAL**

**FUNGOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DO FEIJOEIRO, MICORRIZA  
ARBUSCULAR E ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS DO SOLO**

GABRIEL SOUSA ALVES

UBERLÂNDIA – MG

2019

GABRIEL SOUSA ALVES

**FUNGOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DO FEIJOEIRO, MICORRIZA  
ARBUSCULAR E ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS DO SOLO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Mestrado, área de concentração em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Lucas Carvalho Basilio Azevedo

Co-orientador

Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes

UBERLÂNDIA – MG

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

A474f  
2019      Alves, Gabriel Sousa, 1986  
            Fungos promotores do crescimento do feijoeiro, micorriza arbuscular  
            e atributos bioquímicos do solo [recurso eletrônico] / Gabriel Sousa Alves.  
            - 2019.

            Orientador: Lucas Carvalho Basilio Azevedo.  
            Coorientador: Gilberto de Oliveira Mendes.  
            Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
            Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental.  
            Modo de acesso: Internet.  
            Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1297>  
            Inclui bibliografia.  
            Inclui ilustrações.

            1. Qualidade ambiental. 2. Fungos. 3. Microorganismos do solo. 4.  
            Biologia do solo. I. Azevedo, Lucas Carvalho Basilio, 1980, (Orient.). II.  
            Mendes, Gilberto de Oliveira, 1983, (Coorient.). III. Universidade Federal  
            de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. IV.  
            Título.

---

CDU: 574

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

GABRIEL SOUSA ALVES

**FUNGOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DO FEIJOEIRO, MICORRIZA  
ARBUSCULAR E ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS DO SOLO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Mestrado, área de concentração em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADO em 22 de Fevereiro de 2019

Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira	UFU
Prof. Dr. Igor Souza Pereira	IFTM
Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes	UFU

  
Prof. Dr. Lucas Carvalho Basilio Azevedo  
ICIAG-UFU  
(Orientador)

UBERLÂNDIA – MG

2019

***Dedico** este trabalho aos meus familiares, Marco, Sônia, Gustavo e Silvia por ensinar os valores da ética, honestidade e cumplicidade. Cada perseverança e insistência no decorrer dos trabalhos foram, exclusivamente, dedicados a eles.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a empresa BIOSAG® pelo financiamento de toda a pesquisa, estando sempre pronto com o fornecendo recursos técnicos e financeiros, fato crucial para tornar possível toda a pesquisa;

Agradeço ao meu orientador, Dr. Lucas Carvalho Basilio de Azevedo, pela presteza, paciência e sabedoria nas orientações e gostaria de agradecer também por ser tão humano e ótima pessoa. À Pós-Doutoranda Simone Braga, pelo pronto ensinamento em estatística aplicada, sempre muito solícita, além das inúmeras orientações que contribuíram muito com o projeto de pesquisa;

Ao Professor e Co-orientador Dr. Gilberto Mendes, pela disciplina de Microbiologia dos Solos e também pela co-orientação na pesquisa, principalmente na etapa de solubilizadores de fosfato. Aos professores Dr. Hudson de Paula Carvalho, Dr. Roberto Terumi Atarassi e à técnica Marcia Regina Batistela Moraes pelo empréstimo de equipamentos, disponibilização total de uso do laboratório de tecnologia ambiental.

Ao Professor Dr. Denis Coelho Oliveira por confiar o empréstimo do equipamento FluorCam e ter orientado pacientemente acerca do equipamento e sistema fotossintético.

Ao Professor Dr. Hamilton Kikuti pelas orientações acerca dos detalhes no manejo do feijoeiro e por fornecer o espaço da casa de vegetação para desenvolvimento do experimento;

Ao Departamento de obras da UFU, Departamento de jardinagem da UFU e aos responsáveis pela fazenda experimental do Gloria - UFU;

Aos profissionais do Laboratório de Sementes – LASEM, técnico Adílio de Sá Junior e professor Dr. Carlos Machado pelas orientações no teste de germinação;

Ao Professor Dr. Maurício Martins por doar três tipos distintos de cultivares da espécie *Phaseolus vulgaris*;

À Professora Dra. Milla Alves Baffi, pelos esclarecimentos e auxílios na etapa experimental e pelo zelo com os discentes quanto ao uso do LAMIC.

Aos discentes Patrícia, Christyan e Valdeir por auxiliarem no decorrer da fase experimental, tanto em laboratório quanto em casa-de-vegetação.

Às técnicas Luciana Alves e Beatriz pelas orientações nas atividades realizadas no Laboratório de Microbiologia – LAMIC;

## Sumário Geral

### Sumário

Sumário .....	7
RESUMO .....	11
ABSTRACT .....	12
CAPÍTULO 1 .....	13
FUNGOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DO FEIJOEIRO, MICORRIZA ARBUSCULAR E ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS DO SOLO .....	13
INTRODUÇÃO GERAL.....	13
REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
Fungos endofíticos: conceitos e diversidade de funções.....	14
Espécies de fungos testadas.....	16
Mecanismos de promoção de crescimento vegetal por fungos endofíticos .....	17
Inoculação de fungos endofíticos promotores do crescimento vegetal.....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24
CAPÍTULO 2 .....	31
FUNGOS ISOLADOS CONDICIONANDO COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR, ATIVIDADE BIOLÓGICA, CARBONO ORGÂNICO E CONCENTRAÇÃO DE MAGNÉSIO NO SOLO SOB <i>PHASEOLUS VULGARIS</i> L.....	31
ABSTRACT .....	31
RESUMO .....	32
INTRODUÇÃO .....	33
MATERIAL E MÉTODOS .....	34
Ensaio em casa de vegetação.....	34
Aplicação de fungos promotores do crescimento vegetal.....	35
Inoculação de isolados fúngicos.....	35
Acompanhamento fenológico e monitoramento .....	36
Área foliar.....	36
Massas fresca e seca do feijoeiro.....	37
Fertilidade do solo e nutrientes no tecido vegetal .....	37
Colonização micorrízica arbuscular .....	37
Fungos solubilizadores de fosfato .....	38
Análise estatística.....	38
RESULTADOS .....	39
Massa fresca e seca do feijoeiro .....	39
Fertilidade do solo e nutrientes nos tecidos vegetais.....	41
Colonização micorrízica arbuscular.....	44
Fungos solubilizadores de fosfato.....	44

DISCUSSÃO .....	49
CONCLUSÃO .....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Monitoramento interno de temperatura, umidade da casa de vegetação. ....34
- FIGURA 2 -** Colonização micorrízica arbuscular (%), unidades formadoras de colônia (UFC g<sup>-1</sup>) de fungos solubilizadores de fosfato em meio NBRIP e atividade enzimática em *Phaseolus vulgaris* L. submetidos a aplicação de inóculos fúngicos.....42
- FIGURA 3 –** Análise de componentes principais avaliando parâmetros biológicos e de fertilidade do solo em *Phaseolus vulgaris* L. inoculados com fungos endofíticos. ....44

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1.** Efeitos observados com a inoculação de fungos endofíticos e prováveis mecanismos de promoção do crescimento vegetal. ....12
- TABELA 1.** Fertilidade do solo antes do início do experimento, ausente de correção de acidez, adubação e inoculação de isolados fúngicos. ....32
- TABELA 2 -** Variáveis do crescimento de *Phaseolus vulgaris* L. comparando os tratamentos com inóculos fúngicos isolados ou em consorcio biológico com o tratamento controle. ....38
- TABELA 3 -** Fertilidade do solo sob efeito rizosférico utilizado para desenvolvimento de *Phaseolus vulgaris* L. sob inoculação com fungos promotores de crescimento vegetal.....40
- TABELA 4 -** Variáveis analisadas no tecido vegetal da parte aérea a fim de comparar os tratamentos com inóculos fúngicos isolados ou em consorcio biológico com o tratamento controle.....41
- TABELA 5 -** Efeitos de aplicação de isolados fúngicos sobre a fertilidade e biologia do solo sob efeito rizosférico, crescimento e nutrientes do tecido vegetal de *Phaseolus vulgaris* L. quando comparados ao controle. NS, sem diferença significativa em relação ao controle; +, valores maiores que o controle; -, valores menores que o controle. ....46

## LISTA DE SÍMBOLOS

FPCV	Fungos promotores do crescimento vegetal;
AIA	Ácido indol acético;
GA	Giberelinas;
MIP	Manejo Integrado de Pragas;
HTP	Hidrocarbonetos totais de petróleo;
FNR	Fosfato natural reativo OCP;
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de cálcio;
NaClO	Hipoclorito de sódio;
KOH	Hidróxido de cálcio;
HCl	Ácido clorídrico;
UFC	Unidades formadoras de colônias;
NBRIP	<i>National Botanical Research Institute's phosphate growth medium;</i>
NaCl	Cloreto de sódio;
FDA	Diacetato de Fluoreceína;
PCA	Análise de componentes principais;
MFPA	Massa fresca da parte aérea;
MFRz	Massa fresca da raiz;
MSPA	Massa seca da parte aérea;
MSRz	Massa seca da raiz;
C org.	Carbono orgânico;
NT	Nitrogênio Total (TN);
Pmeh	Fósforo Mehlich (Pmeh);
T	Capacidade de troca de cátions;
V%	Saturação por bases

## RESUMO

ALVES, GABRIEL SOUSA. **Fungos promotores do crescimento do feijoeiro, micorriza arbuscular e atributos bioquímicos do solo** 2018, 57p. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

A busca pelo aumento da produtividade vegetal geralmente resulta no uso de insumos agrícolas vindos da mineração ou sintéticos, podendo causar efeitos deletérios nos processos ecológicos e nos ciclos biogeoquímicos. Neste cenário, pesquisas sobre alternativas biológicas para promover o crescimento vegetal são importantes para melhoria da qualidade ambiental nas atividades agrícolas. Um grupo importante de microrganismos benéficos são os fungos endofíticos promotores de crescimento vegetal, os quais podem agir por meio de regulação de síntese de fitormônios, indução do sistema de defesa da planta ou controle por meio de patogênese contra pragas e doenças. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito da aplicação desses fungos sobre os processos biológicos e sobre a fertilidade do solo. Assim, foram investigados os efeitos de cinco isolados fúngicos (*Beauveria bassiana*; *Trichoderma asperellum*; *Metarhizium anisopliae*; *Purpureocillium lilacinum*; *Pochonia chlamydosporia*) sobre Parâmetros químicos do solo, variáveis do tecido vegetal e parâmetros biológicos. Levantou-se a hipótese de que esses fungos podem estimular a microbiota e atributos de fertilidade da rizosfera, resultando em melhoras para o crescimento vegetal. O emprego dos fungos endofíticos testados, isolados ou em consórcio, potencializaram a colonização micorrízica e atividade de FDA, além de refletir na fertilidade do solo (índices de CTC e magnésio), na massa seca e fresca do sistema radicular, na massa seca da parte aérea. Por outro lado, os resultados para a atividade das enzimas fosfatase ácida, arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase, não apresentaram resultados significativos. As alternativas biológicas aos insumos minerais e sintéticos podem subsidiar práticas e manejos que estimulem o equilíbrio ecológico ao solo, melhorando as funções naturais e a qualidade ambiental na produção de alimentos. Este trabalho demonstra a versatilidade apresentada pelos isolados fúngicos estudados, além de apresentar inúmeras linhas de pesquisa potencialmente aplicáveis a fim de avançar neste cenário de microrganismos utilizados em atividades agrícolas.

Palavras-chave: Fungos endofíticos, fungos rizosféricos, condicionador do solo, microbiologia do solo, atividade enzimática.

## ABSTRACT

ALVES, GABRIEL SOUSA. **Fungi promoters of bean growth, arbuscular micorrize and soil biochemical attributes** 2018, 57p. Dissertation (Master in Environmental Quality) - Federal University of Uberlândia, Uberlândia.

The search for increased plant productivity usually results in the use of mined or synthetic agricultural inputs, which can cause deleterious effects on ecological processes and biogeochemistry cycles. In this scenario, research on biological alternatives to improve plant growth is important for improving environmental quality in agricultural activities. An important group of beneficial microorganisms are plant growth promoting endophytic fungi, which can act by regulation of phytohormone synthesis, induction of the plant defense system or control by pathogenesis against pests and diseases. However, little is known about the effect of the application of these fungi on biological processes and on soil fertility. Thus, the effects of five fungal isolates (*Beauveria bassiana*; *Trichoderma asperellum*; *Metarhizium anisopliae*; *Purpureocillium lilacinum*; *Pochonia chlamydosporia*) on soil chemical parameters, plant tissue variables and biological parameters were investigated. It was hypothesized that these fungi may stimulate the microbiota and fertility attributes of the rhizosphere, resulting in improvements to plant growth. The use of endophytic fungi tested, isolated or in a consortium, potentiated the mycorrhizal colonization and FDA activity, besides reflecting on soil fertility (CTC and magnesium indices), dry and fresh root system mass, dry mass aerial, on the other hand, the results for the activity of the enzymes acid phosphatase, arilsultaphase and  $\beta$ -glycosidase, did not present significant results. Biological alternatives to mineral and synthetic inputs may support practices and management that stimulate ecological balance in the soil, improving natural functions and environmental quality in food production. This work demonstrates the versatility presented by the studied fungal isolates, besides presenting numerous lines of research potentially applicable in order to advance in this scenario of microorganisms used in agricultural activities.

Key words: Direct and indirect mechanism, Plant growth, Endophytic fungal Versatility, biological fertilization, reduction of agricultural inputs use;

CAPÍTULO 1  
FUNGOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DO FEIJOEIRO, MICORRIZA  
ARBUSCULAR E ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS DO SOLO

**INTRODUÇÃO GERAL**

A população mundial em franco crescimento e desenvolvimento tem pressionado o aumento de produção agrícola e a busca por mais recursos naturais como água, energia e nutrientes (GODFRAY et al., 2010). Sob um cenário de aumento de demanda de alimentos e pressão sobre vegetações nativas para expansão de terras agricultáveis, o aumento de produtividade em uma mesma área é importante para buscar a preservação dos recursos naturais (REES et al., 2014).

Conjuntamente com o uso de cultivares melhoradas, uma das formas de aumentar a produtividade é o uso de insumos externos, como fertilizantes e agrotóxicos. Isso é especialmente importante em áreas tropicais úmidas, onde os solos são de baixa fertilidade natural e a ocorrência de pragas e doenças é constante. No entanto, o alto uso de fertilizantes minerais pode levar ao esgotamento de minérios, emissão de gases do efeito estufa, redução de microrganismos benéficos no solo e causar eutrofização de águas superficiais. Já o uso intenso de pesticidas pode levar à perda de biodiversidade e contaminação de águas e alimentos. Nesse contexto, a pesquisa e investimento em produção agrícola sustentável é uma vertente de grande importância, alternativamente, que requer atenção (PILAU; PEDREIRA, 2016).

O condicionamento biológico do solo ou a inserção de microrganismos benéficos pode auxiliar a explorar os recursos do ambiente de forma eficiente e integrada aos processos naturais do solo. Em meio a grande biodiversidade no solo, há microrganismos benéficos à produção vegetal, como fungos micorrízicos, diazotróficos, solubilizadores e mineralizadores de nutrientes, antagonistas de patógenos e reguladores de fitormônios. Dentre os microrganismos com potencial de melhorar o crescimento vegetal, alguns fungos endofíticos colonizam o interior do tecido e órgãos vegetais, podendo desenvolver parte ou todo o seu ciclo de vida em associação interna com o hospedeiro (OIKOS, 2016). Nas interações com plantas, os fungos endofíticos têm apresentado bons resultados quanto à promoção de crescimento vegetal. Esses efeitos são produzidos por mudanças na fisiologia vegetal, crescimento de raízes, controle de pragas e doenças, e aumento da tolerância contra estresses bióticos e abióticos (FARIAS et al., 2018; BARELLI et al., 2016, KHAN; LEE, 2013; TIWARI, et al., 2015; AZEVEDO, 1998). Muitos desses fungos também crescem e colonizam a rizosfera. Uma vez que os mecanismos que geram melhor crescimento vegetal ainda não são completamente conhecidos, é possível

que a promoção da produção vegetal também seja uma consequência da melhora das condições físicas, químicas e biológicas do solo. Nesse contexto, esses isolados fúngicos agiriam como condicionadores biológicos do solo.

Dessa forma, a utilização desses fungos de rizosfera pode ser uma alternativa ao uso de insumos externos como fertilizantes e pesticidas na produção agrícola. Devido ao potencial tecnológico de importância ambiental, o interesse e o estudo sobre os fungos promotores de crescimento vegetal vem aumentando. A fim de contextualizar o assunto sobre fungos endofíticos e suas potencialidades na agricultura e em tecnologias ambientais, o presente capítulo traz os avanços no conhecimento dos efeitos e mecanismos desses promotores do crescimento vegetal para o aumento de produtividade, controle de pragas e doenças e descontaminação química do ambiente.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### **Fungos endofíticos: conceitos e diversidade de funções**

Organismos que colonizam e passam parte ou todo o ciclo de vida no tecido vegetal são denominados de endofíticos. Esses organismos são encontrados no interior de tecidos e órgãos de inúmeras espécies vegetais em relações mutualísticas ou simbióticas. A presença de microrganismos que habitam o interior do tecido vegetal tende a levantar questionamentos quanto à patogenicidade ou não-patogenicidade aos hospedeiros. A resposta da interação endofítico–planta depende das condições bióticas e abióticas e dos genótipos envolvidos nesta associação (HARDOIM et al., 2015). Desse modo, as características genéticas do hospedeiro e do endofítico podem gerar resultados distintos, conforme estudo que avaliou resultados diferentes atribuídos a um mesmo fungo, *Fusarium verticillioides* (BACON et al., 2008). Esse fungo causou efeitos ambíguos em milho, podendo ser considerado patogênico ou endofítico assintomático a depender do estágio fenológico da planta (BACON et al., 2008).

Dentre os microrganismos endofíticos, há várias espécies de fungos pertencentes a diferentes filos que colonizam desde as raízes até a parte aérea (OIKOS, 2016). Descobertos no início do século XIX, os fungos endofíticos, por habitarem o interior do hospedeiro, eram inicialmente confundidos com patogênicos, sendo melhores detalhados apenas no início dos anos 1980. A comprovação da colonização em hospedeiros vegetais e do controle de pragas se deu nos anos 1990 (RAI et al., 2014).

Os efeitos dos fungos endofíticos para as plantas podem ser: (I) indiretos, como o controle de patógenos e pragas por micoparasitismo e indução de mecanismos de defesa pela planta; e (II) diretos sobre o crescimento vegetal, sendo as relações de homeostases hormonais e os mecanismos de solubilização/mineralização de minerais as principais causas desses efeitos (MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014).

Potencializar a associação com fungos micorrízicos arbusculares (KRAUSE et al., 2015a; KRAUSE et al., 2015b; LARIMER et al., 2012; ROZP et al., 2018), sínteses de ácidos orgânicos com potencial de regulações fitormonais (BALLARÉ, 2011; ETEMADI et al., 2014; FOO et al., 2013), atenuação dos efeitos de estresses bióticos e abióticos (TIWARI et al., 2016) são resultados do condicionamento do solo ocasionados pelo emprego de fungos endofíticos.

Nesse contexto, esses fungos apresentam funcionalidades com propósitos agropecuários (aumento de produtividade), farmacológicos e medicinais (regulação de síntese de princípios ativos vegetais ou fúngicos).

Muitos fungos endofíticos promovem o crescimento vegetal, com aumento de massa de raízes, parte aérea, proteção contra doenças e pragas, tolerância a estresses bióticos e abióticos e até o condicionamento biológico do solo. Eles são conhecidos como fungos promotores do crescimento vegetal (FPCV). Esse aumento do crescimento vem do papel dos fungos endofíticos em produzir fitohormônios como auxinas e giberelinas (MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014) ou regular a produção por parte da planta. Além disso, podem ter efeito na mineralização e solubilização de nutrientes, agir diretamente contra patógenos e pragas ou estimular o sistema de defesa vegetal e produzir metabólitos secundários (Tabela 1).

Tabela 1 – Efeitos observados com a inoculação de fungos endofíticos e prováveis mecanismos de promoção do crescimento vegetal.

<b>Efeitos</b>	<b>Mecanismo</b>
Crescimento de raízes e parte aérea	Produção de fitohormônios pelos fungos: auxinas, giberelinas, ácido abscísico. Regulação de produção de fitohormônios pela planta.
Melhora da nutrição	Solubilização de fosfato. .
Tolerância a estresse hídrico.	Maior crescimento de raízes
Tolerância a doenças	Controle direto dos FPCV sobre o patógeno. Estímulo do sistema de defesa vegetal

	Ácido salicílico e ácido jasmônico.
	Produção de alcaloides.
Condicionamento do solo	Solubilização e mineralização de nutrientes, estímulo a outros organismos benéficos às plantas.

---

Fonte: Autor

Apesar do conhecimento de alguns dos efeitos sobre as plantas, relatos de novos isolados fúngicos e mecanismos de efeitos sobre o crescimento vegetal vem aumentando, revelando um cenário com potencialidades de aplicação tecnológica que podem substituir ou aumentar a eficiência de fertilizantes minerais e pesticidas (RAI et al., 2014). No entanto, quando comparadas aos estudos de associação micorrízica, as pesquisas de associações entre fungos endofíticos e plantas são incipientes (RAI et al., 2014).

### **Espécies de fungos testadas**

O efeito da aplicação de cinco isolados fúngicos sobre a fertilidade e biologia do solo sob feijoeiro foi estudado. Os cinco isolados testados foram: *Beauveria bassiana*, *Trichoderma asperellum*, *Metarhizium anisopliae*, *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*.

O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill, pertencente ao filo *Ascomycota* (Classe Sordariomycetes, Ordem Hypocreales e Família Cordycipitaceae), tem larga aplicação como defensivo, principalmente na categoria inseticida, podendo causar a infecção em diversas ordens, tais como Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Diptera (ALVES, 1998). É um fungo filamentosos de coloração branca tendendo para o amarelo, de aparência levemente cotonosa, com hifas septadas de parede lisa e conídios com variações sub esféricas com dimensões da ordem de 3-6 µm (REHNER et al., 2011) e coloniza a rizosfera (TAYLOR et al., 2007).

Também entomopatogênico, a espécie de fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, (Classe Sordariomycetes, Ordem Hypocreales e Família Clavicipitaceae) é considerado um acaricida com conidióforos em cuja extremidade origina os esporos bem característicos e de diversas dimensões, variado de 9,0 – 18,0 µm. Apresenta hifas septadas e reprodução assexuada e parassexuada (ALVES, 1998) e colonizam a rizosfera (SCHRANK et al., 2010), é capaz de colonizar a rizosfera (DIAS-ARIEIRA et al., 2011). O fungo *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & W. Gams) (Classe Sordariomycetes, Ordem Hypocreales e Família Clavicipitaceae) teve seu primeiro produto a base de *P. chlamydosporia* registrado pelo

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA em 2016, após estudos que comprovaram sua eficácia no controle de ovos de nematoides (VIGGIANO; FREITAS; LOPES, 2014). Além de colonizar ovos de nematoides e tecidos vegetais, o *P. chlamydosporia* também tem características soprofiticas (MANZANILLA-LOPEZ, 2013). Presentes em solos rizosféricos, este fungo filamentosos possui conídios de dimensões e formatos variados, com hifas diferenciadas e septadas (ZARE; GAMS, 2001).

Anteriormente conhecido como *Paecilomyces lilacinus* (Samson, 1974), o fungo *Purpureocillium lilacinum* (Thom. Bull.) Bur. (Classe Ascomycetes, Ordem Eurotiales e Família Trichocomaceae) tem sua reprodução assexuada, é filamentosos e apresenta características nematicidas, sendo utilizado como agente de biocontrole. Apresenta micélios aéreos com coloração branca no início alterando para coloração púrpura. Os conídios são dispostos em cadeias, com características translúcidas (hialino) e quando em agrupamento, róseo (LUANGSA-ARD et al., 2011).

Pertencente ao filo Ascomycota, o fungo *Trichoderma asperellum* (Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg) (Classe *Hypocreomycetidae*, Ordem *Hypocreales* e Família *Hypocreaceae*) habita naturalmente o solo, mais precisamente a rizosfera (HOYOS-CARVAJAL et al., 2009). Apresenta características saprofiticas, colonizando o solo e participando da ciclagem de nutrientes ali presentes, potencializando a disponibilidade desses nutrientes para o meio (SAITO et al., 2009; SINGH et al., 2018). Apresenta filamentos, com hifas septadas e micélio com coloração esverdeada e formadora de anéis concêntricos de rápido desenvolvimento (ZHOU et al., 2014).

### **Mecanismos de promoção de crescimento vegetal por fungos endofíticos**

Uma vez concretizada a associação entre fungo-planta, inúmeros processos de ordem direta e indireta ocorrem e são responsáveis pela promoção de crescimento vegetal. Os processos diretos envolvem produção de vitaminas e de hormônios vegetais, como giberelinas e auxinas, regulação de síntese hormonal pela planta, absorção e translocação de nutrientes. Já os processos indiretos são resultados da produção de sideróforos, solubilização e mineralização de nutrientes no solo, controle de pragas e doenças e indução do sistema de mecanismo de defesa do hospedeiro vegetal. É possível também que o condicionamento físico-químico e biológico do solo pelos fungos estimule o crescimento vegetal (DEZAM et al., 2017; REJSEK et al., 2012).

Dentre os efeitos, o crescimento radicular geralmente é observado quando se inocula fungos endofíticos promotores de crescimento vegetal, mas também são relatados aumento de área foliar, aumento de taxas de clorofila e tolerância aos estresses bióticos e abióticos (VERMA et al., 2016; HALLMANN, et al., 1997).

### **Produção de fitormônios**

Os FPCV podem produzir fitohormônios ou regular a indução ou inibição da síntese pela planta. Alterações na concentração de auxinas (RAGHAVENDRA et al., 2010; KIDD, 2009; PETRASEK, 2011), giberelinas, etileno, ácido abscísico, ácido salicílico e ácido jasmônico (CONTRERAS- CORNEJO et al., 2011) já foram relatados quando o vegetal é inoculado com FPCV (HAN et al., 2015).

O efeito mais conhecido do ácido indol acético (AIA) é como regulador de crescimento vegetal desenvolvendo inúmeros processos na planta, como crescimento da parte aérea e principalmente do sistema radicular (BARTEL, 1997). Trabalho avaliando os resultados de promoção de crescimento vegetal causados pela associação de fungos endofíticos com plantas comprovam uma relação direta entre aceleração de taxas de germinação, promoção de crescimento vegetal e a produção de fitohormônios.

Gravel et al. (2007) comprovam a síntese de AIA após triptofano metabolizado em sistema radicular de tomateiro por bactéria das espécies *Pseudomonas putida* e fungos da espécie *Trichoderma atroviride*, ambos endofíticos, refletindo diretamente na promoção de crescimento vegetal após a inoculação destes microrganismos em exemplares vegetais. *Trichoderma sp.*, *Beauveria bassiana* e *Penicillium sp* demonstraram a capacidade de sintetizar AIA (COSTA et al., 2012). Embora todas as cepas conduzidas no estudo demonstraram a capacidade de síntese do fitohormônio, o *Trichoderma sp.* apresentou os resultados mais relevantes para a síntese de ácido indol acético (COSTA et al., 2012).

A inoculação de fungos endofíticos em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) e grão de bico (*Cicer arietinum*) resultaram em picos instantâneos maiores para produção de AIA e potencializaram as taxas de germinação destas sementes, quando comparadas aos tratamentos controle (BHAGOBATY e JOSHI, 2009). A síntese de auxina que reflete em maior rizogênese tende a apresentar resultados significativamente distintos para a massa das raízes (SILVA et al., 2006), potencializando assim, maior colonização micorrízica e diferença significativa na massa da parte aérea em tratamentos com inóculos.

As giberelinas (GA) são fitohormônios com função no alongamento de caule, germinação

de sementes, desenvolvimento de fruto, flores e promoção de crescimento vegetal. A expressão gênica desse fitohormônio é potencializada na associação planta-fungo, refletindo na síntese de GA (BÖMKE & TUDZYNSKI, 2009). Estudos moleculares apontam que fungos endofíticos são sintetizadores de GA (MITTER et al., 2002).

A síntese de giberelinas e AIA está presente também em fungos endofíticos do gênero *Phoma sp.* e *Penicillium sp.* onde hormônios ativos e inativos foram identificados após associação deste gêneros com uma espécie de pepino (WAQAS et al., 2012). Ainda neste trabalho, que aponta uma maior síntese de AIA e maior rizogênese, apresentou-se uma maior tolerância de pepino inoculado para meios salinos e secos.

Os estudos de endofíticos associados a plantas e sintetizando fitohormônios têm ganhado relevância da comunidade científica (KHAN et al., 2012). Embora a pesquisa seja promissora, estudos focados na quantidade de endofíticos colonizando o interior da célula vegetal têm demonstrado que os efeitos podem ser neutros ou positivos, indicando para um balanço custo-benefício mais voltado para as vantagens da associação e consequente promoção de crescimento (HARDOIM et al., 2015).

### **Efeitos no solo e na rizosfera**

Local da maior interação entre microrganismos e a planta, a rizosfera abriga importantes processos e sistemáticas desta associação (CAVALCA ; ANDREOTE, 2016). A utilização de fungos endofíticos promotores de crescimento vegetal tende a condicionar biologicamente o solo quanto à atividade enzimática e colonização micorrízica, condicionando fisicamente também, uma vez que o acesso à água e nutrientes fica potencializado, além de maior agregação do solo. Quanto aos atributos de fertilidade do solo e maiores índices de magnésio no solo, podem ser alcançados.

Encontrados em solos rizosféricos, os fungos testados tendem a ser potenciais fontes de produtos promotores de crescimento vegetal, além de apresentar versatilidade para seus empregos.

Um dos efeitos é a produção de sideróforos, que possibilitam que o ferro presente no meio seja assimilado pelos microrganismos e seu excesso torna-se disponível para as plantas. Os sideróforos podem ser liberados por microrganismos endofíticos e estimular o crescimento de plantas em meios com deficiência de ferro (HÖRDT et al., 2000). O mecanismo de disponibilização de ferro para a planta se inicia com a liberação de sideróforos por parte dos microrganismos com o objetivo de suprir necessidades próprias. O sideróforo realiza o processo

de quelação, suprindo os microrganismos, contudo também fica disponível às plantas (JOHNSON, 2008).

Além das funções, é importante conhecer o comportamento e o tempo que os fungos endofíticos permanecem no interior das raízes do hospedeiro é crucial para o entendimento da associação. Por isso, Greenfield et al., (2016) avaliaram o tempo que cinco estirpes de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* permanecem no interior do sistema radicular de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Para a espécie *B. bassiana*, os níveis de colonização são de 84% no 7º dia após a inoculação e essa taxa decresce para 40% no 47º dia após a inoculação. Comparando com a espécie *M. anisopliae*, os níveis permaneceram estáveis em 80% de colonização do sistema radicular tanto no 7º dia após a inoculação quanto no 47º dias após a inoculação, configurando assim uma colonização mais uniforme e constante no tempo.

Embora os estudos de alternativas mais sustentáveis para a fertilização de solos agricultáveis, pouco se sabe sobre os mecanismos de promoção de crescimento vegetal potencializados por fungos endofíticos, especulando a síntese de fitohormônios ou talvez a expressão gênica no hospedeiro, além dos efeitos indiretos como a entomopatogênese.

### **Controle de pragas e doenças**

Os primeiros efeitos de fungos endofíticos que chamaram atenção de pesquisadores e desenvolvedores de técnicas e produtos agrícolas foi o potencial de controle de pragas, e não o de crescimento vegetal (AZEVEDO, 1998). Vários estudos mostram a versatilidade de fungos endofíticos como entomopatógenos (AZEVEDO, 1998; JABER ; ARAJ, 2018; LOPEZ e SWORD, 2015; FARIA ; WRAIGHT, 2007; CASTRILLO et al., 2011). O emprego de estirpes de *B. bassiana* e *Purpureocillium lillacinum* resultaram no controle de *Helicoverpa zea* além da maior produção de biomassa seca do algodoeiro (LOPEZ e SWORD, 2015). Assim, há potencial de se utilizar esses fungos objetivando um manejo de pragas integrado aos processos ecológicos no sistema produtivo. Como exemplo, o manejo dos fungos endofíticos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium brunneum* integrados a uma espécie de vespa mostrou-se eficiente para o controle de *Myzuz persicae* (pulgão), demonstrando a sua alternativa promissora para o Manejo Integrado de pragas - MIP (JABER ; ARAJ, 2018). De forma geral, o uso comercial de fungos dos gêneros *Beauveria* e *Metarhizium* para o controle de pragas têm larga utilização e são bem consolidados quanto às culturas agrícolas (GARRIDO-JURADO et al., 2017; FARIA ; WRAIGHT, 2007; CASTRILLO et al., 2011).

O controle das pragas vem do parasitismo após a infecção e colonização de insetos pelos fungos. Os fungos endofíticos iniciam a infecção de uma praga mediante penetração de estruturas fúngicas, hifas, por entre suas cutículas. Esta inserção é possibilitada pela ação mecânica e de enzimas capazes de degradar o exoesqueleto destes insetos, como acetilglicosaminidases, proteases, quitinases, lipases e esterases (LEGER et al., 1996; SCHRANK ; VAINSTEIN, 2010 ; PEDRINI et al., 2013). Então, os fungos utilizam o conteúdo interno do inseto como fonte de carbono e nutrientes, permitindo o seu crescimento e formação de estruturas reprodutivas (HUMBER, 2011).

Já o controle de doenças de plantas desempenhado por fungos endofíticos tem sido relacionado principalmente com a síntese de metabólitos secundários capazes de realizar o controle do fitopatógeno. No entanto, este controle depende da natureza dos organismos envolvidos e das condições que os mesmos se encontram. Como exemplo deste controle, o metabólito 13-oxo-9,11-octadecadienoico, sintetizado pelo fungo *Paracaniothyrium variabilie*, tende a desorganizar as estruturas miceliais do fungo fitopatogênico *Fusarium oxysporum* (COMBÈS et al., 2012).

Os nematoides fitopatogênicos trazem prejuízo por diminuir a produtividade agrícola. Muitos dos fungos endofíticos podem controlar esses agentes. Os fungos do gênero *Pochonia*, que colonizam ovos de nematóides controlando o avanço desde as primeiras fase de vida (STOLERU ; SELITO, 2016; ESCUDERO ; LOPEZ-LLORCA, 2012).

Outro modo de controle de patógenos e pragas pelos fungos endofíticos é a ativação do sistema de defesa vegetal. Quando colonizado pelos fungos, as plantas podem ter aumento de tolerância ao ataque de pragas e colonização de patógenos vegetais (SCHULZ e BOYLE, 2005).

### **Tolerância à estresses abiótico**

Os fungos endofíticos podem aumentar a tolerância de vegetais a estresses abióticos, como salinidade, estresse hídrico e poluição do solo. Geralmente, a tolerância vem como efeito secundário do maior sistema radicular e melhor nutrição vegetal.

A regulação de fitormônios como ácido jasmônico e ácido abscísico, seguida de síntese de hormônios como giberelinas foi encontrada e relacionada à resistência ao estresse hídrico quando o fungo *Aspergillus fumigatus* foi inoculado em *Glycine max L.* (WAQAS et al., 2012).

A determinação de tolerância a metais pesados pela aplicação de fungos benéficos também já foi relatada. Khan e Lee, (2013) testaram o potencial que a associação entre o endofítico *Penicillium funiculosum* e uma variedade *Glycine max L.* teriam para resistir a meios

contaminados com metal cobre em elevada concentração e concluíram que a presença destes fungos possibilitaram a biorremediação e redução significativa dos elevados índices de contaminação do meio.

Os mesmos cinco fungos estudados nesse trabalho foram testados para melhora da fitorremediação de colunas de solo contaminadas com metais pesados, destacando que a translocação dos metais foram maiores em tratamentos com inoculação de fungos, além do aumento de massa da parte aérea e do sistema radicular (FARIAS, 2018).

O mecanismo utilizado pelos fungos endofíticos para realizar a biorremediação foi demonstrado em imagens no estudo de Babu et al. (2014), que utilizaram meios contaminados por metais de atividade mineradora e aplicaram esporos de *Trichoderma virens*. Estes autores demonstraram que o desenvolvimento de vacúolos nas hifas fúngicas eram as responsáveis pela biotransformação dos metais presentes no meio, bioacumulando e reduzindo os índices de contaminação. A ausência de vacúolos nos tratamentos cujo meio não haviam metais de mineração confirmaram a hipótese testada.

Os estudos com variados poluentes têm demonstrado a versatilidade dos microrganismos endofíticos. Soleimani et al. (2010) testaram em gramíneas inoculados e não inoculados com fungos endofíticos a capacidade de resistir a meios contaminados com hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) e apontaram maior desenvolvimento do sistema radicular e da biomassa vegetal nos tratamentos com inóculos.

Ainda com base nos benefícios que um maior sistema radicular pode trazer na capacidade de resistir a estresse abiótico, Kidd et al. (2009) destacaram que o sistema radicular mais desenvolvido tende a acessar maior porção de solo e conseqüentemente ter maior disponibilidade de água e nutrientes, além de maior superfície de contato destinada a associação micorrízica.

### **Inoculação de fungos endofíticos promotores do crescimento vegetal**

As formas de aplicação dos fungos endofíticos podem ser realizadas via inoculação na semente, pulverização na parte aérea e no solo. Para inóculo nas sementes, foi relatado que quanto maior o tempo de contato da suspensão fúngica, maior o efeito no crescimento vegetal (JABER ; ENKERLI, 2016). Embora a inoculação em sementes seja uma forma bem utilizada, uma alternativa para disponibilizar estes microrganismos seria via pulverização na parte aérea da planta auxiliando no controle de pragas. A aplicação de fungos endofíticos por aspersão com pulverizadores resultou em controle de larva *Spodoptera littoralis*, além de apresentar uma

colonização de raízes, folhas e caule após 96 horas da aplicação (RESQUÍN-ROMERO et al., 2016).

Sánchez-Rodríguez et al (2018) avaliaram o efeito de métodos de aplicação de estirpes de *B. bassiana* sobre o crescimento vegetal e o controle da praga *Spodoptera littoralis* em trigo. Para os resultados de produtividade a aplicação de endofíticos no solo representou um aumento de 40%, enquanto que para o controle da praga, mortalidade de 30-57% foram registradas quando as lagartas receberam dieta de folhas dos tratamentos com inoculação de fungos endofíticos nas sementes de trigo. O estudo aponta a importância do aprofundamento em estudos com objetivos simultâneos.

Sementes de *Vicia faba* foram imersas em uma solução contendo conídios de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium brunneum* por distintos intervalos de tempo e os resultados refletiram na aumento de massa fresca do sistema radicular e parte aérea, além de reduzir o tempo de emergência de sementes (JABER ; ENKERLI, 2016). Sementes de algodão foram imersas em solução com conídios de *Beauveria bassiana* e *Purpureocillium lilacinum*, acondicionadas em câmaras escuras à 28°C por 24 horas e plantadas úmidas para início do experimento, avaliando que a biomassa e números de nós (ramificações) das plantas inoculadas foram maiores que os tratamentos controles (LOPEZ ; SWORD, 2015).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S. B.; FERRAZ, L. C. C. B.; CASTELLO BRANCO JUNIOR, A. Chave para identificação de patógenos de insetos. In: ALVES, S. B. (ed.). Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 1039-1074.
- AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos: ecologia microbiana. 1. ed. Goiânia: UFGO, 1998.
- BABU, A. G.; SHIM, J.; BANG, K. S.; SHEA, P. J.; OH, B. T. *Trichoderma virens* PDR-28: A heavy metal-tolerant and plant growth-promoting fungus for remediation and bioenergy crop production on mine tailing soil. **Journal of Environmental Management**, [S . l], v. 132, p. 129-134, 2014.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.10.009>
- BACON, C. W.; GLENN, A. E.; YATES, I. E. *Fusarium verticillioides*: Managing the endophytic association with maize for reduced fumonisins accumulation. **Toxin Reviews**, [S . l], v. 27, n. 3 - 4, p. 411-446, 2008. <https://doi.org/10.1080/15569540802497889>
- BALLARÉ, C. L. Jasmonate-induced defenses: a tale of intelligence, collaborators and rascals. **Trends in plant science**, Cambridge, MA, v. 16, n. 5, p. 249-257, May 2011.  
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.12.001>
- BARELLI, L.; MOONJELY, S; BEHIE, S. W.; BIDOCHKA, M. J. Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi. **Plant Molecular Biology**, [S . l], v. 90, n. 6, 657 - 664. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0413-z>.
- BARTEL, B. Auxin Biosynthesis. Annual review of plant physiology and plant molecular biology, [S . l], v. 48, p. 51 - 66, 1997. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.48.1.51>
- BHAGOBATY, R. K.; JOSHI, S. R. Promotion of seed germination of green gram and chick pea by *Penicillium verruculosum* RS7PF , a root endophytic fungus of *Potentilla fulgens* L. **Advance Biotechnology**, India, v. 8, n. 12, p. 16 -18, 2009.
- BÖMKE, C.; TUDZYNSKI, B. Diversity, regulation, and evolution of the gibberellin biosynthetic pathway in fungi compared to plants and bacteria. **Phytochemistry**, [S . l], v. 70, n. 15-16, p. 1876 - 1893, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.05.020>
- CASTRILLO, L. A.; GRIGGS, M. H.; RANGER, C. M.; REDING, M. E.; VANDENBERG, J. D. Virulence of commercial strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) against adult *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and impact on brood. **Biological Control**, [S . l], v. 58, n. 2, p. 121-126, 2011.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.010>
- CAVALCA, L., ZANCHI, R., CORSINI, A., COLOMBO, M., ROMAGNOLI, C., CANZI, E., ANDREONI, V., 2010. Arsenic-resistant bacteria associated with roots of the wild *Cirsium arvense* (L.) plant from an arsenic polluted soil, and screening of potential plant growth-promoting characteristics. **Sys. Appl. Microbiol.** [S . l], v. 33, p.154 -164.  
<https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.02.004>

COMBÈS, A.; NDOYE, I.; BANCE, C.; BRUZAUD, J.; DJEDIAT, C.; DUPONT, J.; NAY, B.; PRADO, S. Chemical Communication between the Endophytic Fungus *Paraconiothyrium Variable* and the Phytopathogen *Fusarium oxysporum*. **PLoS ONE**, [S . I], v. 7, n. 10, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047313>

CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al. Trichoderma-induced plant immunity likely involves both hormonal and camalexin dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. **Plant signal & behavior**, Georgetown, TX, v. 6, n. 10, p. 1.554-1.563, Oct. 2011. DOI: 10.4161/psb.6.10.17443.

COSTA, L. U. Z.; DA, J.; COSTA, L. U. Z. Universidade federal do paraná selection de fungos endofíticos produtores de ácido indol acético ( aia ) para formulao de inoculantes curitiba selection de fungos endofíticos produtores de ácido indol acético (aia) para formulao de inoculantes Curitiba. 2012.

DEZAM, A. P. G.; VASCONCELLOS, V. M.; LACAVA, P. T. ; FARINAS, C. S. Microbial production of organic acids by endophytic fungi. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S . I], v. 11, p. 282-287, jul. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818117303717?via%3Dihub>. Acesso em: 10 maio 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.08.001>

DIAS-ARIEIRA, C. R.; SANTANA, S. D. M.; FREITAS, L. G. De; CUNHA, T. P. L. Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop ( *Lactuca sativa* L . ) Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop ( *Lactuca sativa* L . ). n. October, p. 3-6, 2011.

ESCUADERO, N.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Effects on plant growth and root-knot nematode infection of an endophytic GFP transformant of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Symbiosis**, [S . I], v. 57, n. 1, p. 33-42, 2012. <https://doi.org/10.1007/s13199-012-0173-3>

ETEMADI, M. et al. Auxin perception is required for arbuscule development in arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Plant physiology**, Lancaster, v. 166, p. 281-292, Sept. 2014. DOI:10.1104/pp.114.246595. <https://doi.org/10.1104/pp.114.246595>

FARIA, M. R. d.; WRIGHT, S. P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, [S . I], v. 43, n. 3, p. 237-256, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>

FARIAS, C. P.; CARVALHO, R. C. de C; AZEVEDO, L. C. B... Consortium of five fungal isolates conditioning root growth and.... **Anais da Academia Brasileira de Ciências** , Local, v. 90, n. 4, p. 3649-3660, 2018. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820180161>

GARRIDO-JURADO, I.; RESQUÍN-ROMERO, G.; AMARILLA, S. P.; ROS-MORENO, A.; CARRASCO, L.; QUESADA-MORAGA, E. Transient endophytic colonization of melon plants by entomopathogenic fungi after foliar application for the control of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Pest Science**, [S . I], v. 90, n. 1, p. 319-330, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0767-2>

GODFRAY, H. C. J.; BEDDINGTON, J. R.; CRUTE, I. R.; HADDAD, L.; LAWRENCE, D.; MUIR, J. F.; PRETTY, J.; ROBINSON, S.; THOMAS, S. M.; TOULMIN, C. Food security: the challenge of feeding 9 billion people.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R. J. Effect of indole-acetic acid (IAA) on the development of symptoms caused by *Pythium ultimum* on tomato plants. **European Journal of Plant Pathology**, [S . I], v. 119, n. 4, p. 457-462, 2007. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9170-4>

GREENFIELD, M.; GÓMEZ-JIMÉNEZ, M. I.; ORTIZ, V.; VEGA, F. E.; KRAMER, M.; PARSA, S. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation. **Biological Control**, [S . I], v. 95, p. 40-48, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.01.002>

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, [S . I], v. 43, n. 10, p. 895-914, 1997. <https://doi.org/10.1139/m97-131>

HARDOIM, P. R.; VAN OVERBEEK, L. S.; BERG, G.; PIRTTILÄ, A. M.; COMPANT, S.; CAMPISANO, A.; DÖRING, M.; SESSITSCH, A. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, [S . I], v. 79, n. 3, p. 293-320, 2015. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>

HÖRDT, W.; RÖMHELD, V.; WINKELMANN, G. Fusarinines and dimerum acid, mono- and dihydroxamate siderophores from *Penicillium chrysogenum*, improve iron utilization by strategy I and strategy II plants. **BioMetals**, [S . I], v. 13, n. 1, p. 37-46, 2000.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, [S . I], v. 51, n. 3, p. 409-416, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.07.018>

HUMBER, R. A. Evolution of entomopathogenicity in fungi, [S . I], v. 98, n. 2008, p. 262-266, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.02.017>

JABER, L. R. ; ENKERLI, J.. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. **Biological Control**, [S . I], v. 103, p.187-195, jul. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964416301761?via%3Dihub>. Acesso em: 10 maio 2019.

JABER, L. R.; ARAJ, S. E. Interactions among endophytic fungal entomopathogens (Ascomycota: Hypocreales), the green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae), and the aphid endoparasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, [S . I], v. 116, p. 53-61, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.005>

- KHAN, A.; HAMAYUN, M.; KANG, S. M.; KIM, Y. H.; JUNG, H. Y.; LEE, J. H.; LEE, I. J. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: An example of *Paecilomyces formosus* LHL10. **BMC Microbiology**, [S . I], v. 12, p. 1-14, 2012. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-3>
- KIDD, P., BARCELÓ, J., BERNAL, M. P., NAVARI-IZZO, F., POSCHENRIEDER, C., SHILEV, S., ... MONTERROSO, C. (2009). Trace element behaviour at the root-soil interface: Implications in phytoremediation. **Environmental and Experimental Botany**, [S . I], v. 67, n. 1, p. 243 - 259. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.013>.
- KHAN, A. L.; LEE, I. J. Endophytic *Penicillium funiculosum* LHL06 secretes gibberellin that reprograms *Glycine max* L. growth during copper stress. **BMC Plant Biology**, [S . I], v. 13, n. 1, 2013. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-86>
- KRAUSE, K., GUBE, M., WAGNER, K., KOESTLER, T., SAMMER, D., KNIEMEYER, O.; KOTHE, E. *Tricholoma vaccinum* host communication during ectomycorrhiza formation. **FEMS Microbiology Ecology**, [S . I], v. 91, n. 11, p. 1-14, June 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv120>.
- KRAUSE, K.; HENKE, C.; ASIIMWE, T.; ULBRICHT, A.; KLEMMER, S.; SCHACHTSCHABEL, D. ; BOLAND, W. Biosynthesis and Secretion of Indole-3-Acetic Acid and Its Morphological Effects on *Tricholoma vaccinum* Spruce Ectomycorrhiza, **Appl. Environ Microbiol**, [S . I], v. 81, n. 20, p. 7003 - 7011, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.01991-15>.
- LARIMER, A. L.; BEVER, J. D.; CLAY, K. Consequences of simultaneous interactions of fungal endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi with a shared host grass. **Oikos**, [S . I], v. 121, n. 12, p. 2090-2096, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.20153.x>
- LEGER, R. J. S. T.; JOSHI, L.; BIDOCHKA, M. J.; RIZZO, N. W.; ROBERTS, D. W.; YORK, N. Characterization and Ultrastructural Localization of Chitinases from *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride*, and *Beauveria bassiana* during Fungal Invasion of Host (*Manduca sexta*) Cuticle. **Appl. Environ Microbiol**, [S . I], v. 62, n. 3, p. 907-912, 1996.
- LOPEZ, D. C.; SWORD, G. A. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). **Biological Control**, Spain, v. 89, p. 53-60, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.03.010>
- LUANGSA-ARD, J.; HOUBRAKEN, J.; DOORN, T. Van; HONG, S.; BORMAN, A. M.; HYWEL-JONES, N. L.; SAMSON, R. A. *Paecilomyces lilacinus*. 2011.
- MANZANILLA-LÓPEZ, R. H. et al. Measuring abundance, diversity and parasitic ability in two populations of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*, **Biocontrol Science and Technology**, [S . I], v. 19, n. 4, p. 391-406. DOI: [10.1080/09583150902783793](https://doi.org/10.1080/09583150902783793).

- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; DEL MAR ALGUACIL, M.; PASCUAL, J. A.; VAN WEES, S. C. M. Phytohormone Profiles Induced by Trichoderma Isolates Correspond with Their Biocontrol and Plant Growth-Promoting Activity on Melon Plants. **Journal of Chemical Ecology**, [S . I], v. 40, n. 7, p. 804-815, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10886-014-0478-1>
- MITTER, N.; SRIVASTAVA, A. C.; RENU; AHAMAD, S.; SARBHOY, A. K.; AGARWAL, D. K. Characterization of gibberellin producing strains of Fusarium moniliforme based on DNA polymorphism. **Mycopathologia**, [S . I], v. 153, n. 4, p. 187-193, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1014946217539>
- WILSON, D. Endophyte : The Evolution of a Term , and Clarification of Its Use and Definition. **OIKOS**, [S . I], v. 73, n.2, p. 274-276, 2016. Disponível em: [https://www.jstor.org/stable/3545919?seq=1#metadata\\_info\\_tab\\_contents](https://www.jstor.org/stable/3545919?seq=1#metadata_info_tab_contents). Acesso em: 10 maio 2019. <https://doi.org/10.2307/3545919>
- PEDRINI, N.; ORTIZ-URQUIZA, A.; HUARTE-BONNET, C.; ZHANG, S.; KEYHANI, N. O. Targeting of insect epicuticular lipids by the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana: Hydrocarbon oxidation within the context of a host-pathogen interaction. **Frontiers in Microbiology**, [S . I], v. 4, n. FEB, p. 1-18, 2013. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00024>
- PILAU, F. G.; PEDREIRA, C. G. S. Intensificação sustentável da agricultura brasileira. [S. l.: s. n.], [19--?]. p. 108-124.
- RAI, M.; RATHOD, D.; AGARKAR, G.; DAR, M.; BRESTIC, M.; PASTORE, G. M.; JUNIOR, M. R. M. Fungal growth promotor endophytes: A pragmatic approach towards sustainable food and agriculture. **Symbiosis**, [S . I], v. 62, n. 2, p. 63-79, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13199-014-0273-3>
- REES, H. Van; MCCLELLAND, T.; HOCHMAN, Z.; CARBERRY, P.; HUNT, J.; HUTH, N.; HOLZWORTH, D. Field Crops Research Leading farmers in South East Australia have closed the exploitable wheat yield gap : Prospects for further improvement. Elsevier B.V., v. 164, p. 1-11, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.04.018>
- RAGHAVENDRA, A.S.; GONUGUNTA, V.K.; CHRISTMANN, A.;GRILL, E. ABA perception and signalling. **Trends Plant Sci**, [S . I], v. 15, n. 395-401, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.04.006>
- REHNER, S. A.; MINNIS, A. M.; LUANGSA-ARD, J. J.; HUMBER, R. A. Phylogeny and systematics of the anamorphic , entomopathogenic genus Beauveria. **Mycologia**, [S . I], v. 103, n. 5, p. 1055-1073, 2011. <https://doi.org/10.3852/10-302>
- REJSEK, K.; VRANOVA, V.; PAVELKA, M.; FORMANEK, P. Acid phosphomonoesterase ( E . C . 3 . 1 . 3 . 2 ) location in soil. **J. Plant Nutr. Soil Sci.**, Local, n. 1997, p. 196-211, 2012. <https://doi.org/10.1002/jpln.201000139>
- ROZP, P.; ROMAN, J. J.; MARTA, Ś.; STOJAKOWSKA, A.; ANIELSKA, T. Does co-inoculation of Lactuca serriola with endophytic and arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth in a polluted environment ? **Mycorrhiza**, [S . I], v. 28, n. 3, p. 235-246, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0819-y>

SAITO, L. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, S. De; REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp . no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, [S . l], v. 6325, p. 203-208, 2009.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, A. R.; RAYA-DÍAZ, S.; ZAMARREÑO, Á. M.; GARCÍA-MINA, J. M.; DEL CAMPILLO, M. C.; QUESADA-MORAGA, E. An endophytic *Beauveria bassiana* strain increases spike production in bread and durum wheat plants and effectively controls cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) larvae. **Biological Control**, [S . l], v. 116, p. 90-102, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.01.012>

SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M. H. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*, [S . l], v. 56, n. 7, p. 1267-1274, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.03.008>

SCHULZ, B.; BOYLE, C. The endophytic continuum. *Mycological Research*, [S . l], v. 109, n. 6, p. 661-686, 2005. <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>

SILVA, R. L.O.; LUZ, J. S.; SILVEIRA, E. B.; CAVALCANTE, U. M. T. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). **Acta Botanica Brasilica**, [S . l], v. 20, n. 3, p. 649-655, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062006000300015>

SINGH, A.; SHUKLA, N.; KABADWAL, B. C.; TEWARI, A. K.; KUMAR, J. Review on Plant- *Trichoderma* -**Pathogen Interaction**. v. 7, n. 2, p. 2382-2397, 2018. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.291>

SOLEIMANI, M.; AFYUNI, M.; HAJABBASI, M. A.; NOURBAKHSI, F.; SABZALIAN, M. R.; CHRISTENSEN, J. H. Phytoremediation of an aged petroleum contaminated soil using endophyte infected and non-infected grasses. **Chemosphere**, [S . l], v. 81, n. 9, p. 1084-1090, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.034>

TAYLOR, P.; ZIMMERMANN, G. Biocontrol Science and Technology Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. n. April 2013, p. 37-41, 2007.

TIWARI, S.; LATA, C.; CHAUHAN, P. S.; NAUTIYAL, C. S. SC. **Plant Physiology and Biochemistry**, 2015.

VIGGIANO, J. R.; FREITAS, L. G. De; LOPES, E. A. Use of *Pochonia chlamydosporia* to control *Meloidogyne javanica* in cucumber. **Biological Control**, [S . l], v. 69, p. 72-77, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.11.004>

WAQAS, M.; KHAN, A. L.; KAMRAN, M.; HAMAYUN, M.; KANG, S. M.; KIM, Y. H.; LEE, I. J. Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress. **Molecules**, [S . l], v. 17, n. 9, p. 10754-10773, 2012. <https://doi.org/10.3390/molecules170910754>

ZHOU, Y. J.; ZHANG, J.; WANG, X. D.; YANG, L.; JIANG, D. H.; LI, G. Q.; HSIANG, T.; ZHUANG, W. Y. Morphological and phylogenetic identification of *Botrytis sinoviticola*, a novel cryptic species causing gray mold disease of table grapes (*Vitis vinifera*) in China. **Mycologia**, [S . l], v. 106, n. 1, p. 43-56, 1 jan. 2014. <https://doi.org/10.3852/13-032>

CAPÍTULO 2  
FUNGOS ISOLADOS CONDICIONANDO COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA  
ARBUSCULAR, ATIVIDADE BIOLÓGICA, CARBONO ORGÂNICO E  
CONCENTRAÇÃO DE MAGNÉSIO NO SOLO SOB *PHASEOLUS VULGARIS* L.

**ABSTRACT**

Plant growth promoting fungi perform functions ranging from entomopathogenesis, to the abatement of abiotic and biotic stresses, and ultimately to promote plant growth. This potential tends to encourage new lines of research with promising results in the formulation of new products of biological origin, thus reducing the potential for environmental degradation by the synthetic fertilizer industries. In this context, the present work aimed to identify the effect of the fungi *Beauveria bassiana*, *Trichoderma asperellum*, *Metarhizium anisopliae*, *Purpureocillium lilacinum* and *Pochonia chlamydosporia* in the conditioning of the biological and chemical properties of the soil under *Phaseolus vulgaris*. The use of the spore suspension was carried out with each of the five fungal isolates and in biological consortia (*Trichoderma asperellum* with *Purpureocillium lilacinum*, *Beauveria bassiana* with *Metarhizium anisopliae* and finally, all species together) in seeds, shoot and soil by spraying on potted plants distributed entirely randomly in case of vegetation. The treatments *Beauveria bassiana*, *Trichoderma asperellum*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia* and inoculation of the five fungal isolates were larger than the control treatment for fresh mass and dry mass of the roots, while the treatments *Purpureocillium lilacinum*, *Beauveria bassiana* / *Metarhizium anisopliae* and inoculation of five fungal isolates presented higher results for dry shoot mass. For leaf area and specific leaf area, there were no significantly different results from the control treatment. All forms of inoculation stimulate arbuscular mycorrhizal colonization and result in increased availability of magnesium in the soil and saturation in the cation exchange capacity (Mg%). For the enzymatic activity of the soil, *Beauveria bassiana* treatments with *Metarhizium anisopliae* and inoculation of the five fungal isolates presented higher levels of Fluorescein Diacetate (FDA), on the other hand, the activity for acid phosphatase, aryl sulfatase and Beta-glycosidase did not present. Moreover, phosphate solubilizing fungi also presented mean values equal to the control treatment. The inoculated fungi promoted the biological conditioning (arbuscular mycorrhizal and fluorescein diacetate), fertility (Mg content, base saturation, CTC and organic carbon) of the soil. The application of plant growth promoter fungi tends to biologically condition the soil and to reflect directly and indirectly in the use of agricultural inputs of biological origin, achieving better soil environmental quality indexes.

Keywords: Soil conditioning; endophytic fungi; arbuscular mycorrhizal fungi; plant growth promoting microorganisms;

## RESUMO

Os fungos promotores do crescimento de plantas desempenham funções que vão desde a entomopatogênese, passando pela atenuação de estresses abióticos e bióticos e por fim promovendo o crescimento vegetal. Este potencial tende a incentivar novas linhas de pesquisa com resultados promissores no desenvolvimento de manejo biológico, reduzindo assim o potencial de degradação ambiental exercido pelo uso de fertilizantes e agrotóxicos. Nesse contexto, o presente trabalho objetivou identificar o efeito dos fungos *Beauveria bassiana*, *Trichoderma asperellum*, *Metarhizium anisopliae*, *Purpureocillium lilacinum* e *Pochonia chlamydosporia* no condicionamento das propriedades biológicas e químicas do solo sob *Phaseolus vulgaris*. O emprego da suspensão de esporos foi realizada com cada um dos cinco isolados fúngicos e em consórcios (*Trichoderma asperellum* com *Purpureocillium lilacinum*, *Beauveria bassiana* com *Metarhizium anisopliae* e as cinco espécies juntas) em sementes, no solo e na parte aérea por pulverização em plantas em vasos distribuídos inteiramente ao acaso em casa de vegetação. A massa fresca e massa seca das raízes nos tratamentos *Beauveria bassiana*, *Trichoderma asperellum*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia* e inoculação dos cinco isolados fúngicos foram superiores ao tratamento controle. Os tratamentos *Purpureocillium lilacinum*, *Beauveria bassiana*/ *Metarhizium anisopliae* e inoculação dos cinco isolados fúngicos apresentaram maiores massa seca da parte aérea em comparação com o controle. Os tratamentos não influenciaram a área foliar e área foliar específica. Todas as formas de aplicação dos isolados fúngicos estimularam a colonização micorrízica arbuscular e resultaram em maior disponibilidade de magnésio no solo. Os tratamentos *Beauveria bassiana* com *Metarhizium anisopliae* e inoculação dos cinco isolados fúngicos apresentaram maiores atividades de hidrólise do Diacetato de Fluoresceína (FDA). Nenhum dos tratamentos influenciou a atividade de arilsulfatase e número de fungos solubilizadores de fosfato. Portanto, os fungos aplicados promoveram o condicionamento biológico (colonização micorrízica arbuscular e hidrólise do diacetato de fluoresceína) e fertilidade (teor de Mg, saturação por bases, CTC e carbono orgânico) do solo. Esses resultados apontam o potencial de uso desses fungos para manejo de produções agrícolas baseado em processos naturais, incorporando-se energia e nutrientes aos ciclos ecológicos, alcançando melhores índices de qualidade ambiental do solo.

Palavras-chave: Condicionamento do solo; fungos rizosféricos, fungos endofíticos; fungos micorrízicos arbusculares; microrganismos promotores de crescimento de plantas;

## INTRODUÇÃO

Devido ao crescimento da população mundial, há uma necessidade crescente por alimentos, implicando em expansão de áreas agricultáveis e/ou aumento da produtividade agrícola (Davis et al., 2016). Para maiores produções, há pressão sobre áreas nativas e uma intensificação do uso insumos agrícolas, como corretivos de solo, fertilizantes e defensivos agrícolas (Rees et al., 2014). As fontes destes insumos são muitas vezes sintetizadas com gasto de energia e emissão de gases do efeito estufa, principalmente para fertilizantes em sistemas intensivos (Davis et al., 2015). Além disso, a aplicação de nutrientes minerais no sistema de produção tende a acelerar os seus ciclos biogeoquímicos e estimular perdas do solo e a poluição por lixiviação ou volatilização (Li et al., 2018). Devido à interferência em processos ecológicos naturais, programas agroecológicos mais modernos, como uso de tecnologias de aplicação de insumos, melhoramento genéticos, otimização de irrigação, são necessários para melhor qualidade ambiental (Ramankutty et al., 2018).

Por outro lado, existem processos e interações biológicas no solo, como simbioses mutualistas com plantas, produção de fitormônios e fixação biológica de nitrogênio, que podem estimular o crescimento vegetal (Smith; Read, 2010; Mendes et al., 2014; Peoples et al., 1995 Vance, 2014)). Portanto, como alternativa ao uso de insumos sintéticos, a biologia do solo desempenha funções importante para os ecossistemas terrestres e pode ser fonte de organismos com potencial de estimular processos para uma agricultura sustentável (Shankar et al., 2018). Dessa forma, práticas que estimulem os processos biológicos do solo e melhorem as propriedades físicas e químicas do solo são alternativas para melhora da produtividade vegetal.

A aplicação de isolados fúngicos endofíticos tem resultado em promoção de crescimento vegetal, controle de pragas e doenças e atenuação a estresses (Rai et al., 2014; Tiwari et al., 2015; Garrido-Jurado et al., 2017). Entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos da aplicação de fungos endofíticos nas transformações de nutrientes e fertilidade do solo. Fungos endofíticos podem colonizar a rizosfera e estimular relações mutualísticas, como a micorriza arbuscular; promover a mineralização de matéria orgânica ou solubilização de nutrientes (Verma et al., 2016; Farias et al., 2018; Behie; Bidochka, 2014). Os relatos sobre influência da aplicação desses fungos sobre processos como mineralização, que detém de inúmeras reações de oxirredução também são escassos (Jia et al., 2013 ; Su et al., 2017).

Nesse contexto, o presente estudo avaliou o efeito da inoculação de cinco isolados fúngicos sozinhos ou em combinação sobre o condicionamento biológico e de fertilidade do solo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Ensaio em casa de vegetação

*Phaseolus vulgaris* L., cultivar Jalo precoce, foi utilizada como planta modelo e semeado em vasos de 10 dm<sup>3</sup> em casa-de-vegetação. O solo utilizado foi coletado a uma profundidade de 10 cm em área de um Rhodic Ferralsol (World Reference Base, <http://www.fao.org/soils-portal/en/>) textura argilosa (Tabela 1), sob *Urochloa brizantha* (18°57'30"S e 48°12'0"W). O solo foi peneirado manualmente em malha de 2 mm e o pH foi corrigido (800 mg dm<sup>-3</sup> de CaCO<sub>3</sub>), seguido da aplicação de 1 litro de água destilada por vaso. A fosfatagem corretiva foi realizada de acordo com Novais (1999), com 667 mg dm<sup>-3</sup> de fosfato natural reativo OCP (FNR), três dias após a correção de acidez. O nitrogênio foi aplicado na forma de uréia dissolvida em água destilada, sendo 4,28 g dm<sup>-3</sup> 24 horas antes da semeadura e 6,44 g dm<sup>-3</sup> 25 dias após emergência das sementes.

**Tabela 1** - Fertilidade do solo antes do início do experimento, ausente de correção de acidez, adubação e inoculação de isolados fúngicos.

pH H <sub>2</sub> O	pH CaCl <sub>2</sub>	Org C  dag kg <sup>-1</sup>	TN  %	P meh  mg dm <sup>-3</sup>	Mg	K	Ca	H+Al	T	V
5,3	4,7	1,59	0,114	6,0	0,90	0,30	1,80	3,6	6,63	46,0

Análise realizada após padronização em peneiras com malha de 2mm. Carbono orgânico (Org. C); Nitrogênio Total (TN), Fósforo Mehlich (Pmeh); Capacidade de troca de cátions (T) e Saturação por bases (V%).

No ensaio, foram estabelecidos nove tratamentos: (1) controle sem inoculação, inoculação de (2) *Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill., (3) *Trichoderma asperellum* (Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg), (4) *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, (5) *Purpureocillium lilacinum* (Thom. Bull.) Bur., (6) *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & W. Gams), (7) *Trichoderma asperellum*/ *Purpureocillium lilacinum*, (8) *Beauveria bassiana*/ *Metarhizium anisopliae*, (9) inoculação múltipla dos cinco isolados em consórcio, com delineamento experimental inteiramente ao acaso, com seis repetições para cada tratamento. Todos os cinco fungos pertencem ao Filo Ascomycota, classe Sordariomycetes. O manejo de irrigação foi determinado com base na manutenção de 50 % de capacidade de retenção gravimétrica de água.

O ensaio foi conduzido até o primeiro estágio fenológico reprodutivo (R1), em que todas as plantas apresentavam ao menos uma inflorescência, aos 37 dias da semeadura, estabelecendo 2 plantas por vaso.

### **Aplicação de fungos promotores do crescimento vegetal**

Foram aplicados nas sementes e no solo os fungos: *Beauveria bassiana*; *Trichoderma asperellum*; *Metarhizium anisopliae*; *Purpureocillium lilacinum*; *Pochonia chlamydosporia*. Para isso, foram avaliadas variáveis de fertilidade (pH, nitrogênio total, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, acidez, carbono orgânico, saturação por bases, capacidade de troca de cátions e fertilidade) e variáveis biológicas do solo (colonização micorrízica arbuscular, microrganismos solubilizadores de fosfato, atividades enzimáticas de fosfatase ácida, arilsulfatase, beta-glicosidase, respirometria e respostas quanto a atividade avaliada com diacetato de fluoresceína). Efeitos sobre as massas frescas e secas de raiz e parte aérea, área foliar nutrição do feijoeiro também foram investigados.

A aplicação dos fungos no solo se deu por duas vias: (1) nas sementes; e (2) no solo em três momentos – no sulco da semeadura, e aspergido aos 14 dias e 28 dias após a semeadura.

As fontes de esporos foram frascos contendo meio de cultura com isolados crescidos da empresa Biosag®. Os esporos foram suspensos em béqueres com 500 mL de água destilada e foram homogeneizados em liquidificador por 5 segundos. Em câmara de Neubauer, foi realizada a contagem de números de esporos para cada um dos fungos isolados

A concentração de todas as suspensões foram padronizadas para  $6,3 \cdot 10^5$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ . Para as suspensões com consórcio de isolados, a concentração final foi  $3,15 \cdot 10^5$  esporos  $\text{mL}^{-1}$  de cada espécie.

### **Inoculação de isolados fúngicos**

As sementes foram esterilizadas em NaClO 1% por 3 minutos (Lopez e Sword, 2015). Posteriormente, foi realizada tríplex lavagem com água destilada e as sementes dispostas em papel filtro para secagem por 30 minutos. Então, 600  $\mu\text{L}$  da suspensão de esporos foram aplicados a cada 36 sementes, com o determinado isolado fúngico de acordo com o tratamento. O tratamento controle recebeu água destilada em vez da suspensão de esporos. As sementes

foram agitadas em béqueres até a secagem do líquido, em temperatura ambiente. As sementes permaneceram refrigeradas a 6°C por 12 horas até a semeadura nos vasos.

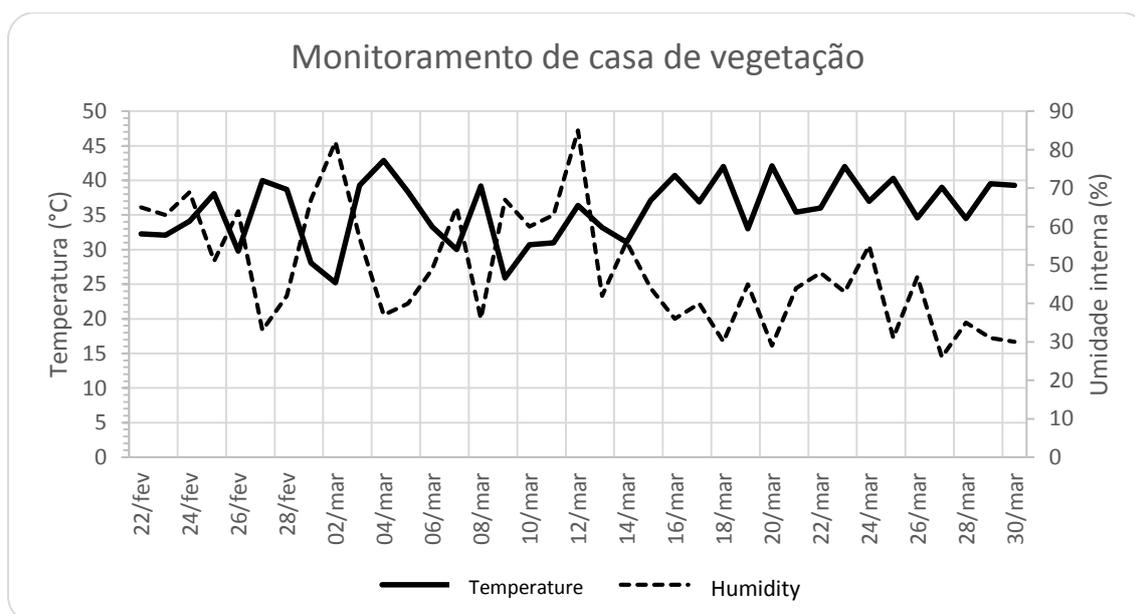
Nos vasos, 100 µL da suspensão de esporos foram aplicados em cada um dos seis furos de 30 mm de profundidade no solo, e em seguida, semeado. O material foi exclusivo para cada tratamento para evitar contaminações cruzadas.

Para aplicação após emergência das plantas, foram aplicados 22 mL por vaso da suspensão de esporos por meio de pulverizadores manuais aos 14 dias e 28 dias após a semeadura.

### Acompanhamento fenológico e monitoramento

A temperatura e a umidade na casa-de-vegetação foram monitoradas diariamente durante o ensaio (Figura 2), apresentando média de 35.6°C e 48.8%, respectivamente.

**Figura 1** - Monitoramento interno de temperatura, umidade da casa de vegetação.



### Área foliar

As áreas das folhas primárias (folhas maduras que iniciam o estágio fenológico do feijoeiro desde a germinação) e folíolo presente no 5º trifólio foram analisadas aos 37 dias após semeadura utilizando o *software ImageJ – Image Processing and Analysis in Java*®. A área foliar específica (cm<sup>2</sup> grama<sup>-1</sup>) foi determinada para as folhas primárias.

### **Massas fresca e seca do feijoeiro**

A parte aérea do feijoeiro de cada parcela foi extraída mediante corte no colo da planta quando todas apresentavam ao menos uma inflorescência (estádio R1), aos 37 dias após sementeira. O sistema radicular de cada exemplar foi separado do solo em peneira de 2 mm, seguido de higienização em água corrente e secas externamente. A massa seca da parte aérea e das raízes foi determinada após desidratação à 60°C até a massa se estabilizar.

### **Fertilidade do solo e nutrientes no tecido vegetal**

Após a retirada das plantas do vaso, o solo sob efeito rizosférico aderido às raízes foi coletado pelo desprendimento manual. O pH, carbono orgânico, H + Al, Al, N total, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Mn, Cu, Fe e B foram determinados de acordo com Teixeira et al., (2017).

A partir das folhas secas previamente, o teor de P, K, Ca, Mg, S, Zn, Mn, Cu, Fe e B foi avaliado nos tecidos vegetais segundo Silva (2009), adotou-se o índice de fertilidade do tecido vegetal a partir da multiplicação da concentração de nutrientes no tecido vegetal pela massa seca da parte aérea.

### **Colonização micorrízica arbuscular**

Para a avaliação de colonização micorrízica arbuscular, amostras de raízes frescas foram coletadas em fragmentos de aproximadamente 2 cm com tesoura de forma representativa no terço inferior, médio e superior do sistema de raízes de cada vaso. As raízes foram acondicionadas em cassetes histológicos para a clarificação com imersão em KOH 10% por 16 h à temperatura ambiente. A solução foi renovada e os cassetes foram incubados novamente em KOH 10% por 10 minutos a 60 °C. Em seguida, os cassetes foram lavados em água corrente e imergidos em solução de HCl 1% por 5 minutos para acidificação das raízes. Os cassetes foram então imersos em solução de coloração (5% de tinta caneta Parker® comercial, 5% de ácido acético e 10% de lactoglicerol) (Vierheilig et al., 1998) a 90 °C por 3 minutos. As raízes foram preservadas em solução de lactoglicerol até a avaliação da colonização micorrízica (1:1:1, água destilada: ácido láctico: glicerol).

A porcentagem de raízes com colonização micorrízica foi determinada usando o método de placa de Petri reticulada sob microscópio estereoscópio com base no método Giovannetti e Mosse (1980).

### **Fungos solubilizadores de fosfato**

O número de unidades formadoras de colônias (UFC) de fungos solubilizadores de fosfato foi determinado pelo método da diluição seriada e espalhamento em meio de cultura NBRIP - *National Botanical Research Institute's phosphate growth medium* (Nautyal, 1999). Cada litro do meio NBRIP é composto por 10 g de glicose, 5 g de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , 5 g de  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,25 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g de KCl, 0,1 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 15 g de ágar e 50 mg de amoxicilina, a pH 7. Diluições de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  g mL<sup>-1</sup> de solo em NaCl 0.85% (m/v) foram espalhados no meio de cultura em placas de Petri com alça de Drigalsky. As placas foram incubadas por 168 horas à 25° C e as colônias formadoras de halo de solubilização do fosfato foram contabilizadas.

### **Atividades enzimáticas no solo**

As atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase foram determinadas segundo Tabatabai (1994). A atividade da hidrólise do Diacetato de Fluoreceína (FDA) foi determinada segundo Green et al., (2006).

### **Análise estatística**

Os dados foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ( $p < 0,05$ ) utilizando o programa *Action*®. Os dados paramétricos foram submetidos aos testes de suposições a fim de atender pressupostos estatísticos necessários para elaboração de uma análise de variância. Com isso, os pressupostos a serem atendidos foram: aditividade por análise de histograma de resíduos, homocedasticidade por teste de *Levene* à 5% de significância e independência dos resíduos mediante análise gráfica de Resíduos e Ordem de coleta. Todas as avaliações foram elaboradas com auxílio do programa *Action*®. Após o aceite de todas as suposições, guardadas as suas particularidades, foi realizada análise de variância e teste Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) no programa *Sisvar*®. A normalização dos dados mediante raiz quadrada de Arcoseno foi adotada para colonização micorrízica. Permanecendo a anormalidade dos dados, aplicou-se o teste de *Kruskall-Wallis* ( $p < 0,05$ ) utilizando o programa *Action*®.

Por meio do *software SigmaPlot vr. 12.0*, foi elaborado uma correlação de Pearson com nível de significância de 0,5%.

## RESULTADOS

### **Área foliar**

Não houve diferença estatística de área foliar e área foliar específica entre os tratamentos, sem ou com inoculação e independente da espécie de fungo inoculada (Tabela 2). Os dados de área foliar foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott (5%).

### **Massa fresca e seca do feijoeiro**

A inoculação de *B. bassiana*, *T. asperellum*, *M. anisopliae*, *P. chlamydosporia* e o consórcio de cinco isolados fúngicos resultou em maiores massa de raízes fresca ou seca se comparados ao tratamento controle (Tabela 2). Para a massa seca da parte aérea do feijoeiro, empregar inóculos de *P. lilacinum* isoladamente ou os consórcios de *B. bassiana* com *M. anisopliae* e os cinco isolados fúngicos apresentou diferença significativa.

**Tabela 2** - Variáveis do crescimento de *Phaseolus vulgaris* L. comparando os tratamentos com inóculos fúngicos isolados ou em consórcio biológico com o tratamento controle.

Tratamento	MFPA (g) **	MFRz (g)*	MSPA (g)*	MSRz (mg)*	MSPA/MSRz
Controle	53,22±11,25 <sup>a</sup>	27,00±6,29 <sup>b</sup>	7,04±0,90 <sup>b</sup>	7,48±1,79 <sup>6b</sup>	2,71±0,34 <sup>b</sup>
<i>Beauveria bassiana</i>	59,36±3,82 <sup>a</sup>	<b>34,66±7,96<sup>a</sup></b>	7,92±1,39 <sup>b</sup>	<b>10,72±1,609<sup>a</sup></b>	<b>3,26±0,24<sup>a</sup></b>
<i>Trichoderma asperellum</i>	58,29±3,83 <sup>a</sup>	<b>33,66±4,96<sup>a</sup></b>	7,56±0,75 <sup>b</sup>	<b>10,18±1,813<sup>a</sup></b>	<b>3,18± 0,27<sup>a</sup></b>
<i>Metarhizium anisopliae</i>	60,40±7,57 <sup>a</sup>	<b>33,00±7,77<sup>a</sup></b>	8,15±1,27 <sup>b</sup>	<b>10,20±0,987<sup>a</sup></b>	<b>3,19±0,15<sup>a</sup></b>
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	62,68±8,31 <sup>a</sup>	29,00±3,74 <sup>b</sup>	<b>9,95±1,44<sup>a</sup></b>	8,42±2,15 <sup>6b</sup>	2,88±0,37 <sup>b</sup>
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	59,85±8,34 <sup>a</sup>	<b>31,33±8,64<sup>a</sup></b>	8,02±1,02 <sup>b</sup>	<b>9,01±2,291<sup>a</sup></b>	<b>2,98±0,39<sup>a</sup></b>
<i>Trichoderma asperellum</i> / <i>Purpureocillium lilacinum</i>	59,24±2,92 <sup>a</sup>	23,33±6,53 <sup>b</sup>	8,56±0,79 <sup>b</sup>	7,45±1,67 <sup>2b</sup>	2,71±0,31 <sup>b</sup>
<i>Beauveria bassiana</i> / <i>Metarhizium anisopliae</i>	57,68±6,44 <sup>a</sup>	28,00±4,00 <sup>b</sup>	<b>9,95±1,23<sup>a</sup></b>	7,23±1,06 <sup>7b</sup>	2,68±0,20 <sup>b</sup>
Consórcio dos 5 isolados	60,42±4,45 <sup>a</sup>	<b>36,00±5,51<sup>a</sup></b>	<b>8,95±1,02<sup>a</sup></b>	<b>9,09±1,616<sup>a</sup></b>	<b>3,00±0,26<sup>a</sup></b>

Médias (desvio padrão) (n = 6) para parâmetros de tecido vegetal de *Phaseolus vulgaris* L. desenvolvido em casa-de-vegetação, sendo que as letras minúsculas (destacadas em negrito) mostram diferenças entre os tratamentos. Para dados paramétricos foi realizado teste de Scott-Knott (\*) com nível de significância de 5% (p < 0.05) e para dados não paramétricos foi realizado teste de Kruskal Wallis (\*\*) também com mesmo nível de significância.

MFPA (Massa fresca da parte aérea); MFRz (Massa fresca da raiz); MSPA (Massa seca da parte aérea); MSRz (Massa seca da raiz).

### **Fertilidade do solo e nutrientes nos tecidos vegetais**

A aplicação de *B. bassiana* aumentou teores de fósforo e cálcio e reduziu os teores de H<sup>+</sup>Al no solo, enquanto que a inoculação de *T. asperellum* aumentou os valores de carbono orgânico e saturação por bases (Tabela 3). A utilização de *M. anisopliae* respondeu positivamente para os índices de CTC e saturação por bases, já o uso de *P. lilacinum* aumentou os valores de carbono orgânico, saturação por bases e pH em água, por fim aplicar isoladamente *P. chlamydosporia* potencializou os valores de cálcio, CTC, saturação por bases, fósforo e pH em cloreto de cálcio.

Em relação os consórcios biológicos e a fertilidade do solo, destacou-se que o emprego de *T. asperellum* com *P. lilacinum* aumentou os teores de cálcio no solo, CTC e carbono orgânico, além de aumentar os índices de pH. Por outro lado, inocular o consórcio *B. bassiana* com *M. anisopliae* aumentou carbono orgânico e fósforo. Ainda sobre tratamentos consorciados, usar os cinco isolados fúngicos promoveu o aumento de carbono orgânico e pH (em água). Por fim, para todos os tratamento empregados, houve aumento significativo dos teores de magnésio no solo e saturação por bases (Tabela 3).

Acerca da massa total acumulada de nutrientes na parte aérea, destacou-se maiores índices para o tratamento *B. bassiana* com um aumento de 23,96% de fósforo, 19,30% de zinco, 31,60% de manganês e 4,91% de boro, em relação ao controle (Tabela 4). O feijoeiro apresentou maiores diferenças quanto ao número de parâmetros quando inoculado isolado de *P. lilacinum*, diferenciando para nitrogênio, fósforo, manganês, cobre, zinco e boro. Quanto aos consórcios fúngicos, inocular o solo e as sementes com os cinco inóclulos fúngicos apresentou aumento para um maior número de parâmetros (Tabela 4).

**Tabela 3** - Fertilidade do solo sob efeito rizosférico utilizado para desenvolvimento de *Phaseolus vulgaris* L. sob inoculação com fungos promotores de crescimento vegetal.

	Controle	<i>B. bassiana</i>	<i>T. asperellum</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>P. lilacinum</i>	<i>P. chlamydosporia</i>	<i>T. asperellum/ P. lilacinum</i>	<i>B. bassiana/ M. anisopliae</i>	Cinco Isolados fúngicos
pH (H <sub>2</sub> O)	5,75±0,10b	5,96±0,05b	5,95±0,05b	5,95±0,05b	5,98±0,04b	<b>6,00±0,00a</b>	<b>6,00± 0,00a</b>	5,90±0,05b	<b>6,00±0,00a</b>
H+Al cmolc dm <sup>-3</sup>	3,56±0,15b	<b>3,16±0,15a</b>	3,50±0,11b	3,50±0,11b	3,26±0,15b	3,50±0,11b	3,36±0,15b	3,36±0,10b	3,30±0,09b
Ca cmolc dm <sup>-3</sup>	2,46±0,05b	<b>2,81±0,12a</b>	2,66±0,08b	2,70±0,11b	2,58±0,10b	<b>2,75±0,05a</b>	<b>2,83±0,08a</b>	2,71±0,08b	2,66±0,08b
Mg cmolc dm <sup>-3</sup>	0,67±0,05b	<b>0,87±0,03a</b>	<b>0,74±0,03a</b>	<b>0,77±0,07a</b>	<b>0,76±0,04a</b>	<b>0,79±0,02a</b>	<b>0,89±0,05a</b>	<b>0,76±0,04a</b>	<b>0,79±0,05a</b>
K cmolc dm <sup>-3</sup>	0,46±0,82 <sup>a</sup>	0,44±0,82a	0,43±0,82a	0,44±0,82a	0,45±0,82a	0,47±0,82a	0,49±0,82a	0,45±0,82a	0,46±0,82a
T cmolc dm <sup>-3</sup>	6,92±0,18b	7,05±0,18b	7,10±0,16b	<b>7,16±0,23a</b>	6,82±0,27b	<b>7,27±0,09a</b>	<b>7,33±0,21a</b>	7,05±0,13b	6,98±0,05b
Corg dag.dm <sup>-3</sup>	1,38±0,07b	1,48±0,06b	<b>1,53±0,13a</b>	1,46±0,11b	<b>1,51±0,12a</b>	1,48±0,05b	<b>1,59±0,08a</b>	<b>1,6±0,11a</b>	<b>1,58±0,09a</b>
V %	48,51±1,37b	<b>55,11±1,80a</b>	<b>50,71±1,12a</b>	<b>51,13±1,02a</b>	<b>52,10±0,68a</b>	<b>51,88±0,86a</b>	<b>54,08±1,11a</b>	<b>52,28±1,05a</b>	<b>52,76±1,33a</b>
S mg dm <sup>-3</sup>	4,33±0,03a	3,66±0,03a	4,83±0,0a	6,16±0,01a	5,50±0,02a	7,33±0,04a	6,16±0,02a	4,50±0,03a	2,33±0,01a
N Total %	0,11±0,011a	0,11±0,00a	0,11±0,00a	0,11±0,00a	0,11±0,01a	0,11±0,00a	0,11±0,00a	0,11±0,00a	0,11±0,00a
P me <sup>-1</sup> mgdm <sup>-3</sup>	1,35±0,02b	<b>1,52±0,02a</b>	1,28±0,06b	1,37±0,06b	1,41±0,07b	<b>1,64±0,04a</b>	1,43±0,02b	<b>1,54±0,11a</b>	1,38±0,03b
pH (CaCl <sub>2</sub> )	5,23±0,10b	5,40±0,00b	5,36±0,05b	5,38±0,04b	<b>5,45±0,05a</b>	<b>5,46±0,05a</b>	<b>5,46±0,05a</b>	5,43±0,05b	5,40±0,06b

Médias (desvio padrão) (n = 6) para parâmetros de tecido vegetal de *Phaseolus vulgaris* L. desenvolvido em casa-de-vegetação, sendo que as letras minúsculas (destacadas em negrito) mostram diferenças entre os tratamentos. Para dados paramétricos foi realizado teste de Scott-Knott (\*) com nível de significância de 5% (p < 0.05) e para dados não paramétricos foi realizado teste de Kruskal Wallis (\*\*) também com mesmo nível de significância.

**Tabela 4** - Massa total acumulada de nutrientes no tecido vegetal da parte aérea por vaso a fim de comparar os tratamentos com inóculos fúngicos isolados ou em consorcio biológico com o tratamento controle.

	Controle	<i>B. bassiana</i>	<i>T. asperellum</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>P. lilacinum</i>	<i>P. chlamydosporia</i>	<i>T. asperellum/ P. lilacinum</i>	<i>B. bassiana/ M. anisopliae</i>	Cinco Isolados fúngicos
<b>N (g)*</b>	2,34±0,05b	2,42±0,08b	2,38±0,04b	2,41±0,06b	<b>2,50±0,06a</b>	2,38±0,05b	2,44±0,05b	<b>2,52±0,05a</b>	2,44±0,06b
<b>P (g)*</b>	13,99±1,66b	<b>18,40±0,88a</b>	12,29±2,85b	12,46±3,10b	<b>16,16±3,85a</b>	12,51±3,09b	14,00±3,59b	<b>15,20±3,54a</b>	<b>16,58±2,81a</b>
<b>K(g)**</b>	32,50±1,05 <sup>a</sup>	34,25±1,64a	33,58±1,83a	33,75±0,52a	29,66±1,33a	32,00±1,00a	30,08±0,74a	29,16±0,68a	30,91±1,46a
<b>S(g)*</b>	1,20±0,04 <sup>a</sup>	1,21±0,08a	1,24±0,04a	1,22±0,08a	1,21±0,04a	1,21±0,06a	1,19±0,04a	1,19±0,04a	1,24±0,04a
<b>Ca(g)*</b>	202,79±28,02 <sup>a</sup>	220,66±37,88a	216,54±22,00a	204,72±31,70a	244,33±31,62a	205,66±22,81a	221,22±15,46a	236,98±29,39a	225,20±25,38a
<b>Mg(g)*</b>	30,26±3,79 <sup>a</sup>	35,45±3,89a	33,92±4,26a	34,34±4,95a	34,17±5,42a	31,89±3,86a	32,25±4,83a	33,38±4,74a	35,32±2,69a
<b>Mn(mg)*</b>	1178,11±165,61b	<b>1459,91±265,23a</b>	875,96±95,92c	1142,32±231,65b	<b>1548,80±227,13a</b>	<b>1430,24±244,03a</b>	1006,61±113,64c	1227,55±237,56b	<b>1467,01±223,30a</b>
<b>Fe(mg)**</b>	144,83±9,09b	87,16±3,06b	122,00±7,56b	<b>205,00±24,30a</b>	79,33±6,41b	101,00±16,10b	<b>174,67±18,54a</b>	<b>244,17±11,30a</b>	<b>319,17±8,89a</b>
<b>Cu(mg)*</b>	3,00±0,06b	3,08±0,06b	<b>2,99±0,06a</b>	2,96±0,09b	<b>3,07±0,08a</b>	<b>3,07±0,07a</b>	2,99±0,02b	3,09±0,06b	3,14±0,06b
<b>Zn(mg)*</b>	1178,00±179,95b	<b>1722,40±325,98a</b>	1264,09±174,72b	1405,10±257,92b	<b>1744,06±292,29a</b>	<b>1525,10±227,79a</b>	1074,57±126,86b	1264,72±155,60b	<b>1552,03±157,42a</b>
<b>B(mg)*</b>	2,71±0,07b	<b>2,85±0,08a</b>	<b>2,78±0,04a</b>	<b>2,80±0,05a</b>	<b>2,84±0,08a</b>	2,73±0,05b	<b>2,78±0,07a</b>	2,73±0,05b	2,75±0,05b

Médias (desvio padrão) (n = 6) para parâmetros de tecido vegetal de *Phaseolus vulgaris* L. desenvolvido em casa-de-vegetação, sendo que as letras minúsculas (destacadas em negrito) mostram diferenças entre os tratamentos. Para dados paramétricos foi realizado teste de Scott-Knott (\*) com nível de significância de 5% (p < 0.05) e para dados não paramétricos foi realizado teste de Kruskal Wallis (\*\*) também com mesmo nível de significância.

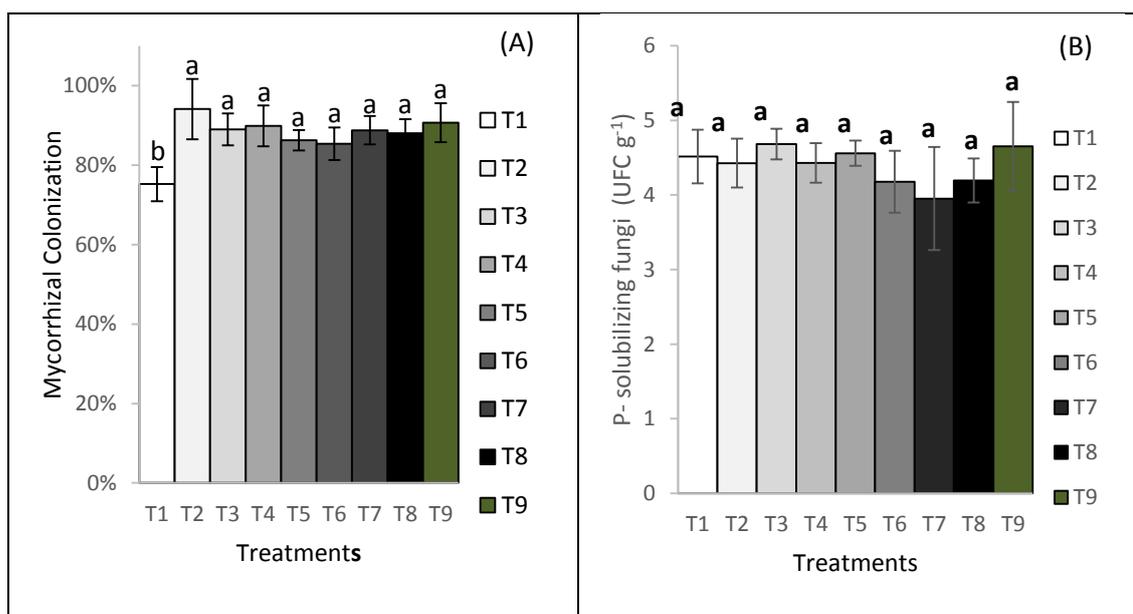
### Colonização micorrízica arbuscular

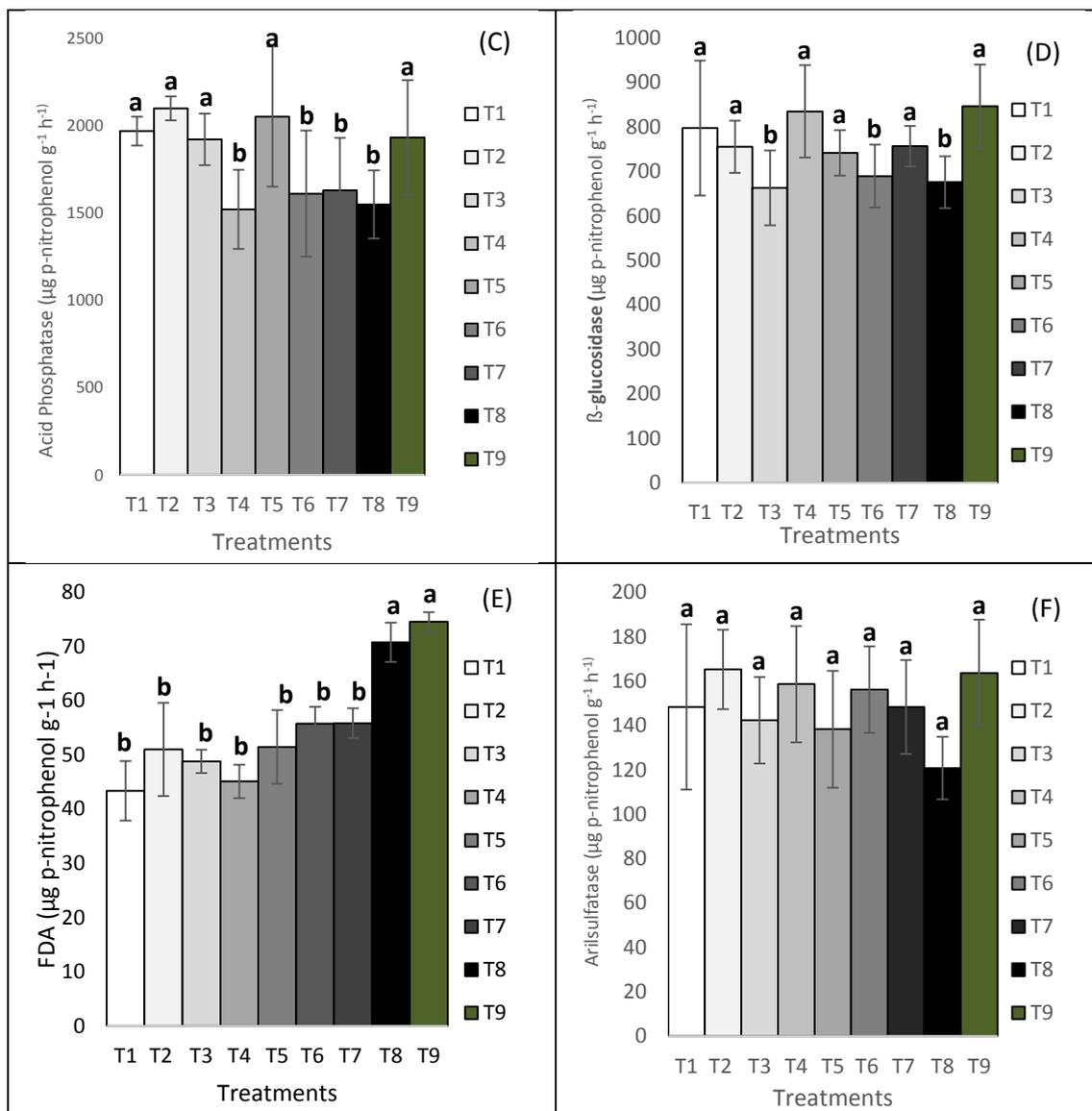
Todos os tratamentos com uso dos isolados apresentaram uma colonização micorrízica arbuscular significativamente maior quando comparada com o tratamento controle (Figura 2a). As taxas de colonização de fungos arbusculares micorrízicos apresentaram uma variação de 75,22% para o tratamento testemunha, alcançando uma colonização de 94,10% para o tratamento com inóculo fúngico *B. bassiana*.

### Fungos solubilizadores de fosfato

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para UFC de fungos solubilizadores de fosfato no solo (Figura 2b).

**Figura 2** - Colonização micorrízica arbuscular (%), unidades formadoras de colônia (UFC g<sup>-1</sup>) de fungos solubilizadores de fosfato em meio NBRIP e atividade enzimática em *Phaseolus vulgaris* L. submetidos a aplicação de inóculos fúngicos





Médias (desvio padrão, n = 6) de variáveis de *Phaseolus vulgaris* L. crescidas em casa-de-vegetação, sendo que as letras minúsculas diferentes mostram diferenças entre os tratamentos (teste de Scott-Knott, p<0.05) (T1 – Controle; T2 - *Beauveria bassiana*; T3 - *Trichoderma asperellum*; T4 - *Metarhizium anisopliae*; T5 - *Purpureocillium lilacinum*; T6 - *Pochonia chlamydosporia*; T7 - *Trichoderma asperellum*/*Purpureocillium lilacinum*; T8 - *Beauveria bassiana*/*Metarhizium anisopliae*; T9 – Cinco isolados fúngicos).

### Atividades enzimáticas

Houve redução da atividade da fosfatase ácida para os tratamentos com o emprego de isolado de *M. anisopliae*, *P. chlamydosporia* e nos consórcios biológicos *T. asperellum* com *P. lilacinum* e *B. bassiana* com *M. anisopliae* (Figura 2c). Os tratamentos *T. asperellum*, *P. chlamydosporia* e *B. bassiana* com *M. anisopliae* apresentaram redução na atividade da enzima β-glicosidase quando comparados ao tratamento controle (Figura 3d). Os consórcios *B. bassiana* com *M. anisopliae* e os cinco isolados fúngicos

aumentaram a atividade de hidrólise da FDA em relação ao tratamento controle para (Figura 2e). A atividade de arilsulfatase não foi influenciada pelos tratamentos (Figura 2f).

Visando entender as relações entre as variáveis influenciadas pela aplicação dos fungos, realizou-se uma correlação de *Pearson* ( $p < 0.05$ ) (Tabela 5) entre os parâmetros de fertilidade do solo, fósforo e carbono orgânico, com a atividade enzimática. Destacou-se como relevante a correlação negativa entre o elemento fósforo e a atividade enzimática de fosfatase ácida, com um p-valor significativo.

**Tabela 5** – Correlação de *Pearson* representando parâmetros da atividade enzimática, fósforo no solo e carbono orgânico em *Phaseolus vulgaris L.* inoculados com fungos endofíticos.

	Fosfatase ácida	Fósforo	C_ orgânico
$\beta$ -glicosidase	0,13	-0,25	-0,19
	0,334 (p-value)	0,06 (p-value)	0,160 (p-value)
Fosfatase ácida	-	<b>-0,290</b>	-0,138
		<b>0,033 (p-value)</b>	0,318 (p-value)
Fósforo	-	-	0,097
			0,48 (p-value)
C_ orgânico	-	-	-

Para facilitar a visualização dos diferentes efeitos dos tratamentos sobre variáveis avaliadas, um resumo é apresentado na Tabela 6.

**Tabela 6** - Efeitos de aplicação de isolados fúngicos sobre a fertilidade e biologia do solo sob efeito rizosférico, crescimento e nutrientes do tecido vegetal de *Phaseolus vulgaris* L. quando comparados ao controle. NS, sem diferença significativa em relação ao controle; +, valores maiores que o controle; -, valores menores que o controle

	<i>B. bassiana</i>	<i>T. asperellum</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>P. lilacinum</i>	<i>P. chlamydosporia</i>	<i>T. asperellum/ P. lilacinum</i>	<i>B. bassiana/ M. anisopliae</i>	Cinco Isolados fúngicos
<i>Fertilidade do solo</i>								
pH (H <sub>2</sub> O)	NS	NS	NS	NS	+	+	NS	+
pH (H <sub>2</sub> O)	NS	NS	NS	+	+	+	NS	+
H+Al cmolc dm <sup>-3</sup>	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
NT %	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
P me <sup>-1</sup> mgdm <sup>-3</sup>	+	-	NS	NS	+	NS	+	NS
S mg dm <sup>-3</sup>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Mg cmolc dm <sup>-3</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+
Corg	NS	+	NS	NS	NS	+	+	+
T cmolc dm <sup>-3</sup>	NS	NS	+	NS	+	+	NS	NS
Ca cmolc dm <sup>-3</sup>	+	NS	NS	NS	+	NS	+	NS
V %	+	+	+	+	+	+	+	+
K cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	-	-	-	-	NS	NS	-	NS
<i>Biologia do solo</i>								
Solubilização de fosfato	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
β-glicosidase	NS	-	NS	NS	-	NS	-	NS
FDA	NS	NS	NS	NS	NS	NS	+	+
Fosfatase	NS	NS	-	NS	-	-	-	NS
Arilsulfatase	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Colonização micorrízica	+	+	+	+	+	+	+	+
Respirometria	NS	NS	NS	NS	NS	+	NS	+

*Nutrientes no tecido vegetal*

N	NS	NS	NS	+	NS	NS	NS	NS	NS
P	+	NS	NS	+	NS	NS	NS	+	+
K	NS								
S	NS								
Ca	NS								
Mg	NS								
Cu	NS	+	NS	+	+	+	NS	NS	NS
Fe	NS	NS	+	NS	NS	+	+	+	+
Mn	+	NS	NS	+	+	+	NS	NS	+
Zn	+	NS	NS	+	+	+	NS	NS	+
B	+	+	+	+	NS	+	NS	NS	NS

*Crescimento vegetal*

MFPA (g)	NS								
MFRz (g)	+	+	+	NS	+	NS	NS	NS	+
MSPA (g)	NS	NS	NS	+	NS	NS	NS	NS	NS
MSRz (mg)	+	+	+	NS	+	NS	NS	NS	+
Folhas Primárias	NS								
Folíolos	NS								
AFe_folhas primárias (cm <sup>2</sup> /g)	NS								

## DISCUSSÃO

Os cinco isolados fúngicos investigados podem colonizar endofiticamente a planta e a rizosfera, com possíveis efeitos nos atributos químicos e biológicos do solo. Cada isolado fúngico ou o consórcio deles resultou em efeitos particulares sobre a fertilidade e biologia do solo e sobre o crescimento vegetal. No entanto, a aplicação de qualquer um dos cinco isolados fúngicos ou os consórcios deles estimularam a colonização micorrízica arbuscular e aumentaram o teor de Mg no solo. Além disso, foi verificado efeitos próprios de cada tratamento no pH, concentrações de carbono orgânico, P, Ca, CTC no solo, e atividades de  $\beta$ -glicosidase, FDA e fosfatase ácida (Tabela 6).

O aumento da colonização de fungos micorrízicos arbusculares após a aplicação dos isolados fúngicos pode ser explicado pela regulação e síntese de fitohormônios pelas plantas ou pelos fungos (Krause et al., 2015a; Krause et al., 2015b; Larimer et al., 2012; Rozp et al., 2018). Os fungos aplicados ao solo podem sintetizar ácido jasmônico e ácido abscísico, os quais são precursores e reguladores de simbiose micorrízica (Ballaré, 2011; Etemadi et al., 2014; Foo et al., 2013). Uma possível explicação para esta relação entre colonização micorrízica arbuscular e ácidos abscísicos consiste na inibição da síntese de etileno por parte deste ácido; o qual estimula a senescência do sistema radicular em seu segundo pico, prejudicando a colonização dos fungos micorrízicos arbusculares (Fracetto et al., 2013; Hause et al., 2007). A avaliação da resposta de fungo endofítico (*Epichloë coenophiala*) inoculados em *Festuca alta* quanto a diversidade de microrganismos rizosféricos foi testada por Rojas et al., (2016) e concluiu um aumento do filo Glomeromycota (fungos micorrízicos arbusculares) e redução de filo Ascomycota. No entanto, poucos estudos indicam efeito do uso desses fungos na colonização micorrízica arbuscular (Farias et al., 2018) e ainda não há conhecimento sobre quais os mecanismos diretos que levam ao estímulo à colonização micorrízica pela aplicação dos cinco isolados fúngicos aplicados no solo.

O maior teor de P no solo sob os tratamentos *B. bassiana*, *P. chlamydosporia*; e consórcio *B. bassiana* com *M. anisopliae* pode ser efeito de solubilização de fosfato por ácidos orgânicos produzidos pelos fungos aplicados (Dezam et. Al., 2017). Contudo, um fator relevante consiste no aumento de sistemas radiculares, uma vez que havendo mais hidrolases sintetizadas pelas raízes e microrganismos que as colonizam, tende a refletir em maior mineralização de fósforo (Rejsek et al., 2012).

O teor de P no solo foi negativamente relacionado à atividade de fosfatase ácida no solo (Figura 4). Em uma situação de maior solubilização de fosfato no solo pelos fungos inoculados, o estímulo para produção de fosfatase seria menor. Isso pode contribuir para a menor atividade dessa enzima sob aplicação de *M. anisopliae*, *P. chlamydosporia*; consórcio *T. asperellum* com *P. lilacinum*; e consórcio *B. bassiana* com *M. anisopliae* em relação ao tratamento controle (Figura 3). No entanto, são escassos os estudos sobre atividade de fosfatase em resposta à aplicação desses fungos. Em outro estudo que avaliou o fungo *B. bassiana* aplicado em cultivo de arroz, a atividade de fosfatase ácida não diferiu do controle (Jia et al., 2013), já a inoculação de uma estirpe específica de *Trichoderma virens*, foi avaliada quanto ao seu potencial de biorremediação em solos contaminado por metais e os níveis de crescimento vegetal incluindo e a atividade de fosfatase ácida foram maiores que os tratamentos controles (Babu et. al., 2013).

Responsável por disponibilizar açúcares de assimilação facilitada em razão do baixo peso molecular (Tótola e Chaer, 2002), a enzima  $\beta$ -glicosidase foi testada no presente trabalho. Contudo os tratamentos *T. asperellum*, *P. chlamydosporia* e o consórcio *T. asperellum* com *P. lilacinum* apresentaram atividade de  $\beta$ -glicosidase inferiores ao tratamento controle, uma possível explicação para essa diferença pode ser pela alteração da dinâmica de carbono solúvel no solo. No entanto, não foi encontrado explicações para este fato na bibliografia consultada. Há um relato em solo contaminado com arsênico, onde a aplicação de *Trichoderma asperellum* se refletiu em maior atividade de  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida (Su et al., 2017).

Os tratamentos *B. bassiana* com *M. anisopliae* e o tratamento com os cinco isolados fúngicos apresentaram maiores atividades de hidrólise de FDA, indicando maior atividade microbiana no solo (Schnürer, J. e Rosswall, 1982; Alencar e Costa, 2000).

Apesar do conhecimento em promover o crescimento vegetal, pouco se sabe das relações dos cinco fungos inoculados com a atividade enzimática no solo. Pelo melhor que sabemos, esse é o primeiro trabalho que relaciona a aplicação dos fungos dos gêneros *Pochonia*, *Purpureocillium* e *Metarhizium* com a atividade enzimática no solo.

Além da influência sobre atividade enzimática, os efeitos dos fungos aplicados sobre a fertilidade do solo podem ter explicação na dinâmica de matéria orgânica no solo. Maior teor de matéria orgânica leva a um aumento de CTC, com possível aumento nos teores de magnésio no solo, cálcio e até do fósforo, uma vez que aplicação de fungos refletiu diretamente no aumento de carbono orgânico e CTC (GUO et al., 2016).

A maior massa seca e/ou fresca do sistema radicular corrobora estudos anteriores (Farias et al., 2018, Liao et al., 2017, Contreras-Cornejo et al., 2009). Aqui hipotetizamos que além da síntese e regulação da produção de fitohormônios estimulada pelos fungos inoculados (Martínez-Medina et al., 2014), o condicionamento biológico (maior colonização micorrízica arbuscular) e químico do solo (teor de Mg) podem ter papel no crescimento de raízes.

O fato de o presente trabalho avaliar as espécies de fungos isoladamente e em consórcio possibilita a avaliação de sinergismo presentes na co-inoculação. Ou seja, inocular apenas *M. anisopliae* não apresenta diferença na fertilidade do solo; contudo, uma vez em consórcio com *B. bassiana*, a diferença é alcançada para o teor de cálcio, carbono orgânico, fósforo. O mesmo acontece para a espécie *P. lilacinum*, pois se isolado não altera os parâmetros de pH (H<sub>2</sub>O), CTC e carbono orgânico, mas se em consórcio do *T. asperellum*, os resultados são significativos. Para as variáveis biológicas do solo, o consórcio apresentou maiores valores no consórcio *B. bassiana* com *M. anisopliae* e na inoculação com cinco inóculos fúngicos em comparação com aplicação isolada dos fungos. A interação entre microrganismos coinoculados no meio exercem mecanismos de simbioses entre eles (KOTHE; TURNAU, 2018) e o resultado desta simbiose pode ser explicado pelo efeitos de alteração os ciclos de decomposição de carbono em razão da mudança da taxa de decomposição do carbono orgânico, uma vez que os fitopatógenos tendem a ser controlados pelos endofíticos presentes no meio (SIX et al., 2006).

A inoculação e aplicação de fungos endofíticos em feijoeiro resulta em maiores índices na biologia do solo, principalmente na associação de micorrízica arbuscular, fertilidade química do solo como, saturação por bases e Mg e por fim em maiores valores de nutrientes no tecido vegetal, como potássio e boro.

## CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou resultados promissores para o condicionamento biológico do solo. Todos os fungos inoculados, isoladamente ou em consórcio condicionaram biologicamente o solo por meio do aumento da colonização micorrízica arbuscular, e quimicamente por meio do aumento da disponibilidade de Mg no solo. O aumento na concentração de Mg também resultou em maior saturação da CTC por bases.

Em relação às atividades enzimáticas testadas, houve um aumento da atividade de FDA nos consórcios biológicos *B. bassiana* com *M. anisopliae* e consórcio dos cinco isolados fúngicos.

Os tratamentos *P. chlamydosporia*, *B. bassiana* e *B. bassiana* com *M. anisopliae* aumentaram o teor de fósforo disponível no solo. A aplicação do isolado *Beauveria bassiana* resultou em uma redução da acidez do solo.

A aplicação de *B. bassiana*, *T. asperellum*, *M. anisopliae*, *P. chlamydosporia* e inoculação do consórcio com os cinco fungos aumentou os valores de Massa fresca da raiz (MFRz) e Massa seca da raiz (MSRz). Massa seca da parte aérea da planta (MSPA) aumentou com a aplicação de *P. lilacinum*, *B. bassiana* com *M. anisopliae* e inoculação do consórcio com os cinco fungos. A área foliar, massa fresca da parte aérea, número de fungos solubilizadores de fosfato e a atividade de arilsulfatase não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, F.C.N.; COSTA, J.L.S. Impacto da fumigação na biomassa e atividade microbiológica dos solos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, Belém. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.25, (suplemento), 2000. p.359.

BABU, A. G.; SHIM, J.; BANG, K. S.; SHEA, P. J.; OH, B. T. *Trichoderma virens* PDR-28: A heavy metal-tolerant and plant growth-promoting fungus for remediation and bioenergy crop production on mine tailing soil. **Journal of Environmental Management**, [S . l], v. 132, p. 129-134, 2014.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.10.009>

BALLARÉ, C. L. Jasmonate-induced defenses: a tale of intelligence, collaborators and rascals. **Trends in plant science**, Cambridge, MA, v. 16, n. 5, p. 249-257, May 2011. DOI: 10.1016/j.tplants.2010.12.001.

BEHIE, S. W.; BIDOCHKA, M. J. Nutrient transfer in plant-fungal symbioses. **Trends in Plant Science**, [S . l], v. 19, n. 11, p. 734-740, 2014.  
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.06.007>

CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al. *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal-and camalexin dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. **Plant signal & behavior**, Georgetown, TX, v. 6, n. 10, p. 1.554-1.563, Oct. 2011. DOI: 10.4161/psb.6.10.17443.

DAVIS, K. F.; GEPHART, J. A.; EMERY, K. A.; LEACH, A. M.; GALLOWAY, J. N.; ODORICO, P. D. Meeting future food demand with current agricultural resources. **Global Environmental Change**, v. 39, p. 125-132, 2016.  
<https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2016.05.004>

DAVIS, K. F.; YU, K.; HERRERO, M.; HAVLIK, P.; CARR, J. A.; ODORICO, P. D. Historical trade-offs of livestock's environmental impacts. **Environmental Research Letters**, v. 10, n. 12, [2015]. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/12/125013>

ETEMADI, M. et al. Auxin perception is required for arbuscule development in arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Plant physiology**, Lancaster, v. 166, p. 281-292, Sept. 2014. DOI:10.1104/pp.114.246595.

FARIAS, C. P.; CARVALHO, R. C. C; AZEVEDO, L. C. B... Consortium of five fungal isolates conditioning root growth and.... **Anais da Academis Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 4, p. 3649 - 3660, 2018. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820180161>

FOO, E. et al. Plant hormones in arbuscular mycorrhizal symbioses: an emerging role for gibberellins. **Annals of botany**, Oxford, v. 111, n. 5, p. 769-779, May 2013. DOI:10.1093/aob/mct041.

FRACETTO, G. G. M. et al. Tomato ethylene mutants exhibit differences in arbuscular mycorrhiza development and levels of plant defense-related transcripts. **Symbiosis**, Philadelphia, v. 60, p. 155-167, Feb. 2017. DOI: 10.1007/s13199-013-0251-1.

GARRIDO-JURADO, I.; RESQUÍN-ROMERO, G.; AMARILLA, S. P.; RÍOS-MORENO, A.; CARRASCO, L.; QUESADA-MORAGA, E. Transient endophytic colonization of melon plants by entomopathogenic fungi after foliar application for the control of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Pest Science**, [S. l.], v. 90, n. 1, p. 319-330, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0767-2>

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection in Roots. **New Phytologist**, 1980. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>

GREEN, V. S., STOTT, D. E., ; DIACK, M. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. **Soil biology and biochemistry**, [S. l.], v. 38, ano 4, p. 693 - 701. Apr. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.06.020>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071705002786?via%3Dihub>

GUO, J.; MCCULLEY, R. L.; PHILLIPS, T. D.; JR, D. H. M. Soil Biology & Biochemistry Fungal endophyte and tall fescue cultivar interact to differentially effect bulk and rhizosphere soil processes governing C and N cycling. **Soil Biology and Biochemistry**, [S. l.], v. 101, p. 165-174, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.07.014>

HAUSE, B.; SAARSCHMIDT, S. (2009). The role of jasmonates in mutualistic symbioses between plants and soil-borne microorganisms. **Phytochemistry**, [S. l.], v. 70, p.1589 - 1599, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.003>

JIA, Y.; HE, J. Z. J. Distribution of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* in Rice Ecosystems and Its Effect on Soil Enzymes. **Curr Microbiol**, [S. l.], v. 67, n. 5, p. 631-636, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00284-013-0414-6>

KOTHE, E.; TURNAU, K. Editorial : Mycorrhizosphere Communication : Mycorrhizal Fungi and Endophytic Fungus-Plant Interactions. v. 9, n. December, p. 1-4, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03015>

KRAUSE, K.; GUBE, M.; WAGNER, K.; KOESTLER, T.; SAMMER, D.; KNIEMEYER, O.; KOTHE, E. (2015). *Tricholoma vaccinum* host communication during ectomycorrhiza formation, **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, ano 11, p. 1-14, jun. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv120>. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsec/article/91/11/fiv120/2467358>. Acesso em: 14 maio 2019.

KRAUSE, K.; HENKE, C.; ASIIMWE, T.; ULBRICHT, A.; KLEMMER, S., SCHACHTSCHABEL, D; BOLAND, W. Biosynthesis and Secretion of Indole-3-Acetic Acid and Its Morphological Effects on *Tricholoma vaccinum* -Spruce Ectomycorrhiza. **Environmental Microbiology**, [S . I], v. 81, n. 20, p. 7003-7011. <https://doi.org/10.1128/AEM.01991-15>. Disponível: <https://aem.asm.org/content/81/20/7003>. Acesso em: 14 maio 2019.

LARIMER, A. L.; BEVER, J. D.; CLAY, K. Consequences of simultaneous interactions of fungal endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi with a shared host grass. **Oikos**, [S . I], v. 121, n. 12, p. 2090-2096, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.20153.x>

LEPŠ J. ; ŠMILAUER P. Multivariate analysis of ecological data using canoco. Cambridge University.

LI, Y.; LI, J.; ID, L. G.; TIAN, Y. Irrigation has more influence than fertilization on leaching water quality and the potential environmental risk in excessively fertilized vegetable soils. 2018. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0204570>. Acesso em: 14 maio 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204570>

LIAO, X.; O'BRIEN, T. R.; FANG, W.; ST. LEGER, R. J. The plant beneficial effects of *Metarhizium* species correlate with their association with roots. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S . I], v. 98, n. 16, p. 7089-7096, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5788-2>

LOPEZ, D. C.; SWORD, G. A. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). **Biological Control**, [S . I], v. 89, p. 53-60, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.03.010>

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; DEL MAR ALGUACIL, M.; PASCUAL, J. A.; VAN WEES, S. C. M. Phytohormone Profiles Induced by *Trichoderma* Isolates Correspond with Their Biocontrol and Plant Growth-Promoting Activity on Melon Plants. **Journal of Chemical Ecology**, [S . I], v. 40, n. 7, p. 804-815, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10886-014-0478-1>

MENDES DE OLIVEIRA, G.; MOREIRA DE FREITAS, A. L.; LIPARINI PEREIRA, O.; RIBEIRO DA SILVA, I.; BOJKOV VASSILEV, N.; DUTRA COSTA, M. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, [S . I], v. 64, n. 1, p. 239-249, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0656-3>

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphorus solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiol**, [S . I], Lett. 170 , 2017-2021, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(98\)00555-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(98)00555-2)

- PEOPLES, M. B.; HERRIDGE, D. F.; LADHA, J. K. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production?. **Plant and soil**, Cambridge, UK, v. 174, n.1-2, p.3-28., 2003.  
<https://doi.org/10.1007/BF00032239>
- RAI, M.; RATHOD, D.; AGARKAR, G.; DAR, M.; BRESTIC, M.; PASTORE, G. M.; JUNIOR, M. R. M. Fungal growth promotor endophytes: A pragmatic approach towards sustainable food and agriculture. **Symbiosis**, [S . l], v. 62, n. 2, p. 63-79, 2014.  
<https://doi.org/10.1007/s13199-014-0273-3>
- RAMANKUTTY, N.; MEHRABI, Z.; WAHA, K.; JARVIS, L.; KREMEN, C.; HERRERO, M.; RIESEBERG, L. H. Trends in Global Agricultural Land Use : Implications for Environmental Health and Food Security. **Annual review of plant biology**, [S . l], v. 69, p. 789-815, abr.2018.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040256>
- REES, H. Van; MCCLELLAND, T.; HOCHMAN, Z.; CARBERRY, P.; HUNT, J.; HUTH, N.; HOLZWORTH, D. Field Crops Research Leading farmers in South East Australia have closed the exploitable wheat yield gap : Prospects for further improvement. v. 164, p. 1-11, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.04.018>
- REJSEK, K.; VRANOVA, V.; PAVELKA, M.; FORMANEK, P. Acid phosphomonoesterase ( E . C . 3 . 1 . 3 . 2 ) location in soil. 1997, p. 196-211, 2012.  
<https://doi.org/10.1002/jpln.201000139>
- ROJAS, X.; GUO, J.; LEFF, J. W.; JR, D. H. M.; FIERER, N.; MCCULLEY, R. L. Infection with a Shoot-Specific Fungal Endophyte ( *Epichloë* ) Alters Tall Fescue Soil Microbial Communities. *Microbial Ecology*, [S . l], v. 72, n.1, p. 197 - 206, 2016.  
<https://doi.org/10.1007/s00248-016-0750-8>
- ROZP, P.; ROMAN, J. J.; MARTA, S.; STOJAKOWSKA, A.; ANIELSKA, T. Does co-inoculation of *Lactuca serriola* with endophytic and arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth in a polluted environment ? p. 235-246, 2018.  
<https://doi.org/10.1007/s00572-018-0819-y>
- SCHNÜRER, J., ; ROSSWALL, T.. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. **Applied and environmental microbiology**, [S . l], v. 43, n. 6, p.1256-1261, 1982.
- SHANKAR, J.; KUMAR, V. Science of the Total Environment Soil microbial biomass : A key soil driver in management of ecosystem functioning. **Science of the Total Environment**, [S . l], v. 634, p. 497-500, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.373>
- SILVA, F. C. 2009. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.
- SIX, J.; FREY, S. D.; THIET, R. K.; BATTEN, K. M. Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. v. 2, p. 555-569, 2006.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj2004.0347>

SMITH, S. E. ; READ, D. J. (ed.). Mycorrhizal Symbiosis. [S . l]: Academic Press, 1997.

SU, S.; ZENG, X.; BAI, L.; WILLIAMS, P. N.; WANG, Y.; ZHANG, L. Chemosphere Inoculating chlamydospores of *Trichoderma asperellum* SM-12F1 changes arsenic availability and enzyme activity in soils and improves water spinach growth. **Chemosphere**, [S . l], v. 175, n. 12, p. 497-504, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.048>

TABATABAI, M. A. (1994). Soil Enzymes. In: WEAVER ,R. W.; . ANGLE, J. S.; BOTTTOMLEY, P. S. (ed.). *Methods of Soil Analysis: Microbiological and Biochemical Properties*. Madison, WI: **Soil Science Society of America**, 1994, p. 775 - 833.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A; TEIXEIRA, W.G. 2017. *Manual de métodos de análise de solo*. 3. ed. Brasília: Embrapa. 573 p.

TIWARI, S.; LATA, C.; CHAUHAN, P. S.; NAUTIYAL, C. S. SC. **Plant Physiology and Biochemistry**, 2015.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V. H. et al. (ed.). *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do solo, 2002. v. 1. p. 487-592.

VANCE, C. P. Update on the State of Nitrogen and Phosphorus Nutrition Symbiotic Nitrogen Fixation and Phosphorus Acquisition . *Plant Nutrition in a World of Declining Renewable Resources*. 2014.

VERMA, P.; YADAV, A. N.; KHANNAM, K. S.; KUMAR, S.; SAXENA, A. K.; SUMAN, A. Molecular diversity and multifarious plant growth promoting attributes of Bacilli associated with wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere from six diverse agro-ecological zones of India. **Journal of Basic Microbiology**, [S . l], v. 56, n. 1, p. 44-58, 2016. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500459>

VIERHEILIG, H.; COUGHLAN, A. P.; WYSS, U. R. S.; RECHERCHE, C. De. Ink and Vinegar , a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, [S . l], v. 64, n. 12, p. 5004-5007, 1998.