



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA- PGAGRO**

JULIETE DE SOUSA OLIVEIRA

**MICROORGANISMOS ASSOCIADOS À ADUBAÇÃO NA PROMOÇÃO DE
CRESCIMENTO EM PLANTAS DE MILHO CRIOULO (*Zea mays* L.)**

**BELÉM-PA
2024**

JULIETE DE SOUSA OLIVEIRA

**MICROORGANISMOS ASSOCIADOS À ADUBAÇÃO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO
EM PLANTAS DE MILHO CRIOULO (*Zea mays* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia (Ufra), como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, na Área de concentração: Produção Vegetal em Sistemas Agrícolas, para obtenção do título de Mestra em Agronomia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Telma Fátima Vieira Batista

Coorientador: Prof. Dr. Jessivaldo Rodrigues Galvão

**BELÉM
2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48m Oliveira, Juliete de Sousa
MICRORGANISMOS ASSOCIADOS À ADUBAÇÃO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM
PLANTAS DE MILHO CRIOULO (*Zea mays* L.) / Juliete de Sousa Oliveira. - 2024.
61 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Agronomia(PPGA), Campus Universitário
de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2024.

Orientador: Profa. Dra. Telma Fátima Vieira Batista
Coorientador: Prof. Dr. Jessivaldo Rodrigues Galvão.

1. *Zea mays* L. 2. Microorganismo. 3. Promotores de Crescimento. 4. Biofertilizantes. 5.
Desenvolvimento de Plantas. I. Batista, Telma Fátima Vieira, *orient.* II. Título

CDD 632.96

JULIETE DE SOUSA OLIVEIRA

**MICROORGANISMOS ASSOCIADOS À ADUBAÇÃO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO
EM PLANTAS DE MILHO CRIOULO (*Zea mays* L.)**

Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração: Produção Vegetal em Sistemas Agrícolas, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Telma Fátima Vieira Batista

Coorientador: Prof. Dr. Jessivaldo Rodrigues Galvão

Data da Aprovação: **26/02/2024**

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br TELMA FATIMA VIEIRA BATISTA
Data: 26/02/2024 13:25:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Telma Fátima Vieira Batista
Universidade Federal Rural da Amazônia (Ufra)

Documento assinado digitalmente
gov.br DENISE CASTRO LUSTOSA
Data: 26/02/2024 10:51:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr.^a Denise Castro lustosa
Universidade Federal do Oeste do Pará (Ufopa)



Prof. Dr. Ruy Guilherme Correia
Secretaria de Estado de Educação do Pará (Seduc)

Documento assinado digitalmente
gov.br RODOLFO INACIO NUNES SANTOS
Data: 26/02/2024 13:43:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Rodolfo Inácio Nunes Santos
Secretaria Estadual de Meio Ambiente (Sema)

Dedico primeiramente a Deus, que sempre foi o meu refúgio e minha fortaleza. Aos meus pais, Rosivaldo silva de Oliveira e Maria José de Souza Oliveira. Dedico, também, aos meus familiares, que foram esteio nos momentos mais desafiadores. Todos são fundamentais para meu crescimento e para realização dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus toda a minha imensa gratidão. Ele que me guia, me ilumina por todos os caminhos que destina à minha vida e me permite vivenciar as minhas conquistas;

A Nossa Senhora de Nazaré, por interceder por mim junto ao Pai. Sempre me amparando e zelando por mim. Obrigada, mãezinha.

Ao meu Pai, Rosivaldo Silva de Oliveira, e à minha mãe, Maria José de Souza Oliveira por todo o suporte ao longo de toda a minha vida, por sempre me apoiarem e incentivarem;

Aos meus avós, Clotilde Silva de Oliveira (*in memoriam*), Raimunda Nazária Corrêa e Waldemar França de Oliveira (*in memoriam*), que sempre rezaram e acreditaram em mim;

Às minhas primas-irmãs, Victória Gabriela da Costa e Tatiana Oliveira, por não me deixarem desistir. Elas estiveram ao meu lado nos momentos mais desafiadores e estão comigo quando as coisas saem totalmente do eixo, sendo essenciais nessa jornada. Agradeço, também, ao meu irmão, Danilo de Souza Oliveira, a Ivy Oliveira, minha sobrinha amada que chegou recetemente para adocicar mais a minha vida, e ao meu amigo Rafael Silva, por ter feito parte dessa caminhada;

Aos meus tios e tias, em especial minha tia Marli Oliveira, por fazerem parte da minha vida desde a minha infância;

À minha orientadora, Telma Fátima Vieira Batista, por acreditar nesse trabalho. Obrigada por toda a sua orientação, empatia, profissionalismo, disponibilidade e apoio para a conclusão desta pesquisa;

Ao meu coorientador, Jessivaldo Rodrigues Galvão, que acreditou incansavelmente em mim em todos os momentos dessa caminhada. Agradeço pelo apoio, pelas conversas generosas, pelo carinho e pela atenção;

Aos meus amigo(as) Brenda Rodrigues, Bruno Maia, Maria Luiza Brito, Bruna Pantoja e Fernando Souza. Sem vocês as coisas seriam mais pesadas e complicadas, com toda certeza. Obrigada pelos ensinamentos, conhecimentos repassados, pela parceria, pela paciência, empatia, humildade, pelas palavras de carinho e pelos inúmeros momentos de alegrias;

Às minhas amigas de longa data, Erika Reis e Josiane Santos. Amigas queridas que acompanham todas as etapas da minha vida. Em especial à Erika Reis, por ser uma das pessoas que mais incentivam as minhas escolhas e incentiva na vida. Desde de sempre acreditando que eu podia chegar até aqui. Obrigada por muitas vezes serem a minha bússula;

Às minhas amigas queridas Bárbara Leão, Glória Leão, Sandy Moraes, Polyana Pontes, Patrícia Moraes, Evellyn Moraes, Regiane Leão e Vera Suely Moraes por todo o incentivo na minha caminhada, por acreditarem e vibrarem com as minhas conquistas;

Aos amigos do Laboratório de Proteção de Plantas, que sempre contribuíram com meu desenvolvimento no mestrado, seja tirando dúvidas para o desenvolvimento do experimento, seja em momentos de descontração; sem vocês seria mais difícil a caminhada. Especialmente, Juliana Tavares, Marie Ohashi, Maria Gomes, Carolina Sarto, Rafael Rodrigo, Diego Alves, Gleiciane rodrigues, Alice cavalcante, Alessandra Moraes, Ivy saliba, Matheus Yan, Mateus Augusto Santana, Matheus Vinícios, Mauro Borges, Thiago Costa, Hugo Manuel, Erika Sena e Kariny Santos. Ressalto Mauro Borges e Thiago Costa que me apoiaram desde o início do meu processo para ingressar no mestrado e em tudo que eu precisei;

Aos meus amigos de graduação que perduram em minha vida até hoje. Caroline Ferreira, João Matos, Paulo Henrique, Michelle Cantão, Danielle Pereira Mendonça. Vocês agregam demais na minha vida; os momentos com vocês são sempre de muitas alegrias;

À Universidade Federal Rural da Amazônia - Ufra, como instituição que me proporcionou a oportunidade de realizar o mestrado, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e sua equipe de docentes, técnicos e demais funcionários, pelos ensinamentos e suporte constante;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo durante o processo de mestrado;

Por fim, a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a produção deste trabalho.

Juliete de Sousa Oliveira.

*“Consagre ao Senhor tudo o que você faz,
e os seus planos serão bem-sucedidos.”*

Provérbios 16:3

RESUMO

Na região Amazônica, o milho (*Zea mays* L.) pertencente à família Poaceae, é considerado um cereal de grande importância, para o consumo humano, para alimentação animal e obtenção de biocombustíveis, como etanol e biodiesel. É, particularmente, uma cultura com alta exigência de macronutrientes, como o nitrogênio, fósforo e potássio, essenciais para o desenvolvimento dos vegetais, possibilitando alternativas mais sustentáveis e econômicas. Acredita-se que a redução da quantidade de adubação associada a biofertilizantes, como os fungos nativos da Amazônia, podem influenciar positivamente na promoção de crescimento, trocas gasosas, viabilidade econômica e na produtividade, semelhante ao padrão com 100% da adubação recomendada à cultura. Nesse sentido, objetivou-se avaliar o uso de fungos entomopatogênicos e agentes de controle biológico em doenças de plantas *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e o mix de *Trichoderma asperellum* (Isolados UFRA T06, T09, T12 e T52) associados a 50% da adubação recomendada sobre parâmetros biométricos, fisiológicos, anatômicos de plantas de milho crioulo. O experimento foi realizado em casa de vegetação, com delineamento experimental inteiramente casualizado; seis tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram: T1- sem adubação e fungos (Controle), T2- 50% da adubação recomendada para cultura, T3- *Beauveria bassiana* + 50% de adubação, T4- *Metarhizium anisopliae* + 50% de adubação, T5- Mix de *Trichoderma asperellum* (Isolados UFRAT06, T09, T12 e T52) + 50% de adubação e T6- 100% adubação (Tratamento padrão recomendado). Todos os tratamentos com os microrganismos promoveram maior crescimento das plantas de milho, sendo o mais eficiente o T5 para todas as variáveis analisadas. Plantas inoculadas com *M. Anisopliae* e adubação e, com o mix de *T. Asperellum* e adubação apresentaram valores superiores nos parâmetros de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e eficiência da carboxilação (A/C_i), em relação ao tratamento controle. Para a variável CO_2 intercelular (C_i), destacaram-se os tratamentos T4 e T5. Nas análises anatômicas dos fungos, os melhores tratamentos foram T4 e T5. Bioquimicamente, todos os microrganismos avaliados apresentaram resultados satisfatórios para solubilização de fosfatos, produção de sideróforos e produção de ácido indolacético (AIA). Conclui-se que os microrganismos *M. anisopliae* e *T. asperellum*, associados à metade da adubação recomendada para o milho crioulo, são eficientes e maximizam os parâmetros biométricos, fisiológicos e anatômicos da cultura.

PALAVRAS-CHAVE: interação planta-fungo; trocas gasosas; desenvolvimento de plantas; fungos entomopatogênicos; biofertilizantes.

ABSTRACT

In the Amazon region, corn (*Zea mays* L.), belonging to the Poaceae family, is considered a cereal of great importance for human consumption, animal feed and obtaining biofuels, such as ethanol and biodiesel. It is, particularly, a crop with a high requirement of macronutrients, such as nitrogen, phosphorus and potassium, essential for the development of vegetables, enabling more sustainable and economical alternatives. It is believed that the reduction in the amount of fertilization associated with biofertilizers, such as the fungi native to the Amazon, can positively influence the promotion of growth, gas exchange, economic viability and productivity, similar to the standard with 100% of the fertilization recommended for the crop. In this sense, the objective of this study was to evaluate the use of entomopathogenic fungi and biological control agents in plant diseases *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and the mix of *Trichoderma asperellum* (isolates UFRA T06, T09, T12 and T52) associated with 50% of the recommended fertilization on biometric, physiological, and anatomical parameters of Creole corn plants. The experiment was carried out in a greenhouse, with a completely randomized design; six treatments and six replications. The treatments were: T1- without fertilization and fungi (Control), T2 - 50% of the recommended fertilization for culture, T3- *Beauveria bassiana* + 50% fertilization, T4- *Metarhizium anisopliae* + 50% fertilization, T5- *Trichoderma asperellum* Mix (Isolates UFRAT06, T09, T12 and T52) + 50% fertilization and T6- 100% fertilization (Recommended standard treatment). All treatments with microorganisms promoted greater growth of corn plants, with the most efficient being T5 for all variables analyzed. Plants inoculated with *M. anisopliae* and fertilization and with the mix of *T. Asperellum* and fertilization showed higher values in the parameters of net photosynthesis (A), stomatal conductance (gs), transpiration (E) and carboxylation efficiency (A/Ci), compared to the control treatment. For the intercellular CO₂ (Ci) variable, the T4 and T5 treatments stood out. In the anatomical analyses of the fungi, the best treatments were T4 and T5. Biochemically, all microorganisms evaluated showed satisfactory results for phosphate solubilization, siderophore production and indoleacetic acid (IAA) production. It is concluded that the microorganisms *M. anisopliae* and *T. asperellum*, associated with half of the fertilization recommended for creole corn, are efficient and maximize the biometric, physiological and anatomical parameters of the crop.

KEYWORDS: plant-fungus interaction; gas exchange; plant development; entomopathogenic fungi; biofertilizers.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização geográfica da área de estudo, pertencente à Universidade Federal Rural da Amazônia, área de Solos/ ICA – APHA, localizada em Belém, PA, Brasil..... 37
- Figura 2.** Solubilização de fosfato em meio NBRIP (modificado) por isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma asperellum* e *Beauveria bassiana*, em diferentes tempos de crescimento. Letras minúsculas distintas representam diferença significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste Duncan ($p < 0,05$)44
- Figura 3.** Produção de sideróforos em meio de cultivo BD (batata e dextrose) por isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma asperellum* e *Beauveria bassiana*, em intervalo de 8 dias. Letras minúsculas distintas representam diferença significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste Duncan ($p < 0,05$) 44
- Figura 4.** Produção de ácido indol acético em meio FAN suplementado com L-triptofano por isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma asperellum* e *Beauveria bassiana*, em intervalo de 8 dias. Letras minúsculas distintas representam diferença significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste Duncan ($p < 0,05$)..... 45
- Figura 5.** Média + erro padrão das análises biométricas para altura (A), número de folhas (B), massa seca da parte aérea (C), área foliar (D), diâmetro do coleto (E), comprimento das raízes (F) de plantas de *Zea mays* L., após aplicação de fungos entomopatogênicos associados a adubação. Município de Belém, PA. Amazônia Oriental, Brasil 47
- Figura 6.** Plantas de milho aos 30 dias após o plantio (T1) controle, (T2) 50% de adubação, (T3) *Beauveria bassiana* +50% de adubação, (T4) *Metarhizium anisopliae* + 50% de adubação (T5) *Trichoderma asperelum* + 50% de adubação e (T6) 100% de adubação48
- Figura 7.** Média + erro padrão das análises de fotossíntese líquida (A) (7A), condutância estomática (gs) (7B), carbono intercelular (Ci) (7C), transpiração (7D) e eficiência de carboxilação (A/Ci) (7E), em plantas de *Zea mays* L. bioestimuladas com fungos entomopatogênicos. Município de Belém, PA. Amazônia Oriental. Brasil 49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atributos químicos e físicos do Latossolo Amarelo distrófico, utilizado para a cultura do milho crioulo (<i>Zea mays</i> . L) no vaso e em casa de vegetação no município de Belém/ PA	39
Tabela 2. Densidade estomática (DE), diâmetro polar médio (DPM), diâmetro equatorial médio (DEM) e funcionalidade estomática (FUN) em folhas de milho crioulo após aplicação de fungos associados a adubação, em casa de vegetação. Município de Belém, PA. Amazônia Oriental, Brasil	48

LISTA DE SIGLAS

A - Taxa de assimilação líquida de CO₂

A/C_i - Eficiência de carboxilação da Rubisco

ATP - Adenosina Trisfosfato

C_i - Concentração intercelular de CO₂

E - Taxa de transpiração

g_s - Condutância estomática ao vapor d'água

K - Potássio

N - Nitrogênio

NADPH - Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida

P - Fósforo

PAR - Radiação fotossinteticamente ativa

PNRT - Poder Relativo de Neutralização Total

PS II – Fotossistema II

AIA - IAA Ácido indol-acético

FE - Fungos entomopatogênicos

SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO	13
REFERÊNCIAS.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1. A importância econômica do milho	18
2.2. Valor nutricional na alimentação	19
2.3 Nutrição mineral e adubação da cultura do milho	19
2.4. Solubilização de fosfato.....	21
2.5. Produção de ácido indolacético- AIA	22
2.6. Produção de sideróforos.....	23
2.7. Fungos entomopatogênicos.....	23
2.7.1 <i>Metarhizium anisopliae</i>	24
2.7.2 <i>Beauveria bassiana</i>	25
2.8. Microrganismo promotores de crescimento.....	25
2.8.1 <i>Trichoderma asperellu</i>	27
2.9. Trocas gasosas	28
REFERÊNCIAS.....	29
3. INTRODUÇÃO.....	36
4. MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Área de estudo.....	37
4.2. Caracterização do experimento.....	38
4.3 Microrganismos	39
4.4 Cultivo e produção massal dos isolados fúngicos	39
4.5 plantio	39
4.6 Inoculação dos microrganismos.....	40
4.7 Desenho experimental.....	40
4.8 Análise de crescimento e biomassa.....	40
4.9 Anatomia foliar	40
4.10 Testes bioquímicos dos fungos	41
4.10.1 Solubilização de fosfato.....	41
4.10.2 Produção de Ácido Indol Acético - AIA.....	42
4.10.3 Produção de sideróforos.....	42
4.11 Trocas Gasosas.....	43

SUMÁRIO

5. RESULTADOS	44
5.1 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	44
5.1.1 Solubilização de fosfato	44
5.1.2 Produção de sideróforos	44
5.1.3 Produção de Ácido Indol Acético (AIA)	45
5.2 Avaliação biométrica	46
5.3. Anatomia foliar	48
5.4. Avaliações fisiológicas	49
6. DISCUSSÃO.....	50
7. CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	54

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A origem geográfica do milho moderno refere-se à região central do México (Kistler *et al.*, 2018) a partir de estudos relacionados a aspectos genômicos linguísticos, arqueológicos e paleológicos, sabe-se que as populações ancestrais da América do Sul se tornaram imprescindíveis para atual diversidade do milho. Ademais, os primeiros sistemas de agricultura responsabilizaram-se pelas adaptações e formação de tais espécies locais, cultivadas em agroecossistema que se vinculam em ambientes diversificadas e de grande riqueza. Logo, as comunidades locais começaram seus cultivos, ocorrendo diversas modificações e adaptações nas plantas ao decorrer do processo. Quando se trata do contexto das variedades crioulas, locais e/ou tradicionais, inclui-se os aspectos adaptativos e produtivos, além dos ligados aos valores culturais, sociais e ambientais (Machado, 2020).

Enfatizam-se os termos “variedade crioula” ou “cultivar crioula”, assim como “variedade tradicional”, que são inseridas no meio da agricultura, como em ambientes agroecológicos e socioeconômicos, havendo a necessidade de ao menos cinco ciclos de cultivo. Diante disso, essas variedades são manejadas num mesmo agroecossistema, por no mínimo três gerações de famílias, que por seus valores históricos, passam a fazer parte das tradições locais. (Machado, 2020). Mostra-se uma cultura com características de estudos bastante atrativas, oferecendo base para futuros avanços (Silva Pinheiro *et al.*, 2021).

Atualmente, o Brasil é reconhecido como um dos principais líderes globais no cultivo de grãos, impulsionado pelas tecnologias e práticas de manejo adotadas. Essa cultura destaca-se pelo seu elevado potencial produtivo e valor nutricional, sendo amplamente empregada na alimentação tanto humana quanto animal (Campanha *et al.*, 2012).

Compreendendo esse cenário. O Brasil desempenha um papel fundamental nas atividades de criação de animais para a produção de carne e leite, incluindo aves, suínos e bovinos. Cerca de 47% da produção nacional de milho é voltada para alimentação animal. A cultura do milho destaca-se pelo seu elevado potencial de produção e valor nutricional (Brasil, 2020).

Muitas plantações cultivadas e preservadas por gerações, conforme as condições edafoclimáticas, especificamente, são prejudicadas com a questão dos processos erosivos genéticos, que por sua vez, são intimamente ligados à expansão de sistemas agroindustriais. São fatores que sofrem impacto negativo não apenas quando se trata de agrobiodiversidade, a cultura dos povos e das comunidades tradicionais associadas, mas também de programas de melhoramento genético vegetal, que dependem da diversidade genética para o surgimento de novos materiais (Mantragolo *et al.*, 2020).

De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), os Estados Unidos são os maiores produtores de milho do mundo, visto que apresentam clima favorável para cultivo, possuem investimento significativo em tecnologias que possibilitam a criação de variedades vegetais, detém infraestrutura de transporte, logística bem desenvolvida e demanda interna e externa.

O Brasil destaca-se como o terceiro maior produtor de milho no mundo, ficando atrás da China e dos Estados Unidos (FAO, 2021). A Produção de grãos no país está projetada para atingir 306,4 milhões de toneladas, conforme indicado pelo 4º levantamento para a safra 2023/24, divulgado pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB); estes dados revelam uma nova redução na estimativa de colheita. No geral, as condições climáticas instáveis, caracterizadas por chuvas escassas e mal distribuídas, causam a diminuição deste volume, representando uma queda de 13,5 milhões de toneladas em relação ao obtido na safra de 2022/2023. O estado do Pará ocupa a 22ª posição no ranking nacional, tendo como principais municípios produtores de milho: Santarém, Paragominas e São Félix do Xingu (IBGE, 2022). Em 2022, os Estados como Mato Grosso (47,46%), Mato Grosso do Sul (12,44%), Mato Grosso do Sul (6,74%), Goiás (6,65%) e Paraná 6,09% mostraram-se como os maiores exportadores de milho (Brasil, 2023).

O uso de fertilizantes na agricultura torna-se gradativamente um desafio para os produtores. De acordo com dados da Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA), os preços dos fertilizantes no Brasil apresentaram aumento de 60% em 2021 em comparação ao mesmo período de 2020. Tendo em vista o alto potencial dessa cultura, nova tecnologia vem sendo implementada para o processo de produção, como o uso de bioestimulantes, sendo uma estratégia promissora que vem atingindo espaço na agricultura nos últimos anos (Pereira; Simonetti, 2021).

A tecnologia microbiana está conquistando uma posição de destaque na atualidade, especialmente no manejo sustentável das culturas agrícolas. Essa abordagem não apenas promove um aumento na produtividade, mas também exerce um impacto direto na redução do uso de fertilizantes químicos (Cardoso *et al.*, 2021). Algumas estratégias têm sido utilizadas em busca de alternativas para amenizar os impactos negativos na produção agrícola. Dentre essas alternativas, os fungos promotores de crescimento, como possibilidade mais rentável e sustentável que objetivam relação mútua com a planta, ou seja, ambas usufruem dessa associação (Mishra, 2017). Os microrganismos benéficos desempenham papel importante no crescimento das plantas, principalmente quando apresentam diferentes mecanismos de ação. Esses microrganismos possuem a capacidade de melhorar a disponibilidade de nutrientes para

as plantas, de regular a produção de fitohormônios e aumentar a capacidade de plantas de lidar com estresses bióticos e abióticos (Lopes, Dias-filho; Gurgel, 2021).

As espécies *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* apresentam tanto características entomopatogênicas quanto endofíticas, sendo capazes de infectar insetos-pragas, estabelecendo-se não só como endofíticos em diversas plantas, mas também mostrando-se eficientes em estímulos de crescimento de plantas (Canassa *et al.*, 2019). *B. Bassiana* e *M. anisopliae* são mais importantes e amplamente utilizados para controlar pragas de insetos. No entanto, em estudos recentes mostram-se como promotores de crescimento das plantas após inoculação artificial nas plantas de milho (*zea mays*) (Liu *et al.*, 2022). A Biodiversidade de (MPCPs), que mostra-se potencial benéfico para o desenvolvimento das plantas, representa uma alternativa promissora para aprimorar a produtividade visando atender à crescente demanda por alimentos, ao mesmo tempo em que busca mitigar os impactos negativos sobre o meio ambiente (Pathania *et al.*, 2020). Sendo assim, a utilização de fungos agentes de controle biológico, além de atuarem no controle de pragas e doenças, também podem auxiliar no desenvolvimento vegetal juntamente com a adubação.

REFERÊNCIAS

- ANDA. **Anuário estatístico do setor de Fertilizantes 2021**. São Paulo: ANDA, 2022. 176 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2019/2020 a 2029/2030, Projeções de longo prazo**. Brasília, 2020, 102 p. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/ao-completar-160-anos-ministerio-da-agricultura-preve-crescimento-de-27-na-producao-de-graos-do-pais-na-proxima-decada/ProjecoesdoAgronegocio2019_20202029_2030.pdf> Acesso em: 27 Fev 2024.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: **AGROSTAT: Estatísticas de Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro**. Brasília/DF: 02 mar. 2023g. Disponível em: <https://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm>. Acesso em: 02 mar. 2023.
- CAMPANHA, M. M.; CRUZ, J. C; RESENDE, Á. V; COELHO, A. M; KARAM, D; SILVA, G. H. da; FILHO, I. A. P; CRUZ, I; MARRIEL, I. E; GARCIA J. C.; QUEIROZ, L. R; COTA, L. V; PIMENTEL, M. A. G; VIANA, P. A; NETO, M. M. G; COSTA, R. V. da; ALBUQUERQUE, P. E. P. de; MENDES, S. M; QUEIROZ, V. A. V. **Sistema de Produção Integrada de Milho para Região Central de Minas Gerais**. Sete Lagoas: Embrapa, 2012. 74p.
- CANASSA, F. A. T.; SUSANNA, M.; RAFAEL A.; LARA, I. A. R.; DELALIBERA, I.; MEYLING, N. V. Effects of bean seed treatment by the entomopathogenic fungi *Metarhizium robertsii* and *Beauveria bassiana* on plant growth, spider mite populations and behavior of predatory mite. **Biological Control**, v. 132, p. 199-208, 2019.

CARDOSO A. F; ALVES E C; da COSTA. S. D. A; de MORAES. A. J. G; da SILVA JÚNIOR, D. D; L. P. M. P; da SILVA, G. B; *Bacillus cereus* Improves Performance of 148 Brazilian Green Dwarf Coconut Palms Seedlings with Reduced **Chemical Fertilization**. Front 149 Plant Sci 12: 2021 [https://doi.org/ 10.3389/fpls.2021.649487](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.649487).

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Safra 2023/2024 – 4º levantamento.v4 , n,1, 60.p Disponível em: <https://www.conab.gov.br/> Acesso em Janeiro de 2024.

FAO. The State of Food and Agriculture 2020. Rome: FAO, 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/3/ca9692en/ca9692en.pdf>.

FAO. World fertilizer trends and outlook to 2021/22. Roma, 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/3/I9174EN/i9174en.pdf>.

IBGE. **Agricultura, pecuária e outros. Levantamento sistemático da produção agrícola**. 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/> Acesso em Março de 2022.

KISTLER, L; MAEZUMI, S. Y; SOUZA, J. G. de; PRZELOMSKA, N. A. S.; COSTA, F. M.; SMITH, O; LOISELLE, H; RAMOS-MADRIGAL, J; WALES, N.; RIBEIRO, E. R; MORRISON, R. R.; GRIMALDO, C.; PROUS, A. P.; ARRIAZA, B.; GILBERT, M. T. P.; FREITAS, F. de O.; ALLABY, R. G. Multiproxy evidence highlights a complex evolutionary legacy of maize in South America. **Science**, v. 362, n. 6420, p. 1309-1313, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aav0207>.

LIU, Y; YANG, Y; WANG, B; Os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* desempenham papéis de promotores de crescimento do milho (*Zea mays*). **Scientific reports Rep 12** , 15706 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19899-7>.

LOPES, M. J. DOS S; DIAS-FILHO, M. B; GURGEL, E. S. C. Successful Plant Growth-Promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 48, 2021. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.606454>.

MACHADO, A. T. A conservação e o desenvolvimento das sementes crioulas em uma perspectiva interdisciplinar da agrobiodiversidade. In: PEREIRA, V. C.; DAL SIOGLO, F. K. (org.). **Conservação Produção orgânica de milho crioulo: Fazenda Vista Alegre 35 das sementes crioulas: uma visão interdisciplinar da agrobiodiversidade**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2020. p. 79-103.

MATRANGOLO, W. J. R.; CIOTOLA, J. L.; FRANÇA, F. C. T.; MACHADO, A. T.; TEIXEIRA, F. F.; FREITAS, F. O.; GADELHA, E. G. Produção de sementes de milho crioulo em Juvenília, MG. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 2020. Edição dos Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia, São Cristóvão, Sergipe, 2019.

MATRANGOLO, W. J. R; CIOTOLA, J. L; FRANÇA, F. C. T; MACHADO, A. T; TEIXEIRA, F. F.; FREITAS, F. O.; GADELHA, E. G. Produção de sementes de milho crioulo em Juvenília, MG. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 2020. Edição dos Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia, São Cristóvão, Sergipe, 2019.

MISHRA, J; SINGH, R; ARORA, N. K; SRINIVASAN, R. Harnessing plant-microbe

interactions for enhanced protection against phytopathogens. In *Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants* Springer, Singapore, p. 109-123, 2017.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO (FAO). FAOSFAT Dataase: Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso 10 de mai. 2023.

PATHANIA, P; RAJTA, A; SINGH, P.C; BHATIA, R. Role of plant growth-promoting bacteria in sustainable agriculture. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 30, p. 101842, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101842>.

PEREIRA, V. L. D.; SIMONETTI, A. P. M. M. Uso de Bioestimulantes associado ao tratamento de semente de milho (*Zea mays* L.). **Revista Cultivando o Saber**, V. 14, p.186-192, 2021.

SILVA PINHEIRO, L; SILVA, R. C; CONCEIÇÃO VIEIRA, R; AGUIAR, R. O.; NASCIMENTO, M. R; VIEIRA, M. M; SOUSA, R. F; OLIVEIRA, J. T; SILVA, J. SILVA, T. E. A; PEREIRA, F. H. F; LIMA, L. A. A; ANDRADE JUNIOR, A. S; ALVES, B. J. R. Impactos do aumento de preços dos fertilizantes na produção de grãos no Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 29, n. 1, p. 123-143, 2020.

SILVA, V. F. A; SILVA, P. A. Análise de trilha dos atributos físicos de milho (*Zea mays* L.) em sistema de cultivo convencional. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e8010110832-e8010110832, 2021. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.10832>.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A importância econômica do milho

O milho (*Zea mays* L.) é pertencente à família *Poaceae* e do gênero *Zea*. É uma das culturas mais antigas e cultivadas no mundo, tendo papel significativo na economia, por apresentar alto valor comercial na produção de grãos, possuindo alta produtividade devido à habilidade de adaptação às condições ambientais adversas e por seu valor nutricional (Duarte *et al.*, 2021).

Independente da região de cultivo, a alta produtividade do milho é consequência do uso de várias tecnologias de produção, como correção e fertilização adequada do solo, plantio direto, manejo integrado de plantas invasoras, pragas e doenças, sementes com qualidade genética superior (Eicholz *et al.*, 2016).

As variedades comerciais empregadas com baixas tecnologias de cultivo podem apresentar desempenho próximo ou inferior às variedades cultivadas pelo agricultor (Carpentieri *et al.*, 2010).

De acordo com alguns estudos, a domesticação do milho teve início com os nativos do México, que passaram por longo período de seleção das variedades com características superiores. Sob essa ótica, o processo de seleção natural e domesticação desempenhou papel crucial na atribuição da importância atualmente associada à cultura do milho (Cruz *et al.*, 2011).

Conforme mencionado anteriormente, sementes crioulas podem ser definidas como aquelas que durante um longo período, foram conservadas, cultivadas e selecionadas por vários agricultores, não sofrendo modificações por meio de melhoramento genético artificial, portanto foram adaptadas às biointerações presentes nas agroecossistemas, contribuindo com a sustentabilidade e diversidade (Gomes *et al.*, 2019).

O cultivo do milho no Brasil abrange desde regiões mais quentes até as mais frias, com diferentes altitudes e latitudes, o que resulta em diversas potencialidades de produtividade. O sistema de cultivo brasileiro é dividido em primeira e segunda safra, o que apresenta característica distintiva em relação a outros países. No que diz respeito à produção, o milho ocupa a segunda posição nacional, ficando apenas atrás da soja (Artuzo *et al.*, 2022).

Dessa forma, o Brasil ocupa a posição de terceiro maior produtor mundial de milho, alcançando produção total de 115.223,1 mil toneladas, e área plantada de 21.661,2 mil hectares, com produtividade média de 5.319 kg por hectare. Durante a safra 2021/2022, observou-se aumento significativo na produção de milho, com incremento de 32,3% em relação à safra anterior. Além disso, a área plantada registrou aumento de 8,6% (CONAB, 2022).

2.2. Valor nutricional na alimentação

Por volta de oito mil anos, o milho é cultivado em diversas regiões do mundo devido à sua adaptabilidade que está representada por vários genótipos. Ele pode ser encontrado tanto em climas tropicais quanto em temperados. Tem como principal finalidade a utilização em alimentação humana e animal, devido às suas elevadas qualidades nutricionais (Silva *et al.*, 2020).

Além disso, por ser uma cultura abrangente, pode ser destinado, também, às aplicações nos processos industriais, que transformam os grãos em vários produtos consumidos na dieta humana, como amido de milho, fubá, farinhas, assim como seu alto nível de inclusão nas dietas para atender as exigências energéticas dos animais (CONAB, 2022).

Devido ao alto teor de carboidratos e lipídios que possui, o milho é considerado um alimento energético para dieta humana e animal. É um cereal rico em lipídios insaturados, especialmente os ácidos graxos poli-insaturados da série ômega-6, e de ácidos graxos insaturados (Mittelmann *et al.*, 2006). Sua composição média em base seca é de 78% de amido, 12% de proteínas, 6% de lipídios, 4% de fibra e 4% de minerais (Oliveira *et al.*, 2016). Esse cereal tem grande variação na sua composição nutricional, a qual pode ser alterada por diversos fatores, como: posição do grão na espiga; localização das plantas na lavoura; solo; clima; processamento e armazenagem (Silva *et al.*, 2020).

Em relação às proteínas do milho, podem ser divididas em várias classes, sendo agrupadas de acordo com sua solubilidade. Existem diversas frações que podem ser encontradas, entre elas a α -zeína, considerada a de maior concentração, representando em torno de 50% e 60% do total de proteína no milho (Oliveira *et al.*, 2016). A produção de alimentos está direcionada ao uso de práticas de gestão e manejo do solo que levam em consideração as condições regionais e a adaptação de sistemas de produção. 2.3. Nutrição mineral e adubação da cultura do milho.

2.3 Nutrição mineral e adubação da cultura do milho

Existem diversos fatores que podem ser identificados como responsáveis pela baixa produtividade nas regiões tropicais. Um dos principais é a capacidade limitada dos solos em suprir as necessidades nutricionais das plantas, juntamente com práticas inadequadas de adubação nas culturas. Além de impactar negativamente na quantidade e qualidade da produção, a nutrição mineral também desempenha papel significativo no crescimento vegetal e na resistência a pragas e doenças (Rozane *et al.*, 2016).

Fatores como nutrição das plantas, o clima, o potencial genético e as pragas são os que

contribuem para a baixa produtividade do milho no Brasil. Dessa forma, a fertilidade do solo é considerada um dos principais fatores responsáveis pela baixa produtividade de áreas destinadas à produção de grãos e de forragem (Gomes, 2018). Esses fatores também estão relacionados aos baixos teores de nutrientes presentes nos solos e ao uso inadequado de adubações, principalmente de nitrogênio e potássio (Valderrama *et al.*, 2011).

O nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) são nutrientes essenciais que frequentemente apresentam deficiência nos solos por conta de sua alta demanda pelas plantas. Portanto, a aplicação desses nutrientes se torna método eficaz para melhorar o rendimento das culturas (Coelho *et al.*, 2012; Vittoet *et al.*, 2020). O nitrogênio é essencial no desenvolvimento vegetal, pois está presente nos aminoácidos, nas proteínas, nas vitaminas e na clorofila (Bertoncelli *et al.*, 2017).

O nitrogênio é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura do milho. Ele é importante para o metabolismo das plantas, é constituinte de moléculas de proteínas, coenzimas, ácidos nucleicos, citocromos, clorofila e outros, sendo o elemento necessário em maior quantidade pela planta (Scotta *et al.*, 2018).

O fósforo é um veículo de transferência de energia nas células e sua deficiência pode causar disfunções metabólicas, danificando ácidos nucleicos, proteínas, enzimas e outros componentes (Hoyos ; Fonseca, 2019). A qualidade de fósforo influencia significativamente na produção de grãos de milho. As doses normalmente recomendadas são altas, devido à baixa eficiência (20 a 30%) de aproveitamento decorrente da sua alta capacidade de adsorção do fósforo adicionado ao solo, reduzindo sua disponibilidade às plantas. Outro fator que deve ser levado em consideração é a demanda de fósforo pela acultura. Plantas de desenvolvimento intenso e de ciclos curtos, como o milho, requerem maior nível de fósforo em solução e reposição mais rápida que as plantas de cultura perenes (Bastos *et al.*, 2010).

O potássio é um ativador enzimático importante, participa da síntese de proteínas e do metabolismo oxidativo, além de ser responsável pela manutenção de turgescência celular (Çikili e Samet, 2016). É o segundo elemento mais absorvido pela planta, com grande impacto na qualidade da cultura, tendo influência positiva na massa individual dos grãos por espiga. A insuficiência de adubo potássico pode levar ao esgotamento das reservas do solo e o excesso pode intensificar as perdas por lixiviação, mesmo em solos com média e alta capacidade de troca catiônica (Valderrama *et al.*, 2011).

2.4. Solubilização de fosfato

Biomoléculas de ATP e DNA são constituídas por fósforo, o qual é um elemento fundamental para todas as formas de vida. Esse macronutriente essencial é necessário em altas quantidades para a nutrição. Plantas com boa quantidade do nutriente apresentam aumento nas taxas fotossintéticas, melhora na fixação de nitrogênio, estimulação da floração e frutificação (Souchie *et al.*, 2005).

Em solos tropicais, o fósforo apresenta baixa disponibilidade, dessa forma são necessárias grandes doses de adubos fosfatados para que as culturas obtenham a produtividade esperada, sendo comum o uso de fertilizantes de baixa solubilidade, para reduzir o custo de implantação de lavouras perenes (Souchie *et al.*, 2007). A precipitação e a fixação de P são os principais responsáveis pela baixa eficiência dos fertilizantes; cerca de 80% do fertilizante pode ser complexado com íons de ferro, alumínio e cálcio presentes no solo, diminuindo sua absorção pelo sistema radicular (Novais *et al.*, 2007).

Dessa forma, propõem-se como alternativa para substituir e/ou reduzir o uso de fertilizantes químicos, a utilização de microrganismos com capacidade de solubilizar o P inorgânico e mineralizar o P orgânico. (Oliveira *et al.*, 2012). A busca por compreender a atuação dos microrganismos sobre o aproveitamento de fósforo se justifica pela baixa disponibilidade do micronutriente através da adubação convencional (Silva Filho e Vidor, 2001).

A literatura relata que muitas espécies de bactérias, fungos, leveduras e actinobactérias são capazes de solubilizar fósforo a partir de fontes biodisponíveis e desempenham papel fundamental no ciclo biogeoquímico desse elemento (Whitelaw *et al.*, 1999). Vale enfatizar que a disponibilização de fósforo no solo por microrganismos é variada e está relacionada com a liberação de ácidos orgânicos, como acetato, succinato, citrato e gluconato, liberação de cátions H⁺, conseqüente redução de pH do solo Villegas e Fortin (2002), produção de exopolissacarídeos e sideróforos, compostos com alta afinidade por ferro (YI *et al.*, 2008), além da ação de enzimas fosfatases e fitases (Ogbo, 2010; Vassileva *et al.*, 2010, Greiner, 2006). Dentre os gêneros de fungo e bactéria que desempenham essa função estão Burkholderia, Bacillus, Enterobacter, Pseudomonas, Serratia, Rhizobium, Penicillium e Aspergillus (Greiner, 2012). Estudos também relataram que fungos do gênero Metarhizium e Trichoderma têm potencial para a solubilização de fosfato (Kapri & Tewari, 2010; Zaidi, 2009).

2.5. Produção de ácido indolacético- AIA

Os hormônios são mensageiros químicos, produzidos em uma célula, que modulam os processos celulares em outra célula, interagindo com proteínas específicas que funcionam como receptores ligados a rotas de transdução de sinal. A maioria dos hormônios é sintetizada em um tecido e age sobre sítios-alvo específicos em outro tecido; são chamados endócrinos, quando transportados para sítios de ação em tecidos distantes do local de síntese, e parácrinos, quando agem em células adjacentes ao local de síntese (Taiz & Zeiger, 2017).

O crescimento e o desenvolvimento das plantas são regulados por uma série de hormônios vegetais, cujas biossíntese e degradação produzem-se em resposta a uma complexa interação de fatores fisiológicos, metabólicos e ambientais (Martins, 2019).

Dentre os mecanismos que favorecem a promoção de crescimento de plantas, a síntese de fitohormônios, como por exemplo as auxinas, é uma das mais importantes. Em especial o ácido indol acético (AIA), fitohormônio mais estudado, capaz de promover crescimento da parte aérea da planta, das raízes e aumentar a quantidade de pelos radiculares, consequentemente, aumentando a absorção de água e nutrientes do solo, de forma que a planta se desenvolve melhor (Caballero-Mellado, 2006), podendo, também, estar ligado ao desenvolvimento de frutos, diferenciação de tecidos e regulação gênica (Navarro *et al.*, 2006). O AIA é a principal auxina de ocorrência natural, além de regular processos fisiológicos em baixas concentrações (Taiz & Zeiger, 2017).

Os tecidos radiculares são especialmente sensíveis a flutuações da concentração de AIA e o desenvolvimento do sistema radicular pode ser profundamente afetado por fontes exógenas deste hormônio vegetal (Tanimoto, 2005). As plantas respondem com o alongamento das raízes primárias, formação de raízes laterais e adventícias, estimuladas em baixas concentrações do hormônio, geralmente de 10^{-9} a 10^{-12} M, verificada a inibição do crescimento em concentrações mais elevadas, acima de 10^{-6} M. patten e glick (2002).

O AIA pode ser sintetizado e secretado por microrganismos endofíticos a partir do Triptofano, que é utilizado como precursor fisiológico para a biossíntese de auxina (Khalid *et al.*, 2004; Costa, 2012). A síntese de AIA já foi relatada em vários gêneros de bactéria como *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Pantoea*, *Streptomyces* e *Bacillus* (PAL *et al.*, 2001; Naveed *et al.*, 2015; Imada *et al.*, 2017; Marag e Suman, 2018). A produção de AIA em fungos também tem sido relatada, demonstrando a capacidade dos fungos em sintetizar AIA na rizosfera da planta, proporcionando desenvolvimento radicular (Carvalho Filho, 2008).

2.6. Produção de sideróforos

O ferro é um micronutriente essencial às plantas, obtido através do solo, que compõe enzimas envolvidas em reações de transporte de elétrons, constituição dos citocromos, e ferroproteínas, como as ferredoxinas e fitoferritinas envolvidas na fixação biológica de nitrogênio, respiração, fotossíntese, essas que participam de alguns complexos clorofila-proteína (Taiz & Zeiger, 2017).

Dessa forma, sideróforos são metabólitos secundários de baixo peso molecular com potencial quelante de ferro. São compostos formados por pequenas moléculas peptídicas com cadeias laterais e grupos funcionais que possuem alta afinidade e se ligam a íons de ferro, transportando-os através da membrana celular (Ghosh, 2017).

As plantas absorvem o ferro preferencialmente na forma de Fe^{2+} , que se encontra pouco disponível, pois em ambientes neutros, o ferro sofre rápida oxidação, passando para a forma férrica Fe^{3+} Krewulak e Vogel (2008). Em solos ácidos, o Fe^{3+} é facilmente adsorvido em ácidos húmicos ou colóides orgânicos, formas insolúveis e indisponíveis para as plantas (Novais *et al.*, 2007). Embora as plantas fitosideróforas tenham capacidade de elevar a biodisponibilidade do ferro no solo pela produção de sideróforos e redução do pH da rizosfera, frequentemente essa capacidade é insuficiente para atender às suas demandas, principalmente em solos alcalinos, que favorecem ainda mais sua precipitação (Zuo & Zhang, 2011; Radzki *et al.*, 2013).

2.7. Fungos entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos desempenham papel significativo como causadores de doenças em artrópodes, sendo responsáveis por cerca de 80% dos casos. Essa categoria de microrganismos abrange mais de 100 gêneros e possui mais de 700 espécies descritas (Mascarin e Pauli, 2015). A identificação dos fungos entomopatogênicos presentes nos solos de campos agrícolas é fundamental para o reconhecimento dos nichos ecológicos desses fungos em um agroecossistema, bem como para avaliar o potencial deles como agentes de controle biológico (Meyling *et al.*, 2011).

Os fungos entomopatogênicos possuem características específicas que podem interferir na eficácia do controle químico. Eles são facilmente manipuláveis e capazes de estabelecer presença duradoura no solo, devido à capacidade de renovar o inóculo em insetos mortos e se adaptar a diferentes ambientes. Dessa forma, esses fungos não induzem o desenvolvimento de resistência e são eficazes no controle de pragas, por conta da sua capacidade de penetrar diretamente no tegumento do inseto. Há, também, tecnologias disponíveis para a produção e

aplicação desses fungos, semelhantes às utilizadas para inseticidas químicos (Garcia *et al.*, 2010).

Esses microrganismos são estudados por serem fontes de enzimas com bioatividade contra diversas pragas. Algumas destas enzimas são a quitinase, celulase, proteases e a lipases, as quais degradam a parede celular das pragas (Batista *et al.*, 2011).

No cenário brasileiro, os fungos entomopatogênicos desempenham papel fundamental neste mercado. Cerca de 50% dos biopesticidas microbianos registrados são compostos por micoinseticidas e/ou micoacaricidas, que consistem em fungos hipocreanos. Entre esses, as espécies *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* são as mais utilizadas (Mascarin *et al.*, 2019).

Além das pesquisas sobre o controle biológico de pragas, os fungos entomopatogênicos foram relatados como bioestimulantes de plantas. Portanto, os fungos podem trazer benefícios por meio de mecanismos diretos ou indiretos, que incluem a solubilização de minerais, a síntese de fitohormônios, a produção de compostos orgânicos voláteis, a exploração de enzimas microbianas, o aumento da absorção de nutrientes, a melhoria de estresses abióticos e a supressão de fitopatógenos prejudiciais (Motaher Hossain e Sultana, 2020).

Assim, a aplicação de fungos entomopatogênicos em várias culturas agrícolas pode ser alternativa viável quando combinada com inseticidas químicos. Essa combinação mostrou-se altamente eficaz na redução de populações de insetos- pragas. No entanto, é importante considerar as seguintes características: o uso da formulação e do agente patogênico corretos, a presença de hospedeiros suscetíveis, as condições ambientais favoráveis e um cronograma compatível com outras práticas agrícolas (Borges e Nova, 2011).

2.7.1 *Metarhizium anisopliae*

Este organismo pode ser encontrado em uma ampla variedade de ambientes, desde regiões tropicais até temperadas. Ele pode ser isolado no solo, na rizosfera de plantas ou, até mesmo, atuando como seprófita em cadáveres de artrópodes. Além disso, ele pode parasitar insetos e carrapatos (BISCHOFF *et al.*, 2009). Do ponto de vista morfológico, esse organismo se manifesta como um fungo filamentosos com micélio hialino e septado. Ele produz conídios cilíndricos de cor verde, geralmente medindo de 3 a 18 µm de comprimento, que se desenvolvem em conidióforos também cilíndricos (Bischoff *et al.*, 2009).

É um dos gêneros de fungos entomopatogênicos mais amplamente pesquisados. As pesquisas nessa área são focadas em três principais aspectos. O primeiro é o estudo do processo infectivo, incluindo a análise bioquímica de enzimas relacionadas à patogenicidade e genes de

virulência. O segundo aspecto está relacionado à identificação dos fungos e à sua estrutura populacional, envolvendo estudos de genotipagem de isolados e a correlação entre diferentes genótipos, hospedeiros, habitats e regiões. Por fim, a terceira área de estudo concentra-se na utilização desses fungos como agentes de controle biológico (Bidochika e Small, 2005).

A atuação desse organismo no ambiente possui uma relevância ecológica significativa, uma vez que é amplamente encontrado no solo e estabelece uma associação simbiótica com diversas espécies vegetais. Essa interação ocorre quando o *Metarhizium* sp infecta e elimina um inseto presente no solo, possibilitando que o nitrogênio proveniente desse inseto seja transportado para a planta por meio de seu micélio, que se encontra associado às raízes (Behie *et al.*, 2012).

2.7.2 *Beauveria bassiana*

O fungo do gênero *Beauveria bassiana* (Ascomycota; Hypocreales, Cordicipitaceae) possui distribuição global, sendo encontrado naturalmente em insetos e no solo. Ele é reconhecido pela habilidade em infectar uma ampla variedade de artrópodes que são considerados pragas (Fernandes *et al.*, 2009; Ianza *et al.*, 2009).

Sua morfologia é facilmente identificada pela presença de hifas septadas, com diâmetro de 2,5-25 μm . Essas hifas formam conidióforos simples, geralmente não agrupados, com aparência mais larga no centro do que nas extremidades. Esses conidióforos sustentam os conídios, que se originam de uma disposição simpodial ou acrópeta (Carrillo, 2005).

A espécie *Beauveria bassiana* é um fungo presente naturalmente nos solos brasileiros, e demonstra a capacidade de infectar insetos, tornando-se opção viável como inseticida microbiológico no controle de diversas pragas, como a broca-do-café, o moleque-da-bananeira, o gorgulho do eucalipto, o bicudo da cana-de-açúcar, percevejos, mosca branca, ácaros, cochonilha, cupins, pulgão, vaquinhas e outros. Além disso, há também uma tentativa de utilizá-lo no manejo integrado da lagarta do cartucho e da cigarrinha-do-milho, bem como de outras espécies de insetos praga no cultivo de milho. (Islam e Datta, 2015).

2.8. Microrganismo promotores de crescimento

Os estudos recentes destacam que a região Amazônica além de conter uma grande diversidade de plantas, insetos e animais, também pode ser uma fonte promissora de microrganismos benéficos às espécies agrícolas (Ferrarezi *et al.*, 2022).

Os microrganismos desempenham papel importante nos mecanismos que promovem o crescimento das plantas e a solubilização de nutrientes que estão inicialmente disponíveis no

solo. Esses processos são induzidos por macronutrientes, como o fósforo e o potássio, os quais são documentados na literatura como contribuintes diretos para a nutrição e um ótimo desenvolvimento da planta (Rodríguez e Fraga, 1999; Meena *et al.*, 2014).

Os microrganismos promotores de crescimento, tais como determinado de gêneros de fungos e bactérias, destacam-se como tecnologia promissora capaz de trazer vantagens significativas para a agricultura, contribuindo para a otimização da produção agrícola e, ao mesmo tempo, reduzindo os custos de produção e minimizando os impactos negativos ao meio ambiente (Glick, 2013).

A influência dos microrganismos no desenvolvimento das plantas é abrangente quando se trata da variedade de efeitos benéficos, incluindo a melhoria na germinação de sementes, emergência de plântulas, crescimento e produtividade das culturas. A utilização de promotores de crescimento para o desenvolvimento de plantas, tornou-se uma das principais táticas na atualidade, devido à demanda crescente pela redução da dependência de fertilizantes minerais e à necessidade de desenvolver agricultura mais sustentável e moderna, sem impactos negativos ao meio ambiente (Chagas *et al.*, 2017).

A rizosfera apresenta ambiente complexo e dinâmico, no qual as raízes desempenham papel essencial através da liberação de vários compostos, entre eles: carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas, vitaminas e outros compostos. Essa exsudação tem como objetivo atrair organismos benéficos que desempenham papel fundamental na disponibilidade de nutrientes e na biossíntese de compostos relacionados ao crescimento das plantas (Godua *et al.*, 2018).

O fósforo é um macronutriente essencial no desenvolvimento das plantas, atuando nos processos fisiológicos e metabólicos, com influência significativa no desenvolvimento meristemático, no crescimento inicial das raízes e na maturação das plantas. A solubilização do fósforo no solo ocorre por meio da redução do pH, que é promovida pela atividade microbiana e pela mineralização de ácidos orgânicos (Sharma *et al.*, 2011).

Os hormônios são compostos que possuem a capacidade de modificar o metabolismo das plantas mesmo em baixas concentrações. Contudo, são produzidos em diferentes partes das plantas e desempenham diversas funções, incluindo o controle do crescimento vegetal e a regulação de produção de frutos. Cada resposta fisiológica da planta é resultado da interação de diferentes fitohormônios. Os principais são: auxina, giberelina, citocinina, etileno e ácido abscísico (Saharan e Nehra, 2011).

A produção de hormônios nas plantas desencadeia uma série de modificações fisiológicas, como a capacidade de enraizamento, crescimento apical, germinação de sementes,

amadurecimento, entre outros processos. No entanto, as interações hormonais específicas que ocorrem dentro da planta ainda não estão expressamente detalhadas, o que limita sua aplicabilidade direta no campo (Taiz & Zeiger, 2013).

2.8.1 *Trichoderma asperellu*

Pertencentes à classe Ascomycota e à ordem Hypocreales, o gênero *Trichoderma asperellum* é composto por um grupo de fungo filamentosos (Tyśkiewicz et al., 2022). São amplamente distribuídos na natureza e podem ser encontrados em uma variedade de habitat (Schuster; Schmoll, 2010; Tyśkiewicz et al., 2022). São organismos de vida livre, classificados na sub-divisão Deuteromycotina. São importantes nas culturas agrícolas e reconhecidos como agentes de biocontrole e biofertilizantes que têm sido extensivamente estudados em todo o mundo (Monte et al., 2019). São colonizadores da rizosfera das plantas e são capazes de estabelecer uma relação que beneficia as raízes, promovendo o crescimento vegetal (Zin; Badaluddin, 2020).

Uma possível funcionalidade adicional desse gênero é a capacidade de promover o crescimento de certas espécies vegetais. Essa afirmativa é abrangente e inúmeros estudos relatam essa característica, examinando diversos mecanismos que impulsionam o crescimento das plantas (Chagas et al., 2017).

As plantas apresentam várias maneiras de expressar o crescimento. Entre os mecanismos identificados estão o estímulo ao crescimento da parte aérea, a produção de fitohormônios e metabólitos, a melhora na absorção e solubilização de nutrientes, a formação de uma superfície hidrofóbica e o desenvolvimento de pelos absorventes nas raízes laterais, o que resulta em aumento na área de absorção (Mascarin et al., 2019).

Os benefícios do *Trichoderma* na melhoria dos rendimentos das culturas têm impulsionado a disseminação de formulações comerciais que optam por essa abordagem de registro mais flexível e econômico, aproveitando as propriedades do *Trichoderma* como bioinoculante, agente fortificante das plantas ou condicionador. Isso contribui para o aumento da eficiência e sustentabilidade agrícola (Woo e Pepe, 2018).

A espécie *Trichoderma* é um fungo com característica de vida livre, amplamente distribuído pelo mundo e pode ser encontrado em diversos tipos de solos. Possui grande importância na decomposição da matéria orgânica presente nos solos Amazônicos. A diversidade de espécie dentro do gênero *Trichoderma* spp., advém da capacidade de potencializar seu uso em diferentes finalidades, como a promoção de crescimento de plantas e controle de praga (Sarma et al., 2014).

Muitos estudos mostram que certas espécies de *Trichoderma* são capazes de atuar como biocontroladores de doenças, no entanto, em pesquisas recentes, elas têm-se mostrado voltadas para a promoção de crescimento das plantas, induzindo a produção de fitohormônios que podem estimular o crescimento radicular e a solubilização de nutrientes (Zhao e Zhang, 2015).

Contudo, esse microrganismo vai além do seu papel como agente de controle biológico de doenças, entre elas, destaca-se a produção de enzimas industriais. Além disso, é essencial na agricultura, contribuindo para o aumento da eficiência na utilização de nitrogênio, estimulando o desenvolvimento das plantas e, conseqüentemente, elevando a produtividade, além de atenuar os impactos por estresse salino (Meyer, 2019).

2.9. Trocas gasosas

As avaliações de trocas gasosas são realizadas através o IRGA (Infrared Gas Analyzer). Para que haja a determinação de um grau de adaptação, é importante compreender os mecanismos fisiológicos que permeiam o metabolismo das plantas. Informações como a taxa fotossintética, transpiração, condutância estomática e concentração de carbono intercelular, constituem algumas das variáveis que podem oferecer indícios sobre o nível de adaptação de uma planta a um ambiente específico. Contudo, a avaliação desses mecanismos e da regulação das trocas gasosas tornam-se desafiadoras devido às variações naturais inerentes (Veríssimo *et al.* 2010; Ferreira *et al.* 2011).

Dada a importância da fotossíntese como um processo natural responsável por captar a energia solar e convertê-la em energia química utilizável por outros organismos vivos, pode-se afirmar que ela representa um dos processos mais cruciais e fundamentais para a sustentação da vida no planeta (Pavlovic, 2012)

As restrições à fotossíntese podem surgir de várias maneiras, como questões difusivas que abrangem a abertura dos estômatos e a condutância mesofílica, que controla a disponibilidade de CO₂ para enzima ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco). Senso assim, essas limitações podem ser desencadeadas por processos fotoquímicos, que envolvem a absorção de luz, e processos bioquímicos, relacionados a outras enzimas do ciclo de Calvin (Sharkey *et al.*, 2007).

As trocas gasosas representam uma ferramenta crucial para monitorar o estado fisiológico da planta, a partir de métodos que analisam ao mesmo tempo trocas gasosas entre as plantas e a atmosfera, juntamente com a fluorescência da clorofila. As plantas submetidas a diferentes tipos de estresse exibem taxas distintas de CO₂ (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática (gs, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), entre

outras variáveis, o que as diferencia de plantas em condições não estressantes.

Diversos equipamentos estão disponíveis no mercado para realizar análises de trocas gasosas em plantas. Esses sistemas são abertos, portáteis e oferecem opções para o controle de umidade, temperatura, luz e CO₂. Alguns exemplos incluem o LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, EUA), GFS-3000 (WALZ, Effeltrich, Alemanha), LCpro-SD e LCi-SD (ADC Bioscientific, Hoddesdon, Inglaterra) e CIRAS-3 (PP Systems, Amesbury, EUA). Em geral, esses dispositivos são conhecidos gases por infravermelho ou irga. (Infrared gas analyzer) (Long; Bernacchi, 2003).

REFERÊNCIAS

- APPEZZATO DA GLORIA, B.; HAYASHI, A. H. Raiz In: APPEZZATO DA GLORIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. C. **Anatomia Vegetal**. 3^o edição. Ed UFV. Viçosa- MG. 2013. 404p.
- ARAÚJO, L.A.N; FERREIRA, M.E; CRUZ, M.C.P; Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p.771-777, 2004.
- ARTUZO, F. P; FOGUESATTO, C. R; MACHADO, J. A. D; OLIVEIRA, L; SOUZA, Â. R. L. O potencial produtivo brasileiro: uma análise histórica da produção de milho. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, Maringá**, v. 12, p. 515-540, 2022. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2019v12n2p515-540>.
- BEHIE, S. W; PADILLA-GUERRERO, E; BIDOCHKA, M. J. Nutrient transfer to plants by phylogenetically diverse fungi suggests convergent evolutionary strategies in rhizospheric symbionts. **Communicative & Integrative Biology**, v. 6, 2013 <https://doi.org/10.4161/cib.22321>.
- BETTIOL, W.; DA SILVA, J. C.; DE CASTRO PLUBIO, M, L, M.; **Trichoderma uso na Agricultura**, DF-Brailia, 2019. Capítulo 1. 538 p
- BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, p. 3-5, 1991.
- BISCHOFF, J. F.; REHNER, S. A.; HUMBER, R. A. A. Multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. **Mycologia**, v. 101, n. 4, p. 512 – 530, 2009. <https://DOI: 10.3852/07-202>.
- BORGES, L. R; NOVA, M. X. V. Associação de inseticidas químicos e fungos entomopatogênicos no Manejo Integrado de Pragas – uma revisão. **Ambiência**, v. 7, n. 1, p.179-190, 2011.
- CABALLERO-MELLADO, J. Microbiologia agrícola y interacciones microbianas com plantas. **Revista Latino-americana de Microbiologia**, México, v. 48, n. 2, p. 154-161, 2006.
- CARPENTIERI-PÍPOLO, V; SOUZA, A. de; SILVA, D. A. da; BARRETO, T. P; GARBUGLIO, D. D; FERREIRA, J. M. Avaliação de cultivares de milho crioulo em sistema

de baixo nível tecnológico. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, 32: 229-233. 2010
Doi:<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i2.430>

CARRILLO, L.; Los hogos de lós alimentos y forrajes: Estructuras. Universidade Nacional de Salta. 2005. **Faculdade de Ciências Agrária**. Disponível em: Acesso em: 01 de junho de 2023.
CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal**: Estrutura e função de órgão vegetativos. Editora: UFLA. 1º Ed. 2009. 234p.

CARVALHO FILHO, M. R. Trichoderma spp. como agentes de biocontrole de *Cylindrocladium scoparium* e como promotores de crescimento de mudas de eucalipto. Brasília: Universidade de Brasília, 2008. 74p. **Dissertação** Mestrado.

CHAGAS, A. F. J.; SOARES, P. L; FIDELIS, R. R; CHAGAS, L. F. B. I. Trichoderma na promoção do crescimento vegetal. Revista de Agricultura Neotropical, v. 4, n. 3, p. 97–102, 2017. DOI:10.32404/rean.v4i3.1529.

CONAB. A produtividade do milho: análise e perspectivas. (Compendio de estudos Conab, v. 9, n. 9). Brasília, DF, jun. 2022 Disponível em: <https://www.conab.gov.br/infoagro/safras/graos/boletimdasafraograos/item/download/4283>.

COSTA, J. L da. **Seleção de fungos endofíticos produtores de ácido indol acético (AIA) para formulação de inoculantes**. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia de bioprocessos), 67.p. UFPR, Curitiba, 2012.

CRUZ, J. C; MAGALHÃES, P. C; PEREIRA FILHO, I. A; MOREIRA, J. A. A. Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2011.

COELHO, A. M; FRANCA, G. E de; PITTA, G. V. E; ALVES, V. M. C; HERNANI, L.C. (2012). **Fertilidade dos solos: nutrição e adubaçãodo milho**. In: Cruz, J. C. Cultivo Do Milho (Sistema De Produção, 1). 8 Ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho E Sorgo, 2012.

DUARTE, J. O; MATTOSO, M. J; GARCIA, J. C. Importância socioeconômica. **Agência Embrapa de Informação Tecnológica**, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-informacaotecnologica/cultivos/milho/preproducao/socioeconomia/importanciasocioeconomica>. Acesso em: 31 maio,2023.

EICHOLZ, E. D; PEREIRA, L. R; M, L; EICHOLZ, M. Produtividade de variedades de milho de polinização aberta no RS. **Anais do Congresso Nacional de Milho e Sorgo: Milho e Sorgo as inovações mercados e segurança Alimentar**, Bento Gonçalves, Brasil, 17. 2016 Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/149417/1/Eberson-1310.pdf>
ESAU, K. **Anatomia vegetal**. Ed: Omega. 1959. 729p.

FERNANDES, E. K. K; MORAES, Á. M. L; PACHECO, R. S; RANGELL, D. E. N; MILLER, M. P.; BITTENCOURT, V. R. E. P; ROBERTS, D. W. Genetc diversity among brasilian isolates of *Beauveria bassiana*. Comparisons with non – brasilian isolates and other Beauveria species. **Journal of applied Microbiology**, v. 107, n. 3, p. 760–74, 2009. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000242014>

- GARCIA, C; GONZÁLEZ, M; BERENICE, M. Uso de bioinsecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales. **Ra Ximhai**, v. 6, n.1, p.17- 22, 2010.
- GHOSH, S. K; BANERJEE, S; SENGUPTA. C.; Bioassay, characterization and estimation of siderophores from some important antagonistic fungi. **JBiopest** 10(2):105-112, 2017.
- GLICK. R. B; Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica (Cairo)**, p. 1–15, 2012. [https:// DOI: 10.6064/2012/963401](https://doi.org/10.6064/2012/963401).
- GOMES, F. S; SANTOS, R. A; MAGALHÃES, D. B; BEBE, F. . Características de crescimento e desenvolvimento do milho crioulo com diferentes adubações orgânicas. *Agrarian sciences journal* v. 11, p. 01-08, 2019. <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2019.15949>.
- GOUDA, S; KERRY, R. G. G; PARAMITHIOTIS, S; SHIN, H; PATRA, J. K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological Research**, v. 206, p. 131-140, 2018. [https://doi.org/DOI: 10.1016/j.micres.2017.08.016](https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.016).
- GREINER, R. Phytate-degrading enzymes: regulation of synthesis in microorganisms and plants. In: TURNER, B. L.; RICHARDSON, A. E.; MULLANEY, E. J. (Ed.). **Inositol phosphates: linking agriculture and environment**. London: CAB International, 2006. p. 78-96.
- HARTHMANN, O. E. L; MOGÓR, A. F.; FILHO, J. A. W; LUZ, W. C. Rizobactérias no crescimento e na produtividade da cebola. **Ciência Rural**. Santa Maria-RS. 2010.
- IMADA, E. L; SANTOS, A. A, P. de, R. S. dos; OLIVEIRA, HUNGRIA, M; RODRIGUES, E. P. Indole-3-acetic acid production via the indole-3-pyruvate pathway by plant growth promoter *Rhizobium tropici* CIAT 899 is strongly inhibited by ammonium. **Research in Microbiology**, v. 168, n. 3, p. 283-292, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.10.010>
- ISLAM, R; DATTA, B. Diversity of chitinases and their industrial potential. **International Journal of Applied Research**, v. 1, p. 55-60, 2015.
- KAPRI, A; TEWARI, L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. **Brazilian Journal of Microbiology**, 41(3):787-795, 2010. doi: 10.1590/S1517-83822010005000031.
- KHALID, A; ARSHA, M; ZAHIR, Z. A. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v. 96, n. 3, p. 473-480, 2004. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2003.02161.x.
- KREWULAK K. D, VOGEL H. J. Biologia estrutural da absorção bacteriana de ferro. **Biochim Biophys Acta** Biomembr1778(9):1781–1804. 2008. [https://doi.org/ 10.1016/j.bbamem.2007.07.026](https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.07.026).
- LANZA, L. M; MONTEIRO, A. C; MALHEIROS, E. B. Sensibilidade de *Metarhizium anisopliae* à temperatura e umidade em três tipos de solos. **Ciência Rural**, v. 39, p. 6-12, 2009. [https://doi.org/ 10.1590/S0103-84782009000100002](https://doi.org/10.1590/S0103-84782009000100002).

MARAG, P. S.; SUMAN, A. Growth stage and tissue specific colonization of endophytic bacteria having plant growth promoting traits in hybrid and composite maize (*Zea mays* L.). **Microbiological Research**, v. 214, n. May, p. 101-113, 2018.

DOI: 10.1016/j.micres.2018.05.016.

MARTINS, I.A. **Lactofen e citocinina na produtividade de grãos em soja**. Dissertação (Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia). 44p. Universidade Federal de Lavras, MG, 2019.

MASCARIN, G. M; PAULI, G. Bioprodutos à base de fungos entomopatogênicos. **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Viçosa: UR EPAMIG ZM, v.4, .169-195, 2015.

MASCARIN G. M.; LOPES, R. B.; DELALIBERA, I. Jr; FERNANDES, É. K. K. LUZ, C; FARIA, M; Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 165, p. 46-53, 2019. DOI: 10.1016/j.jip.2018.01.001.

MEENA, V. S; MAURYA, B. R; VERMA, J. P. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils. **Microbiological Research**, v. 169, p. 337-347, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.003>.

MEYLING, N.V; THORUP-KRISTENSEN, K; EILENBERG, J. Below- and aboveground abundance and distribution of fungal entomopathogens in experimental conventional and organic cropping systems. **Biological Control**. v. 59, p. 180–186, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.07.017>.

MITTELMANN, A; FILHO, J.B.M.; LIMA, G.J.M.M.; Hara-Klein, C.; SILVA, R.M.; TANAKA, R.T. Análise dialéctica do teor de óleo em milho. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n. 2, p. 139-143, 2006.

MONTE, B. H; BETTIOL, E; HERMOSA, R. Trichoderma e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. *In*: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (Eds.). **Trichoderma: Uso na Agricultura**. Brasília, DF: Embrapa. p. 181-199, 2019.

MORAES, R. F. O; TOSCANO, L. C.; PEREIRA, M. F. A.; PIETROBOM, V.L.; BARBOZA, C. A. M. S.; MARUYAMA, I. *Beauveria bassiana* em associação com milho geneticamente modificado no manejo de *Spodoptera frugiperda* e *Rhopalosiphum maidis*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 1-7, 2015. <https://doi.org/10.1590/1808-1657001052013>.

MOTAHAR HOSSAIN, M. D; SULTANA, F. Application and Mechanisms of Plant Growth Promoting Fungi (PGPF) for Phytostimulation. Em S. Kumar Das (Ed.), **Organic Agriculture**. Intech Open, 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.92338>.

NAVARRO, L. *et al.* A Plant miRNA Contributes to. **Science**, v. 312, p. 436-439, 2006. NOVAIS, R. F; ALVAREZ, V. V. H; BARROS, N. F; FONTES, R. L. F; CANTARUTTI, R. B; NEVES, J. C. L. (Ed.). Fertilidade do solo. Viçosa, MG: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 2007.1017p.

NAVEED, M; QURESHI, M. A; ZAHIR, Z. A.; HUSSAIN, M. B; SESSITSCH, A; MITTER, B. L. Tryptophan-dependent biosynthesis of indole-3-acetic acid (IAA) improves plant growth and colonization of maize by Burkholderia phytofirmans PsJN. **Annals of Microbiology**, v. 65,

p. 1381-1389, 2015. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0976-y>.

OGBO, F. C. Conversion of cassava wastes for biofertilizer production using phosphate solubilizing fungi. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 4120-4124, 2010. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.12.057.

OLIVEIRA, J. L; LIMA, A. C; MININI, D; SILVA, E. (2018). Usos, efeitos e potencial tóxico dos agrotóxicos na qualidade do solo. **Revista Agrarian Academy** -Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.5, n.9; p. 454, 2018.

OLIVEIRA, A. G; CHAGAS, A. F; SANTOS, G. R dos; MILLER, L. O; CHAGAS, L. F. B. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. Jul. 2012. DOI:10.18378/rvads.v7i3.1338

OLIVEIRA, E. P; SANTOS, W. F. S; SANTOS, L. F. S; MACIEL L.C; SILVA, R.M; VIEIRA, L.S. Teores de lipídeo e proteína em grãos de milho visando aplicação industrial. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**. Araraquara, v.37 Supl. 1, agosto, 2016.

PAL, K. K; TILAK, K. V; SAXCENA, A. K.; DEY, R.; SINGH, C. S. Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, Jena, v. 156, p. 209-223, 2001. DOI:10.1078/0944-5013-00103.

PATTEN, C. L; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 8, p. 3795-801, 2002. DOI: 10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002.

RADZKI, W; MAÑERO, F. G; ALGAR, E; GARCÍA, J. L; GARCÍA-VILLARACO, A; SOLANO, B. R. Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 104, p.321-330, 2013. DOI: 10.1007/s10482-013-9954-9.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 6ªed. 2001. 906p.
RODRÍGUEZ, H; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promoting. **Biotechnology Advances**, v. 17, p. 319-339, 1999. [https://doi.org/10.1016/s0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/s0734-9750(99)00014-2).

SAMOLSKI, I; RINCÓN, A. M; PINZÓN, L. M; VITERBO, A; MONTE, E. The *qid74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 129-138, 2012. <https://doi.org/10.1099/mic.0.053140-0>.

SANTOS, R. F; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Vol. 2, n. 3, p.287-294. 1998.

SARMA, B.; YADAV, S. K; PATEL, J. S; SINGH, H. B. Molecular mechanisms of interactions of *Trichoderma* with other fungal species. **The Open Mycology Journal**. v. 8, p. 140-147, 2014. DOI:10.2174/1874437001408010140.

SILVA, A.S.; OLIVEIRA, M.; MOURA, M.F.; SILVA, S.P. Efeito da Adubação Verde na

Qualidade Nutricional do Milho (*Zea mays* L.). **Revista GEAMA –Ciências Ambientais e Biotecnologia**, V.6 (1), p 31-37, 2020. <https://www.journals.ufrpe.br/index.php/geama/article/view/2808/482483406>

SILVA, B. D. S; S ULHOA, C. J; BATISTA, K. A; YAMASHITA, F; FERNANDES, K. F. Potential fungal inhibition by immobilized hydrolytic enzymes from *Trichoderma asperellum*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.59, p.8148-8154, 2011. <https://doi.org/10.1021/jf2009815>.

SHARMA, S; KUMAR, V.; TRIPATHI, R. B. Phosphate solubilizing microorganism (PSMs) from soil. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 1, n. 2, p. 90-95, 2011. SOUCHIE, E. L; AZCÓN, R; BAREA, J. M; SAGGIN-JÚNIOR, O. J; SILVA, E. M. R. da; Solubilização de fosfatos em meios sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. **Notas científicas, pesquisa agropecuária brasileira** 40, novembro, 2005. DOI:10.1590/S0100-204X2005001100015.

SOUCHIE, E. L; ABOUD, A. C. S. CAPRONI, A.L. 2007. Solubilização de fosfato in vitro por microrganismos rizosféricos de Guandu. **Bioscience Journal**, 23(2): 53-60. ST. LEGER, R. J; WANGB, C; FANG, W. New perspectives on insect pathogens. **Fungal Biology Reviews**, v. 25, p. 84-88, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2011.04.005>.

SCHUSTER, A; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of Trichoderma. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 87, p. 787-799, 2010. DOI <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2632-1>.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 918 p.

TANIMOTO, E. Regulation of root growth by plant hormones — roles for auxin and gibberellin. **Critical Reviews in Plant Sciences**, London, v.24, p.249–265, 2005. <https://doi.org/10.1080/07352680500196108>.

TYŚKIEWICZ, R; NOWAK, A; OZIMEK, E; JAROSZUK-ŚCISEL, J; Trichoderma: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 2329, 2022. DOI: 10.3390/ijms23042329.

VASSILEVA, M; SERRANO, M; BRAVO, V; JURADO, E; NIKOLAEV, I; MARTOS, V; VASSILEV, N. Multifunctional properties of phosphate-solubilizing microorganisms grown on agro-industrial wastes in fermentation and soil conditions. **Applied Microbiology Biotechnology**, Berlin, v. 85, p. 1287-1299, 2010. DOI:10.1007/s00253-009-2366-0

VILLEGAS, J; FORTIN, J. A. Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizae fungi on a medium containing NO₃ as nitrogen source. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 80, p. 571-576, 2002. DOI:10.1139/B01-069.

Vitto, D; Guimarães, V. F; Oliveira, P. S. R. de; Cecatto Júnior, R; Silva, A. S. L. da; Hoscheid, A. R. S. Produção e produtividade de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* fertilizado com cama de frango. **Nativa, pesquisas agrárias e ambientais** 10(4), 477-485, 2022 <https://doi.org/DOI:10.31413/nativa.v10i4.13141>

WHITELAW, M. A; HARDEN, T. J; HELYAR, K. R. Phosphate solubilisation culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.31, n. 5, p.655-665, May, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(98\)00130-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00130-8)

WOO, S. L; RUOCCO, M; VINALE, F; NIGRO, M; MARRA, R. LOMBARDI, N; PASCALE, A; LANZUISE, S; MANGANIELLO, G; LORITO, M. Tricho-derma-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014. <https://doi.org/10.2174/1874437001408010071>.

WOO, S. L.; PEPE, O. Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1801, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01801>

YI, Y; HUANG, W; GE, H. Exopolysaccharide: a novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 24, p. 1059-1065, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9575-4>

ZAIDI, A; KHAN, M. S; AHMAD, M; OVES, M; WANI, P. A. Recent advances in plant growth promotion by phosphate-solubilizing microbes. In: KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; MUSARRAT, J. (Ed.). **Microbial strategies for crop improvement**. Berlin: Springer-Verlag, 2009. p. 23-50. <https://doi.org/10.1007/978-3->.

ZUO, Y; ZHANG, F. Soil and crop management strategies to prevent iron deficiency in crops. **Plant and soil**, v. 339, n. 1-2, p. 83-95, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0566-0>

3. INTRODUÇÃO

O milho está no raking como a segunda cultura mais produzida no Brasil e, estima-se que na safra de 2022/2023 produziu-se cerca de 137 milhões de toneladas de grãos no Brasil (USDA, 2024). O maior produtor mundial desse grão, seguindo aos Estados Unidos e China (USDA, 2024).

Tornou-se a maior cultura agrícola do mundo, ultrapassando a marca de 1 bilhão de toneladas produzidas, reafirmando sua importância nos setores de alimentação humana e animal, além de ser matéria-prima para a produção de combustíveis, bebidas e polímeros (Contini, 2019). É uma cultura de grande importância, pois é utilizada na alimentação humana e animal, na indústria química, farmacêutica e de combustível (EMBRAPA, 2019, Miranda *et al.*, 2021).

O Brasil é o terceiro maior produtor e assumiu a posição de principal exportador global de milho em 2023, apresentando uma estimativa de 56 milhões de toneladas do grão durante a safra 2022/2023, segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). No estado do Pará, a produção chega a 1,12 milhões de toneladas (IBGE, 2022). O conhecimento das exigências nutricionais é essencial para garantir a boa produtividade da cultura e, dentre os nutrientes mais requeridos para o milho estão nitrogênio e potássio. No entanto, a extração de nutrientes como fósforo, cálcio e magnésio são tão importantes quanto a presença dos micronutrientes (boro, cloro, cobre, ferro, manganês, molibdênio, cobalto e zinco). O boro desempenha papel essencial aumentando a produtividade, o que demonstra a importância de todos os elementos nutricionais à planta, desde a fase vegetativa, de enchimento de grãos até a produtividade (Malavolta *et al.*, 1991).

Nesse sentido, ocorrências históricas, como a guerra da Ucrânia, deixam o país suscetível à deficiência na oferta do produto, aumentando significativamente seu preço no mercado interno; isso impacta diretamente nos custos de produção, tornando-se mais oneroso para o agricultor brasileiro (Caffagni, 2022).

Uma das estratégias para otimizar o uso de nutrientes e reduzir os custos com insumos químicos são os microrganismos promotores de crescimento de plantas. Fungos entomopatogênicos amplamente conhecidos por sua capacidade de atuar no controle biológico de diversas pragas, através da penetração pela cutícula do inseto e da liberação de toxinas dentro do corpo, levando a óbito, também promovem o crescimento das plantas (Valicente, 2009).

Recentemente, além da perspectiva do biocontrole, houve a intensificação da pesquisa e aplicação de microrganismos entomopatogênicos no processo de biofertilização. Esses fungos podem influenciar no crescimento vegetativo de diversas formas, não apenas causando a

mineralização de nutrientes de forma acessível à planta (Oliveira Mendes *et al.*, 2014) e a alteração dos parâmetros morfológicos e fisiológicos (alongamento celular que implicam na expansão das raízes e otimizam a absorção de elementos nutritivos) (Hermosa *et al.*, 2013), como também sintetizando fitormônios que ajudam na promoção de crescimento, como auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, ácido abscísico e outros (Jaroszuk-Scisel *et al.*, 2014).

Alguns estudos já registraram resultados positivos no uso de fungos como estimulantes do desenvolvimento vegetal. Meng *et al.* (2019), Salas-Marina *et al.* (2011) e Bae *et al.* (2009) identificaram atividades benéficas do *Trichoderma* no crescimento em culturas de pepino, arábida e cacau, na cultura do arroz (Nascente *et al.*, 2016) e na cultura do milho (López-Valenzuela *et al.*, 2019). O *Metarhizium anisopliae*, já foi relatado também como um microrganismo benéfico para o desenvolvimento da cultura da soja (Khan *et al.*, 2011), amendoim (Liu *et al.*, 2016), tomate (Elena *et al.*, 2011) e morango (Aphandi *et al.*, 2019).

O fungo *Beauveria bassiana* inoculado em sementes de feijão ocasionou resultados satisfatórios em relação ao crescimento das plantas, principalmente entre os períodos de 21 e 35 dias, quando diferiu das plantas controles (Canassa *et al.*, 2019). Na cultura do milho, Araújo *et al.*, (2023) mostrou resultados significativos na promoção de crescimento, também com inoculação nas sementes. *Beauveria bassiana* e *M. anisopliae* são fungos entomopatogênicos eficazes no controle de insetos-pragas e mostraram-se eficientes na promoção de crescimento de plantas de milho (*Z. mays* L.) em sistema hidropônico (yinmei liu, 2022).

É inegável a grande importância de encontrar alternativas eficientes e sustentáveis para assegurar o crescimento e produtividade vegetal. A hipótese é que os microrganismos utilizados nesta pesquisa possuem mecanismos específicos que interagem com metabolismo vegetal, promovendo o crescimento e o desenvolvimento das plantas de milho crioulo. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial dos microrganismos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Trichoderma asperellum*, associados a doses reduzidas de adubação, na promoção de crescimento de milho crioulo (*Z. mays* L.).

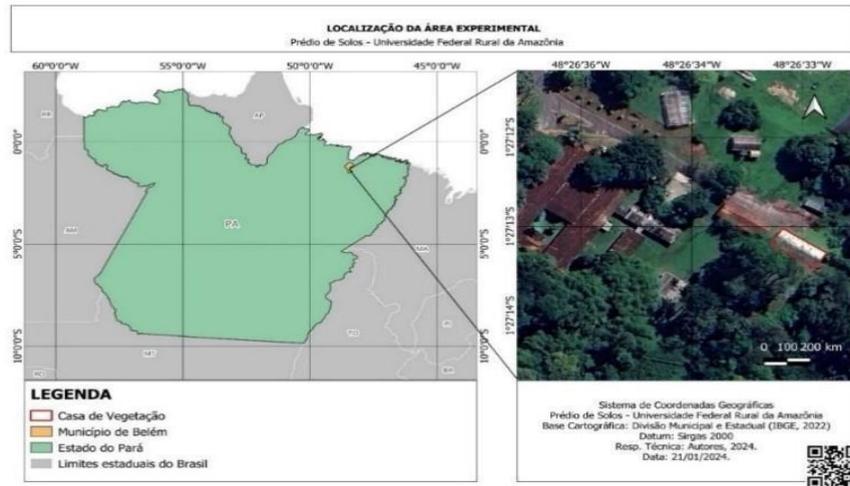
4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação (Figura 1), localizada no Instituto de Ciências Agrárias (ICA), na Universidade Federal Rural da Amazônia (Ufra), Campus Belém, Pará, Brasil (01°27'29" S, 48°26'06" W). O clima local foi classificado como tipo Af, conforme a classificação de Köppen-Geiger (1936), temperatura média anual de 26,4 °C e

umidade relativa de 84%, com precipitação média de 2.500 mm.

Figura 1. Localização da área de estudo. Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Brasil.



Fonte: Autor (2023).

4.2. Caracterização do experimento.

A amostra desolo utilizada no experimento foi coletada na área do ICA/Ufra, da camada superficial (0-20 cm) de um Latossolo amarelo distrófico, textura média, segundo o sistema brasileiro de classificação do solo (EMBRAPA, 2018). Após o processo de coleta, a amostra de solo foi peneirada e posteriormente seca em temperatura ambiente, sendo incubada por 30 dias, para correção da acidez elevada, conforme a análise de solo (Tabela 1), com calcário dolomítico (PRNT 92%), na concentração de 8,52 g por vaso. O método de correção adotado foi o de saturação por base, buscando-se saturação de 60%. Na etapa seguinte, a amostra de solo foi misturada com substrato orgânico na proporção 3:1, sendo o substrato orgânico composto de resíduos de podas urbanas e, hortaliças, adquirido através de feiras livres (CEASA) contendo também a introdução de cama aviária. O solo+substrato orgânico foram depositados em vasos com a capacidade de 5 dm³ e adicionados os fertilizantes: uréia como fonte nitrogenada, superfosfato simples como fonte de fósforo e cloreto de potássio como fonte de potássio, nas respectivas proporções: 0,16g/vaso, 0,5 g/vaso e 0,29g/vaso, de acordo com o Manual de Recomendações de Calagem e Adubação para o Estado do Pará (EMBRAPA, 2022).

Tabela 1 - Atributos químicos e físicos do Latossolo Amarelo ditrófico, utilizado para a cultura do milho crioulo (*Zea mays*. L) no vaso e em casa de vegetação no município de Belém/ PA.

Amostra	pH	P Meh ⁻¹	K ⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Al ⁺³	H+Al	MO
-	H ₂ O	mg.dm ⁻³	-	-	cmol/dm ⁻³	-	-	%
0-20	3,8	2,9	0,03	0,3	0,1	1,6	5,5	2,1

Fonte: autor (2023)

4.3 Microrganismos

Foram utilizados dois isolados fúngicos entomopatogênicos, *B. bassiana* e *M. anisopliae* e, um mix do promotor de crescimento *Trichoderma* (Figura 2) composto por quatro espécies de *Trichoderma asperellum* (Ufra.T06, Ufra.T09, Ufra.T12, Ufra.T52), identificadas por Ferrari *et al.* (2013) e obtidas em solos rizosféricos, de espécies nativas da Amazônia Brasileira. Os fungos encontram-se depositados na Micoteca Maria Duarte (CCMD), do Laboratório de Proteção de Plantas (LLP) da Ufra, armazenados em Castelanni, sob temperatura de 26°C.

4.4 Cultivo e produção massal dos isolados fúngicos.

Os isolados fúngicos foram preparados a partir de discos armazenados em Castelani, depositados em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). Após crescimento, os fragmentos de conídios e aglomerados de hifas foram colhidos com o auxílio de espátula e suspensos em água destilada autoclavada, em seguida, centrifugados a 3.000 RPM (rotação por minuto) para a concentração de fragmentos de hifas e conídios. Para cada isolado preparou-se uma suspensão de 300 ml a qual foi aplicada em arroz parboilizado, previamente autoclavado a 220°C, por 20 minutos, umedecido, com 150 mL de água destilada e esterilizada. A produção foi em caixas plásticas hermeticamente fechadas por uma semana (Rêgo *et al.*, 2014). Posteriormente, foi quantificada a concentração dos conídios produzidos, com auxílio de câmara de Neubauer, ajustando-se a suspensão para 10⁸ conídios mL⁻¹ (Alfenas, Acelino Couto.; Mafia, 2016).

4.5 Plantio

O semeio do milho foi em vasos com capacidade de 5 dm³, sendo quatro sementes/vaso, deixando-se apenas uma semente aos sete dias após o semeio (DAS). Durante o período experimental, as condições ambientais foram de 32 ± 2 °C de temperatura do ar, 75 ± 5% de umidade relativa, 2 ± 0,2 kPa de DPV do ar e 800 ± 100 μmol m⁻² s⁻¹ de radiação incidente. As plantas foram irrigadas diariamente mantendo-se o volume de água de acordo com as necessidades exigidas pela cultura, próximo à capacidade de campo (60% do valor), seguindo

a metodologia descrita por Klar *et al.* (2006).

4.6 Inoculação dos microrganismos

Foram realizadas duas inulações para cada tratamento, sendo uma no 7º dia após a semeadura e a outra no 15º dia após a semeadura. A aplicação foi realizada via foliar e via solo, por meio de aplicação direta da suspensão sobre a planta e solo; foram aplicados 50 mL da suspensão fúngica, na concentração de 10^8 conídios. mL⁻¹/planta.

4.7 Desenho experimental

O delineamento foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram: T1=Controle, sem adubação e sem fungo, T2=50% de adubação, T3=*B. bassiana*+ 50% de adubação, T4=*M. ansiplicae* + 50% de adubação, T5=Tratamento padrão Mix de *T. asperellum* (Isolados UFRA-06, 09, 12 e 52) + 50% de adubação e T6=100% da adubação recomendada para milho crioulo.

4.8 Análise de crescimento e biomassa

O crescimento e a biomassa das plantas foram avaliados através das seguintes variáveis biométricas: a) comprimento da parte aérea (cm), mensurados com o auxílio de fita métrica, da base até o ápice da parte aérea da planta; b) diâmetro do coleto, com o parquímetro digital (precisão 0,02mm); c) número de folhas, pela contagem direta das folhas emitidas; d) massa fresca da parte aérea (g); e) comprimento de raiz; f) massa seca da parte aérea (g), por meio da pesagem do material após secagem em estufa com ventilação forçada a 65 °C, até seu peso constante, utilizando-se balança digital com precisão de 0,01 (Benincasa, 1988).

4.9 Anatomia foliar

Foram coletadas 36 amostras do terço médio do folíolo central da segunda folha mais desenvolvida (do ápice à base) e imergidas em solução contendo ácido acético e peróxido de hidrogênio na proporção de 1:1 por um minuto para dissociar a epiderme foliar e com o auxílio de um microscópio ótico com câmera digital acoplada, foram obtidas as imagens das faces adaxial e abaxial (Johansen, 1940).

A análise das lâminas para contagem e tamanho dos estômatos foi conduzida por meio da técnica de impressão da epiderme, que consistiu da deposição de uma gota de adesivo instantâneo universal (éster de cianoacrilato) na face inferior da folha, entre nervura. A lâmina foi pressionada por 10 segundos, permitindo que o adesivo se distribuísse e secasse, resultando

na impressão da epiderme sobre a lâmina (Segatto *et al.*, 2004).

As imagens foliares foram registradas pelo microscópio biológico binocular IOS LM3200BLI. Para a contagem do número de estômatos, cinco campos da lâmina foram fotografados, possibilitando a determinação da densidade estomática. Foram medidos a largura e o comprimento dos estômatos por campo. As características estomáticas, como densidade, diâmetro equatorial (largura) e diâmetro polar (comprimento) dos estômatos foram quantificados utilizando o software Imagem J.

4.10 Testes bioquímicos dos fungos

Para todos os testes de produção de compostos relacionados à promoção de crescimento, os fungos *T. asperellum*, *M. Anisopliae* e *B. bassiana* foram previamente cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados a 28°C, durante sete dias.

4.10.1 Solubilização de fosfato

Após o crescimento das colônias nas placas, foram retirados seis discos (8mm), contendo as estruturas dos fungos (micélio e esporos) e transferidos para frascos de Erlenmeyer de 250 mL, contendo meio NBRIP para avaliar a produção potencial de fosfato. O meio NBRIP é composto por: glicose, 10g; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 5g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,25g; KCl, 0,2g; $(NH_4)_2SO_4$ (10%), 0,1g; $Ca_3(PO_4)_2$, 7,5g, sendo ajustado o pH para 7, antes da autoclavagem (Nautiyal, 1999).

A análise foi realizada em triplicata, com delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os fungos foram incubados em temperatura de $28 \pm 1^\circ C$, em incubadora Shaker de bancada, e agitação de 150 rpm, durante oito dias. As avaliações ocorreram aos 2, 4, 6 e 8 dias após a montagem do experimento. A determinação do fósforo solúvel (p) foi realizada seguindo o método proposto por Murphy e Riley (1962). Para calcular a quantidade de P solúvel, subtraiu-se o P solúvel, contido nos tratamentos, pelo P solúvel presente na amostra controle. A amostra controle consistiu do meio de cultura adicionado à fonte de potássio, sem inóculo. As avaliações foram conduzidas utilizando 10 mL de reagente e adicionando 20 μL de amostra de cada tratamento. O volume total foi ajustado para 100 mL, em balão volumétrico. Após reação de 20 minutos, a quantificação do fósforo solúvel foi realizada em espectrofotômetro Multiskan (ThermoFisher Scientific, Vaarta, Finlândia), com comprimento de onda de 725 nm de absorvância. A curva padrão para a quantificação do fósforo foi gerada com a utilização de uma solução de KH_2HPO_4 nas concentrações 0,20; 0,40; 0,60; 0,80 e 1,0), expressas em $\mu g \cdot mL^{-1}$.

A curva foi realizada no espectrofotômetro, sendo o comprimento de onda ajustado para 880 mm.

4.10.2 Produção de Ácido Indol Acético - AIA

Para a avaliação de AIA, utilizou-se o meio de cultura FAN em g.L^{-1} (glicose, 20g; extrato de levedura, 3g; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0,6g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,3g; pH 5,9 - 6,1)(FAN, 2002). Foram transferidos xxx discos de meio (8mm) contendo as estruturas dos fungos, para Erlenmeyers de 250 mL com volume de 125mL de meio FAN, em presença e ausência de Triptofano. A concentração de Triptofano utilizada foi de 100 mg.L^{-1} . Os fungos foram incubados em Shakes de bancada a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, sob agitação a 150 rpm. O experimento foi em DIC, em triplicata. As análises foram realizadas após 2, 4 ,6 e 8 dias de crescimento.

A massa fúngica resultante foi separada por centrifugação, a 9.000 rpm por 30 minutos. Para análise colorimétrica do ácido indolacético, utilizou-se o protocolo adaptado por Gordon & Weber (1951), que consistiu na mistura de 3 mL do reagente de Salkowski (1mL FeCl_3 + 30mL de H_2SO_4 + 50mL de água destilada) com 2 mL de sobrenadante da cultura. Essa mistura foi reservada em local escuro por 30 minutos para avaliação da produção de AIA, manifestada pela coloração avermelhada. Após a confirmação qualitativa da presença de AIA as amostras foram submetidas à leitura em espectrofotômetro Multiskan (Thermofisher Scientific, Vaarta, Finlândia), ajustado no comprimento de 530 nm.

As concentrações em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foram calculadas em curva padrão, contendo concentrações pré-estabelecidas do hormônio AIA na forma sintética (1 a $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$), que serviram como ponto de referência para calcular as concentrações de AIA nos tratamentos. Para a estimativa da produção de AIA, os dados de absorbância foram representados em curva de calibração, utilizando concentrações conhecidas de AIA sintético para desenvolver a curva, sendo estas: 0, 5, 10, 20, 50 e $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

4.10.3 Produção de sideróforos

Após o período de sete dias, seis discos de aproximadamente 8mm de diâmetro foram transferidos para frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 125 mL do meio (batata-dextrose). As amostras foram colocadas em incubadora Shaker de bancada, a 150 rpm para crescimento. As avaliações foram realizadas nos dias 2, 4, 6 e 8 após a incubação. Previamente ao início do experimento, todo o material de vidro utilizado foi submetido à assepsia com solução ácida de HCL (ácido clorídrico) 6M, durante a noite, com intuito de remover quaisquer resíduos de ferro

existente. O excesso de ácido foi removido com água destilada autoclavada.

A preparação da solução CAS seguiu o método proposto por Chwyn e Neilands (1987). A solução CAS foi preparada em balão volumétrico de 100 mL, no qual foram acrescentados 6 mL de solução de HDTMA 10mM, diluídos com H₂O_d. Uma combinação de 1,5 mL de solução férrica (FeCl₃.6H₂O 1mM 10mM, HCl 10mM) e 7,5mL de solução CAS 2mM foi gradualmente introduzida no balão volumétrico sob agitação constante. Foram dissolvidos 4,307gramas de piperazina anidra em água destilada, seguidos pela adição de 6,25mL de HCl 12M. O ajuste de pH para 5,6 foi realizado da solução tampão resultante, a qual foi posteriormente transferida para balão volumétrico, completando o volume para 100 mL, cuja solução foi armazenada na ausência de luz.

De cada amostra referente aos tratamentos, incluindo controle (meio BD sem inóculo) foram retirados 2mL e centrifugados a 4.000 rpm; 1mL do sobrenadante foi retirado e adicionado a 1mL de solução de CAS, lido em leitor de microplaca, no comprimento de onda de 630nm. As concentrações de sideróforos das amostras foram estimados de acordo com a curva padrão e concentrações conhecidas de EDTA.

4.11 Trocas Gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas foram determinados a partir da segunda folha fisiologicamente madura, sadia e completamente expandida, do ápice até a base da planta, com 30 dias após a inoculação dos fungos. Os parâmetros estabelecidos foram os seguintes: taxa de assimilação de líquida de CO₂ ($A - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática ao vapor d'água ($g_s - \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração ($E - \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e eficiência de carboxilação ($A/C_i - \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$). Para tal processo, foram estimados os horários entre 08h e 11h, a partir das curvas diurnas segundo o trabalho de (Palheta *et al.*, 2021) utilizando um sistema portátil de fluxo aberto de trocas gasosas (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE) sob concentração externa de CO₂ de 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de ar e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) artificial de 1000 $\mu\text{mol de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$. A quantidade de luz azul foi ajustada para 10% da radiação fotossinteticamente ativa para otimizar a abertura estomática.

4.12 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos às análises de normalidade, homoscedasticidade, Teste F e, quando significativos, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$) com auxílio do software R (R CORE TEAM, 2021).

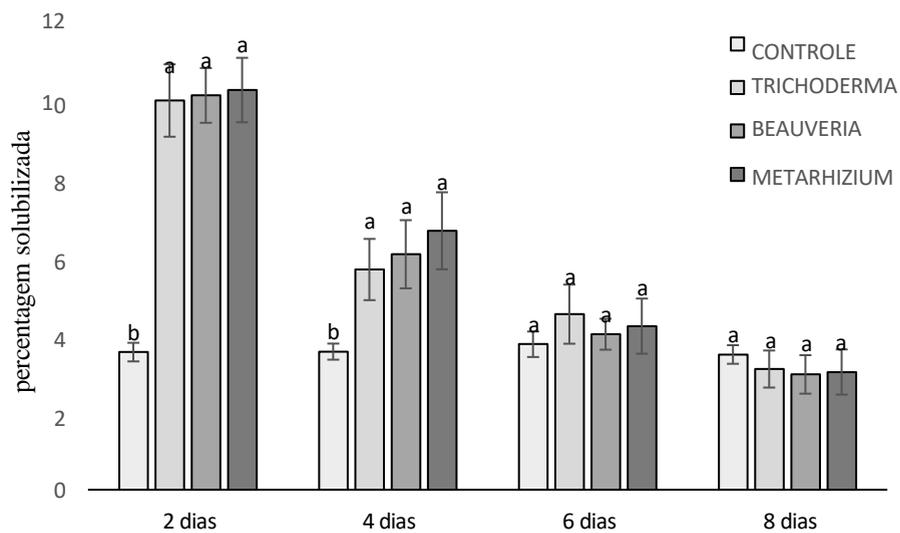
5. RESULTADOS

5.1 Parâmetros bioquímicos

5.1.1 Solubilização de fosfato

Todos os fungos apresentaram potencial de solubilização de fosfato em meio NBRIP. A concentração de fosfato solubilizado foi elevada aos dois dias de incubação, apresentando queda a partir do 4º dia de crescimento. Os tratamentos apresentaram diferença com relação ao controle, havendo queda acentuada, logo após os dois dias de experimento.

Figura 2. Solubilização de fosfato em meio NBRIP (modificado) por isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma asperellum* e *Beauveria bassiana*, em diferentes tempos de crescimento.

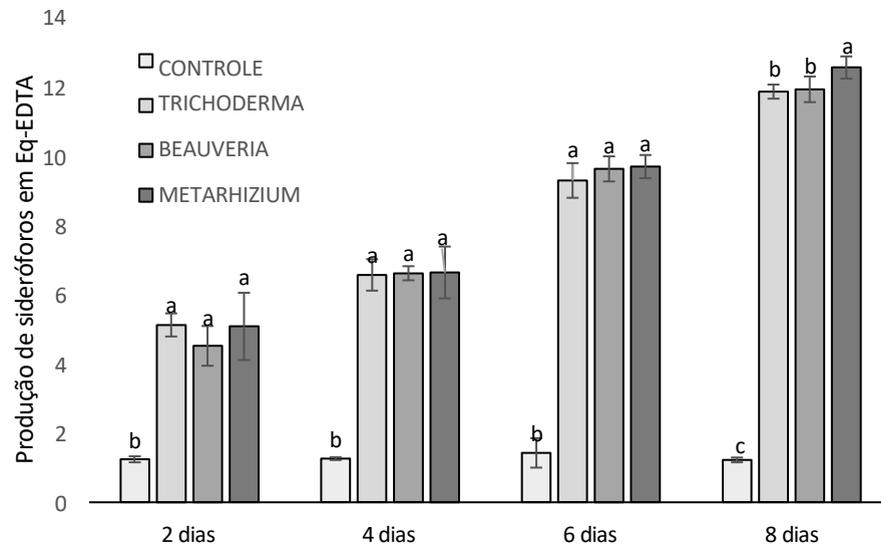


*Letras distintas representam diferença significativa pelo teste Duncan ($p < 0,05$)

5.1.2 Produção de sideróforos

Todos os isolados produziram sideróforos nos diferentes tempos de avaliação (Figura 3). Houve diferença entre os fungos apenas na avaliação realizada aos oito dias após a incubação, com o *M. anisopliae* apresentando a maior produção, sendo 5% maior que os valores observados para *T. asperellum* e *B. bassiana*, e 90,31% superior ao controle.

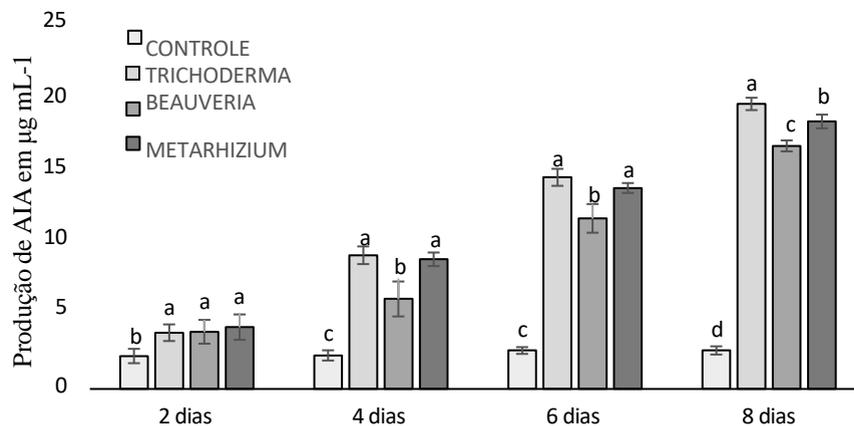
Figura 3. Produção de sideróforos em meio de cultivo BD (batata e dextrose) por isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma asperellum* e *Beauveria bassiana*, em diferentes tempos.



5.1.3 Produção de Ácido Indol Acético (AIA)

Os isolados demonstraram capacidade de produção de ácido indol acético (AIA) em relação ao controle (Figura 4). Nos primeiros dois dias, os fungos apresentaram médias iguais. No entanto, nas análises do 4º e 6º dias, *M. anisopliae* e *T. asperellum* apresentaram os maiores valores. Ao final dos 8º dia, o fungo *T. asperellum* apresentou 15% maior que a média do fungo *B. bassiana* e 5% maior que a produção observada do fungo *M. anisopliae*.

Figura 4 Produção de ácido indol acético em meio FAN suplementado com L-triptofano por isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma asperellum* e *Beauveria bassiana*, durante 8 dias, em laboratório.



*Letras minúsculas distintas representam diferença significativa pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

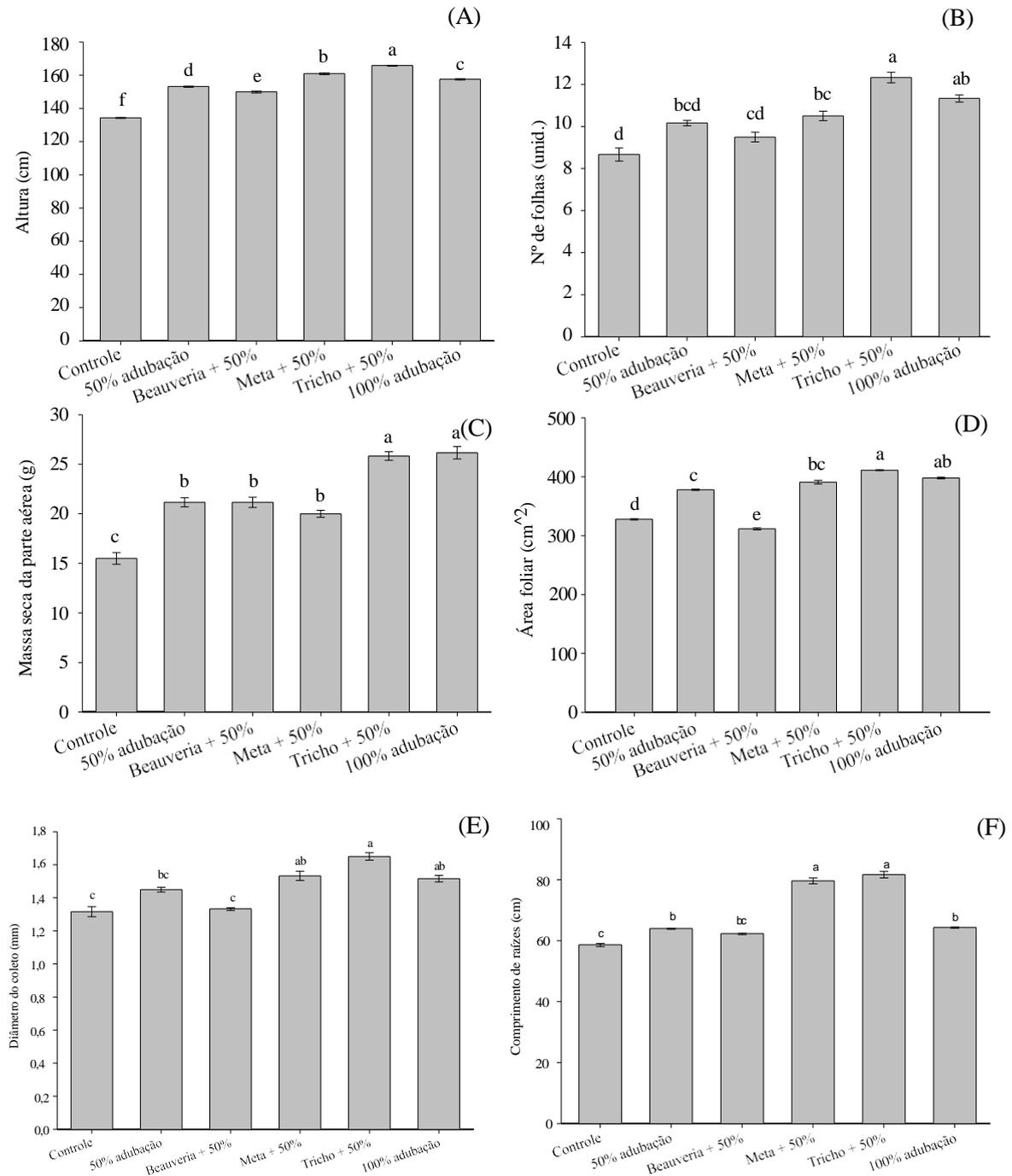
5.2 Avaliação biométrica

As plantas inoculadas com *Metarhizium* e *Trichoderma* destacaram-se com as maiores médias nos parâmetros avaliados. Para altura, mudas tratadas com o mix de *Trichoderma* + 50% de adubação, apresentaram os maiores valores para essa variável (Figura 5A), com aumento de 23%, em relação ao controle. O tratamento *Metarhizium* + 50% de adubação ocasionou 19% de aumento na altura das mudas e, a utilização da adubação recomendada para a cultura do milho crioulo, 17%, em relação às plantas do tratamento controle (Figura 5A). O número de folhas foi maior nas plantas tratadas com *Trichoderma* + 50% de adubação e que receberam 100% da adubação recomendada, embora este último tratamento não tenha se diferenciado de *Metarhizium* +50% de adubação (Figura 5B). A combinação *Trichoderma* + 50% de adubação aumentou em 42% o número de folhas e em 21% e 30% para *Metarhizium* +50% de adubação e adubação 100%, respectivamente.

As maiores médias na massa seca da parte aérea foram observadas nas plantas que receberam os tratamentos *Trichoderma* + 50% de adubação e adubação 100% (Figura 5C), com incrementos de 66% e 68%, respectivamente, em relação ao controle. Semelhante ao observado para o número de folhas, a área foliar foi maior nas plantas tratadas com *Trichoderma* + 50% de adubação e naquelas que receberam 100% da adubação recomendada, embora este último tratamento não tenha se diferenciado de *Metarhizium* +50% de adubação (Figura 5D). Os aumentos ocasionados na área foliar por esses tratamentos foram de 25%, 21% e 19%, respectivamente, em relação ao controle. É importante ressaltar que, plantas tratadas com o mix de *Trichoderma* + 50% de adubação apresentaram médias maiores que o tratamento padrão (100% da adubação) para altura (5%), número de folhas (8%) e área foliar (3%). Além disso, o tratamento T4 (*Metarhizium* + 50% de adubação) apresentou resultados semelhantes ao tratamento padrão positivo (T6 = 100% de adubação) nas variáveis de número de folhas e área foliar. Em relação ao diâmetro do coleto, as maiores médias foram observadas nos tratamentos *Trichoderma* + 50% de adubação, 100% adubação e *Metarhizium* + 50% de adubação, não havendo diferença significativa entre eles (Figura 5E), com incrementos em 25% 16% e 15%, respectivamente, em relação ao controle. Plantas que receberam os tratamentos *Trichoderma* + 50% de adubação e *Metarhizium* + 50% de adubação apresentaram as maiores médias no comprimento de raiz (Figura 5F). Os aumentos nessa variável ocasionados por esses tratamentos foram de de 39% para *Trichoderma* + 50% de adubação e de 35% para *Metarhizium* + 50% de adubação, em relação ao tratamento controle, enquanto que, o aumento observado nas plantas que receberam apenas a adubação recomendada para a cultura do milho crioulo foi 9%. Destaca-se que, omix de *Trichoderma* + adubação apresentou média 8% maior para o

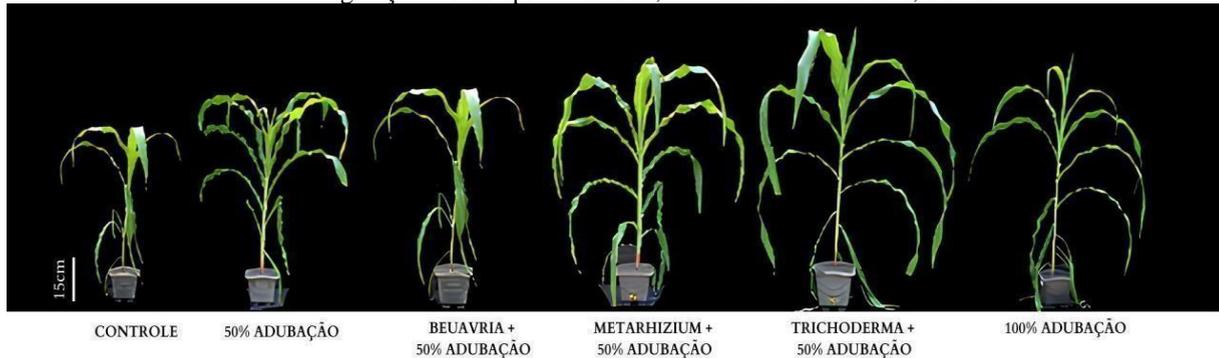
diâmetro do coleto e 26% maior o comprimento de raízes, em relação ao tratamento padrão 100% de adubação.

Figura 5. Média e erro padrão de parâmetros biométricos para Altura (A), Número de folhas (B), Massa seca da parte aérea (C), Área foliar (D), Diâmetro do coleto (E), Comprimento das raízes (F) de plantas de *Zea mays* L., após aplicação de fungos associados a adubação. Município de Belém, Pa. Amazônia Oriental, Brasil.



*Letras distintas indicam diferenças significativas de acordo com o teste Duncan ($P < 0,05$).

Figura 6. Plantas de milho aos 30 dias do plantio, após aplicação de fungos associados a 50% de adubação, em casa de vegetação. Município de Belém, Pa. Amazônia Oriental, Brasil.



Fonte: Autor (2022).

5.3. Anatomia foliar

A análise estomática mostrou influência dos tratamentos no tamanho e distribuição dos estômatos. As plantas submetidas a aplicação de *M. anisoplie*+50% de adubação, *T. asperellum*+50% de adubação e 100% de adubação, apresentaram maiores médias para densidade estomática (DE), tanto na área abaxial, quanto na parte adaxial foliar. O maior valor para diâmetro polar médio (DPM), na face abaxial das folhas, foi observado nas plantas que receberam a adubação recomendada para a cultura. A variável diâmetro equatorial médio (DEM) teve maior média nas plantas inoculadas com o fungo *B. bassiana*+50% de adubação, em ambas as faces da folha. A funcionalidade estomática também foi influenciada pelos tratamentos, sendo *M. anisopliae*+50% de adubação, *T. asperellum*+50% de adubação e 100% de adubação demonstradores de maiores resultados para esse parâmetro (Tabela 2).

Tabela 2. Densidade estomática (DE), diâmetro polar médio (DPM), diâmetro equatorial médio (DEM) e funcionalidade estomática (FUN) em folhas de milho crioulo após aplicação de fungos associados a adubação, em casa de vegetação. Município de Belém, PA. Amazônia Oriental, Brasil.

Análise estomática	DE (mm ²)	DPM (mm)	DEM (mm)	FUN
Face abaxial				
Controle	171,68 b	51,51 d	36,11 b	1,33 b
50% de adubação	184,49 b	51,39 d	35,91 b	1,36 b
<i>B. bassiana</i> + 50% de adubação	179,31 b	53,15 c	42,17 a	1,26 c
<i>M. anisopliae</i> + 50% de adubação	208,87 a	55,79 b	35,19 b	1,62 a
<i>T. asperellum</i> + 50% de adubação	213,12 a	55,03 bc	36,15 b	1,55 a
100% de adubação	218,87 a	58,75 a	40,43 ab	1,46 a
Face adaxial				

Controle	109,12 c	54,64 bc	32,94 b	1,66 b
50% de adubação	120 bc	57,12 ab	33,84 b	1,70 b
<i>B. bassiana</i> + 50% de adubação	123,37 b	51,45 c	48,56 a	1,06 c
<i>M. anisopliae</i> + 50% de adubação	140 a	59,94 a	32,66 b	1,85 a
<i>T. asperellum</i> + 50% de adubação	140,12 a	61,23 a	32,86 b	1,88 a
100% de adubação	137,25 a	59,44 a	32,18 b	1,86 a

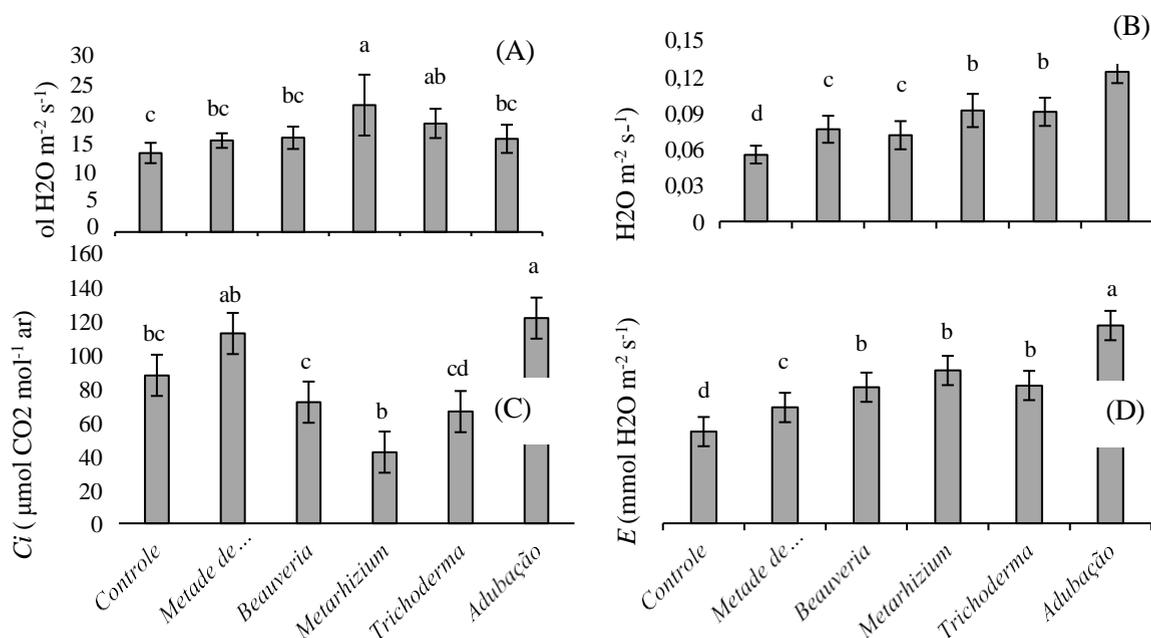
Fonte: Autor (2023)

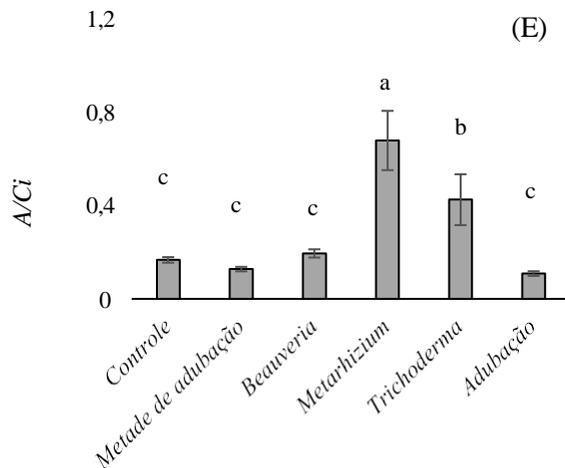
*Letras distintas indicam diferenças significativas de acordo com o teste Duncan ($P < 0,05$).

5.4. Avaliações fisiológicas

Houve diferenças significativas entre os tratamentos para as trocas gasosas (Figura 7). Observou-se que para assimilação de CO₂ líquida (A), houve acréscimo de 60% nas plantas inoculadas com *M. anisopliae*+50% de adubação, 37% com *T. asperellum*+50% de adubação e 17% com adubação recomendada para a cultura, em relação ao controle. Para a condutância estomática (*g_s*) e transpiração destacaram-se, também, esses mesmos tratamentos (Figuras 8B e 8E) A concentração de CO₂ intercelular (*C_i*) foi reduzida em 51% para o tratamento *M. anisopliae*+50% de adubação e em 24% nas plantas tratadas com *T. asperellum*+50% de adubação e aumentou em 38% quando se utilizou 100% da adubação recomendada para a cultura do milho crioulo, em comparação ao controle. Nos tratamentos *M. anisopliae*+50% de adubação e *T. asperellum*+50% de adubação ocorreu aumento de 306% e 154%, respectivamente, para a variável eficiência de carboxilação, em relação ao controle.

Figura 7- Média e erro padrão das análises de Fotossíntese líquida (A) [A], Condutância estomática (*g_s*) [B], Carbono intercelular (*C_i*) [C], Transpiração (*E*) [D] e Eficiência de carboxilação (*A/C_i*) [E], em plantas de *Zea mays* L., após aplicação de fungos associados a adubação, em casa de vegetação. Município de Belém, Pa. Amazônia Oriental, Brasil.





*letras diferentes indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$)

6. DISCUSSÃO

O potencial dos fungos entomopatogênicos, *M. anisoplie* e *B. bassiana*, e do promotor de crescimento *T. asperellum* é explorado de forma intensa no mercado agrícola e nos ambientes de pesquisa, não apenas pela capacidade de realizar controle biológico de pragas e doenças, mas também pelo auxílio na promoção de crescimento vegetal (Alves e Faria, 2010). Ressalta-se que esta pesquisa é pioneira na Amazônia brasileira, em relação ao estudo da associação de microrganismos com teores reduzidos de adubação na cultura do milho crioulo.

Este trabalho comprovou a capacidade dos microrganismos *M. anisoplie*, *B. bassiana* e *T. asperellum*, de realizarem a solubilização de fosfato. Segundo Ribas *et al.* (2015), fungos fazem a secreção de ácidos orgânicos, que por meio de reações químicas, convertem fosfatos insolúveis em formas solúveis, disponibilizando, com maior facilidade, a absorção pelas plantas, além de liberarem enzimas fosfatases ácidas, que desintegram compostos orgânicos, liberando íons de fosfato. Tal característica também foi observada nos testes *in vitro* de solubilização realizados por Silva *et al.* (2012), que analisaram a capacidade de quatro isolados de *T. asperellum* (UFRA T06; T09; T12; T52) em solubilizar fosfato de cálcio em meio de cultura sólido. Esse mecanismo é de grande importância, visto que o fósforo é um nutriente essencial para o crescimento vegetal, devido à participação na adenosina trifosfato (ATP), principal molécula energética da planta (Morales *et al.*, 2019). Quanto à produção de sideróforos pelos fungos estudados (Figura 3), os resultados demonstraram que possuem afinidade com compostos de ferro. Esse micronutriente é importante para o desenvolvimento

dos fungos e, tem por finalidade atrair íons desse elemento no ambiente (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012). As plantas que estão interagindo com os fungos também são beneficiadas, pois a disponibilização do ferro ocorre perto da área radicular (Rezende *et al.*, 2021), o que pode ter favorecido as plantas de milho crioulo no desempenho das trocas gasosas, pois se observou maior taxa de assimilação líquida de CO₂ das plantas biofertilizadas, conforme demonstra a Figura 7A.

Outra atividade de grande importância observada nos fungos avaliados foi a produção de ácido indolacético (Figura 4). De acordo com Napitupulu *et al.* (2018), a partir de reações enzimáticas, os microrganismos conseguem realizar a conversão de triptofano (precursor) em ácido indolacético. Desse modo, o fungo produz o hormônio e realiza a liberação, chegando até as plantas que estão em relação de simbiose. O AIA possui papéis importantes no desenvolvimento vegetal, dentre eles a ativação de bombas de prótons, que estimula a expansão celular (Almeida *et al.*, 2015), além de atuar no crescimento das plantas (Figura 5), o que foi observado pelo aumento da altura nas plantas tratadas com os fungos+50% da adubação recomendada para a cultura do milho crioulo.

A partir do conhecimento das características benéficas apresentadas pelos testes *in vitro* com isolados fúngicos avaliados nesse trabalho, analisou-se o comportamento desses organismos na interação com plantas de milho crioulo. No estudo, plantas que receberam o tratamento com o fungo entomopatogênico *M. anisopliae* + 50% adubação tiveram comportamentos semelhantes ao tratamento *T. asperellum* + 50% adubação, pois apresentaram as maiores médias para as variáveis de altura, diâmetro do coleto, número de folhas, massa seca da parte aérea e área foliar (Figura 5). Isso ocorre por conta dos fungos dos gêneros *Trichoderma* e *Metarhizium* apresentarem potencial como simbiote vegetal, porque podem colonizar e interagir com as raízes das plantas, otimizando a absorção de nutrientes (Hermosa *et al.*, 2012; Tyśkiewicz *et al.*, 2022). Existem relatos de que cepas desses fungos produziram outros fitohormônios, como giberelinas e compostos orgânicos voláteis, que estimulam a abertura estomática e a sanidade vegetal, respectivamente, sendo essencial para o crescimento de plantas hospedeiras (Sasan e Bidochka, 2012; Tyśkiewicz *et al.*, 2022). Ademais, esses fungos podem promover crescimento vegetal a partir da ação de disponibilizar nutrientes, como fósforo, nitrogênio, potássio, zinco e ferro (Tyśkiewicz *et al.*, 2022). O nitrogênio desempenha papel na composição de enzimas e proteínas importantes para o funcionamento vegetal, como, por exemplo, a enzima Rubisco (Warren *et al.*, 2003). O potássio é regulador da síntese de açúcares na planta e faz parte da redistribuição dos carboidratos entre os órgãos (Johnson *et al.*, 2022). Por fim, zinco e ferro atuam diretamente na absorção de nutrientes (Kume *et al.*, 2021) e

na ativação de atividades enzimáticas (Kirkby & Römheld, 2007), respectivamente, tornando-os atuantes no desenvolvimento vegetal.

Os resultados da estrutura radicular revelaram que plantas inoculadas com *M. anisoplie* e *T. asperellum* apresentaram maior desenvolvimento em comprimento de raiz (Figura 5). Para Taiz & Zeiger (2013), é fundamental que a formação das raízes seja realizada com sucesso, visto que é o órgão responsável pela absorção de água e nutrientes, além de ter papel na sustentação da planta. Possivelmente, os fungos estimularam melhor desenvolvimento radicular, uma vez que disponibilizaram fósforo para as plantas de milho crioulo, que nas raízes desempenha papel na composição de moléculas energéticas participantes do processo de divisão celular para crescimento do tecido (Morales *et al.*, 2019), além de sintetizar AIA, que induz a multiplicação das células, além de propiciar o desenvolvimento de raízes adventícias, essas que otimizam a absorção de elementos e substâncias importantes para a planta (Kumar *et al.*, 2022).

O estudo estomático das plantas mostrou alterações a partir da inoculação dos fungos dos gêneros *Metarhizium* e *Trichoderma*. De forma geral, os estômatos são formados com início em células protodérmicas, que se dividem, tornam-se maduras e organizam-se em pares, posteriormente realizando o movimento de abertura e fechamento de acordo com a situação hídrica e nutricional da planta (Miotto, 2016). Como um dos principais hormônios relacionados à formação e atividade estomática, tem-se a auxina (Wei *et al.*, 2021). É possível que a maior quantidade de AIA produzida pela interação com os fungos tenha influenciado não somente no aumento do número de estômatos nas plantas bioestimuladas, mas também no maior diâmetro polar desses estômatos (Tabela 2). O diâmetro polar está relacionado à forma mais elipsoidal da estrutura estomática que, conseqüentemente, resulta em maior funcionalidade do estômato que é dada pela relação diâmetro polar médio/diâmetro equatorial médio (Santos *et al.* 2021).

O estudo demonstrou que plantas inoculadas com os microrganismos *Metarhizium* e *Trichoderma* apresentaram maiores taxas de assimilação líquida de CO₂ (A) em relação aos outros tratamentos (Figura 7A). Segundo Klunge *et al.* (2015), a fotossíntese é um processo constituído por várias reações que envolvem a fixação do carbono por meio do uso das moléculas carreadoras de energia química (NADPH e ATP) geradas na fase fotoquímica. As altas taxas de assimilação líquida de CO₂ (Figura 7A) resultaram em valores mais expressivos positivamente para as variáveis biométricas e de biomassa nas plantas de milho crioulo inoculadas com o mix de *T. asperellum* + 50% da adubação (Figura 5).

Ressalta-se que o processo fotossintético é vital para a produção de carboidratos, como açúcares e amido, resultantes da conversão do carbono inorgânico proveniente da molécula de

CO₂ em material orgânico (EMBRAPA, 2006). Resultados semelhantes foram encontrados por Luciano *et al.* (2023) na cultura do eucalipto e por Junior *et al.* (2022) nas culturas de arroz e milho, nas quais maiores taxas fotossintéticas induziram valores biométricos e de biomassa maiores em plantas inoculadas com fungos bioestimulantes.

Para a variável condutância estomática (*g_s*), o tratamento com adubação completa 100%, teve maior média em comparação aos outros tratamentos (Figura 8 letra), assim como na variável transpiração (Figura 7), pois o potássio é um nutriente essencial para a regulação de abertura e fechamento estomático, e o acúmulo dos seus íons na área interna das células-guardas leva a um movimento osmótico da água para o seu interior, causando a turgidez da célula e sucedendo a abertura dos estômatos (Maia *et al.*, 2015).

Ressalta-se que devido à redução de adubação, possivelmente ocorreu a diminuição da condutância estomática causada pela menor quantidade disponível de nutrientes nos tratamentos que apresentaram as menores médias nessa variável, o que justifica-se a redução nos níveis de transpiração, pois a abertura e fechamento dos estômatos influencia diretamente na perda de água do tecido vegetal (Taiz & Zeiger, 2013). No entanto, é possível perceber que a inoculação dos fungos *M. anisopliae* + 50% da adubação e do mix de *T. asperellum* + 50% da adubação pode ter promovido proteção ao aparato fotossintético das plantas na situação de estresse nutricional, visto que a diminuição nos níveis de abertura estomática não foi prejudicial à taxa de assimilação líquida de CO₂ em plantas inoculadas com esses microrganismos (Figura 5). Esse fato ser explicado pela capacidade dos fungos bioestimulantes auxiliarem na formação da estrutura radicular resultante da eficiente produção de fitormônios, habilitada para explorar o solo e adquirir mais nutrientes (Araújo *et al.*, 2023; Chagas *et al.*, 2017; Harman *et al.*, 2012), que procede em parte aérea foliar mais eficiente, com maior número e melhor funcionalidade dos estômatos, estruturas essenciais para a entrada de CO₂ e regulação térmica (Bergonci; Pereira, 2002), fazendo com que a planta suporte as consequências de uma possível diminuição ou ausência de nutrientes.

As menores concentrações de dióxido de carbono intercelular (*C_i*) coincidiram com as altas taxas de *A/C_i* nas plantas inoculadas com os tratamentos *M. anisopliae* + 50% da adubação e mix de *T. asperellum* + 50% da adubação (Figura 7), o que evidencia melhor consumo dessa molécula e, conseqüentemente, demonstra a eficiência da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco), enzima chave para a execução do processo fotossintético, pois tem como função catalisar a carboxilação da ribulose 1,5 bifosfato (RuBP), primeira etapa do processo de fixação de carbono no ciclo de Calvin-Benson (Ellis, 1979). A eficiência pode ser estimada através das respostas de assimilação de CO₂ em função da variação de sua

concentração interna na folha (Camilli *et al.*, 2007).

Destaca-se ainda que a adubação é prática agrícola que repõe os nutrientes do solo, e é fundamental porque subsidia a qualidade das plantas, já que as culturas são nutridas para terem crescimento rápido e satisfatório, o que impacta diretamente na produção. Os resultados promissores na promoção de crescimento de plantas de milho crioulo tratadas com *M. anisopliae*+50% de adubação e com o mix de *T. asperellum*+50% de adubação, assemelhando-se ou com resultados superiores em parâmetros anatômicos, biométricos e fisiológicos quando comparados ao tratamento padrão com 100% de adubação, demonstram uma possível alternativa ecológica e econômica para uso na cultura do milho crioulo na Amazônia, que pode favorecer a redução dos custos, evitar desperdícios de adubos, minorar a entrada de máquinas na área e, principalmente, diminuir o impacto ambiental, por conta do menor uso de fertilizantes químicos no solo.

7. CONCLUSÃO

Os fungos *M. anisopliae* e *T. asperellum* associados a 50% da adubação recomendada para a cultura do milho, *Z. mays* L., variedade crioulo, são eficientes como biofertilizantes e proporcionam a maximização dos parâmetros biométricos, anatômicos e fisiológicos, relacionados à promoção de crescimento das plantas. O uso desses fungos com adubação reduzida tem potencial como uma alternativa economicamente viável para a cultura, pois pode diminuir os custos de produção e, principalmente, os impactos ambientais negativos no solo, decorrentes do uso intensivo dos fertilizantes químicos.

REFERÊNCIAS

- AFANDHI, A.; WIDJAYANTI, T.; EMI, A. A. L.; TARNO, H.; AFIYANTE, M.; HANDOKO, S. N. R. Endophytic fungi *Beauveria bassiana* Balsamo accelerates growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 6, 2019. <https://doi.org/10.1186/s40538-019-0148-1>.
- ALFENAS, ACELINO COUTO; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. 2^a. Viçosa. 516p. 2016
- ARAÚJO, T. B.; SCHUELTER, A. R.; SOUZA, I. R. P. Growth promotion in maize inoculated with *Trichoderma harzianum*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 22, p. 1-19, 2023. <https://doi.org/10.18512/rbms2023v22e1269>.
- ARAÚJO, T. B.; SCHUELTER, A. R.; SOUZA, I. R. P.; COELHO, S. R. M.; CRISTO, D. Promoção do crescimento em milho inoculado com *Trichoderma harzianum*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 22, p. 126, 2023.
- BAE, R. C. H.; SICHER, M. S.; KIM, S-H. K.; MARY, D. S.; RACHEL, L. M.; BRYAN, A. B.

The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*, **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 3279-3295, 2009. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp165>.

BENINCASA, M. M. P. Análise de crescimento de plantas: noções básicas. In: BAXTER, H. L.; STEWART, C. N. Effects of altered lignin biosynthesis on phenylpropanoid metabolism and plant stress. **Biofuels**, v. 4, p. 635-650, 1988. <https://doi.org/10.4155/bfs.13.56>.

BRASIL, E. C; CRAVO, M. Da S; VIEGAS, I. De J. M. Recomendações de calagem e adubação para o estado do pará, Embrapa Amazônia Oriental, 2020.

CAMILLI, L; IKEJIRI, L; KLEIN, J; RODRIGUES, J. D; BOARO, C. S. F. Produtividade e estimativa da eficiência de carboxilação in vivo da enzima rubisco em girassol ornamental cultivado em lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 858-860, 2007.

CANASSA, FA TALL, SUSANNA; MORAL, RAFAEL A; DE LARA, IDEMAURO A.R.; DELALIBERA, ITALO ; MEYLING, NICOLAI. V. Effects of bean seed treatment by the entomopathogenic fungi *Metarhizium robertsii* and *Beauveria bassiana* on plant growth, spider mite populations and behavior of predatory mite. **Biological Control** , v. 132, p. 199-208, 2019.

CHAGAS JUNIOR, A. F; LUZA, L. L; MARTINS, A. L. L; QUEIROZ, A. S. B; CHAGASA, L. F. B.; GIONGOA, M.; PORTELLAA, A. C. F.; SCHEIDT, G. Alterações morfofisiológicas em plantas de arroz e milho ocasionadas pelo *Trichoderma asperellum*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 10, p. 4, 2022. <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v10n4.chagasjunio>

CHAGAS, L. F. B; CHAGAS JUNIOR, A. F; SOARES, L. P; FIDELIS, R. R. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 4, n. 3, p. 97-102, jul./set. 2017.

CONTINI, E; MARRA, R; BORGHI, E; MIRANDA, R. A de; SILVA, A. F. da; SILVA, D. D. Da; MACHADO, J, R, de A.; COTA, L.V.; R. V. da; MENDES, S. M. **SÉRIE DESAFIOS DO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO (NT2)** Milho- Caracterização e Desafios Tecnológicos. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/195075/1/Milhocaracterizacao.pdf>

ELLIS, R. J. The most abundant protein in the world. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 4, n. 11, p. 241-244, 1979. EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2019. Milho -Caracterização e Desafios Tecnológicos, Série desafios do agronegócio brasileiro (NT2).

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. **USDA.gov - United States Department of Agriculture**. Disponível em: . Acesso em: 15 de dez. De 2023.

FAN, L. Produção de exopolissacarídeos de *Agaricus blazei* teste antitumorais. Curitiba: **Universidade Federal do Paraná**, 2002. 86p. Tese Doutorado.

GORDON, S. A; WEBER, R. P. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. **Plant Physiology**, v. 26, n. 1, p. 192-195, 1951.

HARMAN, G. E.; HERRERA-ESTRELLA, A. H.; HORWITZ, B. A.; LORITO, M. Trichoderma - from basic biology to biotechnology. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 1-2, 2012. HERMOSA, R; VITERBO, A; CHET, I; MONTE, E. Plant-benéficos efeitos de Trichoderma e de seus genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17-25, 2012. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052274-0>.

JAROSZUK-ŚCISEŁ, JOLANTA; KUREK, EWA, TRYTEK. Mariusz.; Efficiency of indoleacetic acid, gibberellic acid and ethylene synthesized in vitro by *Fusarium culmorum* strains with different effects on cereal growth. **Biologia**, v. 69, n. 3, p. 281-292, 2014.

JAROSZUK-ŚCISEŁ, JOLANTA; KUREK, EWA; TRYTEK, MARIUSZ; Efficiency of indoleacetic acid, gibberellic acid and ethylene synthesized in vitro by *Fusarium culmorum* strains with different effects on cereal growth. **Biologia**, v. 69, n. 3, p. 281-292, 2014.

JOHANSEN D.A. 1940. plant Microtechnique. 2 edn. **Bombay**, tata McGraw-hill, 532p. KHAN, A. L; HAMAYUN, M; KHAN, S. A; KANG, S. M; SHINWARI, ZK, E.E.; KIM, JG; LEE IJ; Pure culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 reprograms soybean to higher growth and mitigates salt stress. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 1483-1494, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0950-9>.

KLUGE, R. A; TEZOTTO-ULIANA, J. V; SILVA, P. P. M. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 56-73. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150004>.

LIU, Y; WANG, B. Os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* desempenham papéis de promotores de crescimento do milho (*Zea mays* L.). **Scientific Reports**, v. 12, p. 15706, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19899-7>

LUCIANO, D. DE O; LIMA, C. A; LOPES, M. B; MOURA, D. M. DE O; FERREIRA, A. L. L.; MARTINS, A. L. L.; CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F. *Bacillus* e *Trichoderma* como promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 2, p. 1-9, 2023. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v12i2.39509>

LUI SHAO-FANG; GUANG JUN, W; XIABGQUN NONG; LIU BIN; Entomopathogen *Metarhizium anisopliae* promoters the early development of peanut root. **Plant Protection Science**, v. 53, n. 2, p. 101-107, 2017. <https://doi.org/10.17221/49/2016-PPS>

LÓPEZ-VALENZUELA, AMENTA BORJÓQUEZ, HERNÁNDEZ VERDUGO, APODACA SÁNCHEZ, SAMANIEGO GAXIOLA, VALDEZ ORTIS. Trichoderma spp. and Bacillus spp. as growth promoters in maize (*Zea mays* L.). **Phyton, Internacional Journal of Experimental Botany**, v. 88, n. 1, p. 37–46, 2019.

MAIA, P. de M. E; AROUCHA, E. M. M; Silva, O. M. dos P. Da; SILVA, R. C. P. OLIVEIRA, F. de A. Desenvolvimento e qualidade do rabanete sob diferentes fontes de potássio. **Revista Verde**, v. 6, n. 1, p. 148-153, 2011.

MATRANGOLO, W. J. R; CIOTOLA, J. L; FRANÇA, F. C. T; MACHADO, A. T; TEIXEIRA, F.F; FREITAS, F. O; GADELHA, E. G. Produção de sementes de milho crioulo em Juvenília, MG. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 2020. Edição dos Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia, São Cristóvão, Sergipe, 2019.

MARCOS, A. T; M, F. **Pequeno manual sobre fungos entomopatogênicos**. Planaltina, DF: Embrapa cerrado, 2010, 47p.

MALAVOLTA, E; BOARRETO, A. E; PAULINO, V. T. Micronutrientes: uma visão geral. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, MC. P. micronutrientes na agricultura. Piracicaba: PATAFOS, 1991.p.1-34.

MENDES, G. de O; FREITAS, A. L. M. de; PEREIRA, O. L; SILVA, I. R; VASSILAV, B. N; COSTA, O. M. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, v. 64, n. 1, p. 239-249, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0656-3>

MENG, X; MIAO, Y; LU, Q; KAI, K; YANG, D; RAN, W; SHEN, Q. *TgSWO* from *Trichoderma guizhouense* NJAU4742 promotes growth in cucumber plants by modifying the root morphology and the cell wall architecture. **Microbial Cell Factories**, v. 18, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1196-8>.

MEYER, M. C; MAZARO, S. M; SILVA, J. C. DA. **Trichoderma uso na agricultura**. Brasília, DF : Capítulo 20. Uso do *Trichoderma* na cultura da Banana. Embrapa, 2019, 538p.

MIRANDA, R. A; DUARTE, J. O; GARCIA, J. C; DURÃES, F. O. M. Sustentabilidade da cadeia produtiva do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2021.

MURPHY, J; RILEY, J. P. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. **Analytical Chemistry Acta**, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.

NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphorus solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, Malden, v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.

NASCENTE, A. S, FILIPPI, M.C.C, de; LANNA, A.C; SOUZA, A.C.A, de; LOBO, V, L, S.da; SILVA, G. B. da. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 3, p. 2956–2965, 2016. doi: 10.1007/s11356-016-8013-2.

OLIVEIRA, A. G. de; CHAGAS JUNIOR, A. F; SANTOS, G. R. dos; MILLER, L. O; CHAGAS, L. F. B. Potential phosphate solubilization and AIA production of *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 149-155, 2012. <https://doi.org/10.18378/rvads.v7i3.1338>.

PEREIRA FJ, CASTRO EM, SOUZA TC, MAGALHÃES PC. 2008. Evolução da anatomia radicado milho ‘saracura’ em ciclos de seleção sucessivos. Pesquisa Agropecuária Brasileira 431649-1656.

RÊGO, M. C. F; ILKIU-BORGES, F; FILIPPI, M. C. C. de; GONÇALVES, L. A; SILVA, G. B. da. Morphoanatomical and biochemical changes in the roots of rice plants induced by plant growth-promoting microorganisms. *Journal of Botany*, vol. 2014, 25 nov, 2014. DOI<https://doi.org/10.1155/2014/818797>. Acessado em: 03/09/2023.

SALAS-MARINA, M. A; SILVA-FLORES, M. A; URESTI-RIVERA, E. E.; CASTRO-LONGORIA, E; HERREIRA-ESTRELLA, A; CASAS-FLORES, S. Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic

disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, p. 15-26, 2011

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P.K.T, ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; ARAUJO FILHO, J. C. de; OLIVEIRA, J. B. de; CUNHA, T. J. F. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. **Embrapa Solos**, 2018.

SASAN, R. K; BIDOCHKA, M. J. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. **American Journal of Botany**, v. 99, p. 101-107, 2012. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100136>. Epub 2011 Dec 14.

SEGATTO, F. B; BISOGNIN, D. A; BENEDETTI, M; COSTA, L. C; RAMPELOTTO, M V; NICOLOSO, F. T. Técnica para o estudo da epiderme foliar da Batata. Revista Ciência Rural. Santa Maria, v.34, n.5, p 1597-1601, outubro, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 5^a ed. Porto Alegre: Artmed. 918p. 2013. TYŚKIEWICZ, R; NOWAK, A; OZIMEK, E; JAROSZUK-ŚCISEŁ, J. *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 1-28, 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>.

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE **World Agricultural Production, January, 2024.** Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>. Acesso em: 17 Fev. 2024.

ZIN, N. A.; BADALUDDIN, N. A. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, v. 65, n. 2, p. 168-178, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003>